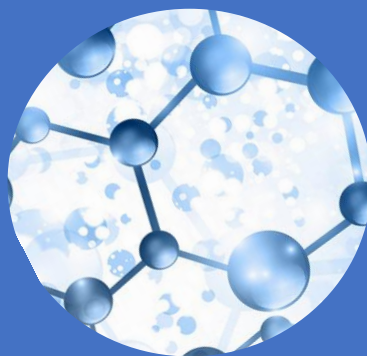


**TOSHKENT KIMYO - TEXNOLOGIYA INSTITUTI
HUZURIDAGI PEDAGOG KADRLARNI QAYTA
TAYYORLASH VA MALAKASINI OSHIRISH
TARMOQ MARKAZI**



**BIOTEXNOLOGIYA
yoʻnalishi**



**«BIOTEXNOLOGIYANING DOLZARB MUAMMOLARI VA
ZAMONAVIY YUTUQLARI»
moduli boʻyicha**

OʻQUV - USLUBIY MAJMUA

Toshkent 2026

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

**OLIY TA’LIM TIZIMI KADRLARINI QAYTA TAYYORLASH VA
MALAKASINI OSHIRISH INSTITUTI**

**TOSHKENT KIMYO-TEXNOLOGIYA INSTITUTI HUZURIDAGI
PEDAGOG KADRLARNI QAYTA TAYYORLASH MALAKASINI
OSHIRISH TARMOQ MARKAZI**

BIOTEXNOLOGIYA
yo‘nalishi

**“Biotexnologiyaning dolzarb muammolari va zamonaviy yutuqlari”
moduli bo‘yicha**

O‘QUV-USLUBIY MAJMUA

TOSHKENT - 2026

Mazkur o‘quv-uslubiy majmua Oliy ta’lim, fan va innovatsiyalar vazirligining 2024-yil 27-dekabrda 485-sonli buyrug‘i bilan tasdiqlangan oliy ta’lim muassasalari pedagog kadrlarini qayta tayyorlash va malaka oshirish yo‘nalishlari o‘quv reja va dasturlariga muvofiq ishlab chiqilgan.

- Tuzuvchi:** **S.Ravshanov** - Toshkent kimyo-texnologiya institutining «Biotexnologiya» kafedrasida dotsenti, texnika fanlari doktori;
O.T. Azizov - Toshkent kimyo-texnologiya instituti “Go‘sh-tsut va konserva mahsulotlari texnologiyasi” kafedrasida k.f.n., dotsenti.
- Taqrizchi:** **A.Normatov** – Toshkent kimyo-texnologiya instituti “Biotexnologiya” kafedra mudiri, t.f.n, dotsent.
- Xorijiy taqrizchi:** **Octavio Alberto Calvo Golmez**-Toshkent kimyo-texnologiya instituti “Oziq-ovqat texnologiyasi” kafedrasida professori, Meksika milliy politexnika instituti tadqiqotlar va ilg‘or fanlar markazi professori.

O‘quv dasturi Toshkent kimyo-texnologiya instituti Uslubiy kengashining qarori bilan tasdiqqa tavsiya qilingan (2025-yil “28” noyabrda 2-sonli bayonnoma).

MUNDARIJA

I.ISHCHI DASTUR.....	5
II.MODULNI O‘QITISHDA FOYDALANILADIGAN INTERFAOLTA‘LIM METODLARI.....	12
III. NAZARIY MATERIALLAR.....	16
IV. AMALIY MASHG‘ULOT MATERIALLARI.....	100
V. KEYSLAR BANKI.....	117
VI. MUSTAQIL TA‘LIM MAVZULARI.....	132
VII. BITIRUV MALAKAVIY ISH MAVZULARI.....	134
VIII. GLOSSARIY.....	135
IX. ADABIYOTLAR RO‘YXATI.....	155

I. ISHCHI DASTUR

KIRISH

Ushbu dastur O'zbekiston Respublikasining 2020-yil 23-sentabrda tasdiqlangan "Ta'lim to'g'risida" Qonuni, O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2015-yil 12-iyundagi "Oliy ta'lim muassasalarining rahbar va pedagog kadrlarini qayta tayyorlash va malakasini oshirish tizimini yanada takomillashtirish to'g'risida" PF-4732-son, 2019-yil 27-avgustdagi "Oliy ta'lim muassasalari rahbar va pedagog kadrlarining uzluksiz malakasini oshirish tizimini joriy etish to'g'risida" PF-5789-son, 2019-yil 8-oktabrdagi "O'zbekiston Respublikasi oliy ta'lim tizimini 2030 yilgacha rivojlantirish konsepsiyasini tasdiqlash to'g'risida" PF-5847-son, 2020 yil 29 oktabrdagi "Ilm-fanni 2030 yilgacha rivojlantirish konsepsiyasini tasdiqlash to'g'risida" PF-6097-son, 2022-yil 28-yanvardagi "2022-2026 yillarga mo'ljallangan Yangi O'zbekistonning taraqqiyot strategiyasi to'g'risida" PF-60-son, 2023-yil 25-yanvardagi "Respublika ijro etuvchi hokimiyat organlari faoliyatini samarali yo'lga qo'yishga doir birinchi navbatdagi tashkiliy chora-tadbirlar to'g'risida" PF-14-son, O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2023-yil 11-sentabrdagi "O'zbekiston — 2030" strategiyasi to'g'risida" PF-158-son Farmonlari, shuningdek, O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2024 yil 21 iyundagi "Aholi va davlat xizmatchilarining korrupsiyaga qarshi kurashish sohasidagi bilimlarini uzluksiz oshirish tizimini joriy qilish chora-tadbirlari to'g'risida" PQ-228-son, O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2021 yil 17 fevraldagi "Sun'iy intellekt texnologiyalarini jadal joriy etish uchun shart-sharoitlar yaratish chora-tadbirlari to'g'risida" PQ-4996-son qarorlari va O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining "Oliy ta'lim muassasalari rahbar va pedagog kadrlarining malakasini oshirish tizimini yanada takomillashtirish bo'yicha qo'shimcha chora-tadbirlar to'g'risida" 2019-yil 23-sentabrdagi 797-son hamda O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining "Oliy ta'lim tashkilotlari rahbar va pedagog kadrlarini qayta tayyorlash va malakasini oshirish tizimini samarali tashkil qilish chora-tadbirlari to'g'risida" 2024-yil 11-iyuldagi 415-son Qarorlarida belgilangan ustuvor vazifalar mazmunidan kelib chiqqan holda tuzilgan bo'lib, u oliy ta'lim muassasalari pedagog kadrlarining kasb mahorati hamda innovatsion kompetentligini rivojlantirish, sohaga oid ilg'or xorijiy tajribalar, yangi bilim va malakalarni o'zlashtirish, shuningdek amaliyotga joriy etish ko'nikmalarini takomillashtirishni maqsad qiladi.

Hozirgi kunda biotexnologiya bo'yidagi eng muhim yutuqlari sifatida gen muhandisligi, muqobil ekobiotexnologiya yutuqlari, bundan tashqari bir vaqtning o'zida birikmalarni aniqlash, identifikatsiya, miqdoriy baholash va moddalarni toza holda ajratib olish bilan bir qatorda sorbat va sorbentlarning fizik-kimyoviy

xossalarini ifodalovchi bir qancha ma'lumotlarni olish imkoniyatini, qayd etish mumkin. O'rganilayotgan birikmalarni chuqur o'rganishda va kimyoviy tuzilishi haqida tasavurga ega bo'lishda bugungi kunda amaliyotda keng miqyosda ishlatiladigan fizikaviy usullarning nazariy asoslari va ishlatish imkoniyatlarini e'tiborga olib quyidagi turkumlarga bo'lish mumkin: optik spektroskopiya, radiospektroskopiya, difraksiyalı usullar va ionizatsiya usullardir.

“Biotexnologiyaning dolzarb muammolari va zamonaviy yutuqlari” modulining vazifalari:

“Biotexnologiyaning dolzarb muammolari va zamonaviy yutuqlari” modulining maqsadi: Gen muhandisligi va nanobiotexnologiyaning zamonaviy biotexnologik usullari, Plazmid DNKsini ajratish va tozalash uslublari, biotexnologik yondoshishlar asosida olinadigan iste'mol mahsulotlar va biologik faol birikmalarni ishlab chiqarish jarayonlari va xom ashyolari xaqida talabalarga aniq bilim berish, hamda biotexnologik yondoshishlar asosida iste'mol mahsulotlar olishni zamonaviy fizik-kimyoviy tahlil qilish usullari, konstruksiyalari, priborlarni ishlash prinsiplari hamda ishlab chiqarishni tashkil etish bo'yicha umumiy jarayonlar jihozlari bo'yicha yo'nalish profiliga mos malakani oshirishdan iborat.

Xromofor guruhi tutgan organik moddalarning ultrabinafsha spektrlari, anorganik moddalar va kompleks birikmalarning elektron spektrlari, yadro magnit rezonans spektroskopiya va uning parametrlari, elektron-paramagnit rezonans spektroskopiya, mass - spektroskopiya, biopolimerlarni fizikaviy tadqiq qilish usullarini amaliy foydalanish mumkinligini asoslab berishdan iborat.

Modul bo'yicha tinglovchilarning bilimi, ko'nikma va malakalariga qo'yiladigan talablar

tinglovchi:

- asimmetrik multipleks polimeraza zanjirli reaksiya
- genetik modifikatsiyalangan manbalarni (GMM) biologik mikrochipdan foydalangan holda identifikatsiyalashni aniqlash;
- tabiiy birikmalarni biotexnologik ob'ektlar tarkibidan ajratish va tozalash;
- xromofor guruhi tutgan organik moddalarning ultrabinafsha spektrlari;
- anorganik moddalar va kompleks birikmalarning elektron spektrlari;
- yadro magnit rezonans spektroskopiya va uning parametrlari;
- mass - spektroskopiya, biopolimerlarni fizikaviy tadqiq qilish usullarini *bilishi* kerak.

tinglovchi:

- PZR usulda dori vositalari va ozuqa qo'shimchalarni GMM ga tekshirish;
- tabiiy birikmalarni biotexnologik ob'ektlar tarkibidan ajratish va tozalash;
- xromofor guruhi tutgan organik moddalarning ultrabinafsha spektrlari;

- anorganik moddalar va kompleks birikmalarning elektron spektrlari;
- yadro magnit rezonans spektroskopiyasi va uning parametrlari;
- mass - spektroskopiyasi, biopolimerlarni fizikaviy tadqiq qilish
- ishlab chiqarishdagi ikkilamchi maxsulotlar asosida iqtisodiyotning turli tarmoqlari uchun zarur mahsulotlarni ishlab chiqarish *ko'nikmalariga* ega bo'lishi lozim.

tinglovchi:

- biologik mikrochiplar va ulardan foydalanish usullari
- atom-absorbsion spektrometriya
- tabiiy birikmalarni ajratish va tozalash;
- tabiiy birikmalarni tozalash;
- moddalarning ultrabinafsha spektrlari haqida *malakalariga* ega bo'lishi zarur.

tinglovchi:

- biologik mikrochiplar va ulardan foydalanish usullari;
- dori vositalari va oziq-ovqat maxsulotlarini taxlil qilishda spektrofotometriyadan foydalanish;
- PZR usul orqali maxsulotlarni identifikatsiyalash;
- biopolimerlarni fizikaviy tadqiq qilishdan istiqbolli foydalanish
- qoldiq maxsulotlar asosida mahsulotlarni ishlab chiqarishni tashkillashtirishning innovatsion texnologiyalari haqida *kompetensiyalariga* ega bo'lishi lozim.

Modulning o'quv rejadagi boshqa modullar bilan bog'liqligi va uzviyligi

“Biotexnologiyaning dolzarb muammolari va zamonaviy yutuqlari” moduli qayta tayyorlash va malaka oshirish yo'nalishini “Biotexnologiya” mutaxassisligi bo'yicha kiritilgan “Gen muhandisligi va nanobiotexnologiya”, “Zamonoviy fizik-kimyoviy tahlil usullari” va “Muqobil ekobiotexnologiyalar” fani bilan uzluksiz bog'liq bo'lib, ushbu fanlarni o'zlashtirishda nazariy asos bo'lib xizmat qiladi.

“Biotexnologiyaning dolzarb muammolari va zamonaviy yutuqlari” modulini to'liq o'zlashtirishda va amaliy vazifalarni bajarishda “Ta'limda multimedia tizimlari va masofaviy o'qitish metodlari”, “Elektron pedagogika asoslari va pedagogning shaxsiy, kasbiy axborot maydonini loyihalash” fanlari yordam beradi.

Modulning oliy ta'limdagi o'rni

“Biotexnologiyaning dolzarb muammolari va zamonaviy yutuqlari” moduli qayta tayyorlash va malaka oshirish yo'nalishini “Biotexnologiya” mutaxassisligi bo'yicha maxsus fanlardan dars beruvchi professor o'qituvchilar uchun muhim o'rinni egallaydi. Ushbu fan Oliy ta'lim muassasalarida pedagoglar tomonidan o'quv-ilmii ishlarini olib borish uchun asosiy nazariy va amaliy bilimlarni beradi.

Modul bo'yicha soatlar taqsimoti:

№	Modul mavzulari	Tinglovchining o‘quv yuklamasi, soat				
		Hammasi	Auditoriya o‘quv yuklamasi			Mustaqil ta’lim
			nazariy	jumladan		
				Amaliy mashg‘ulot	Ko‘chma mashg‘ulot	
1	Biotexnologiyada asimmetrik multipleks polimeraza zanjirli reaksiyasiga (PZR) usul orqali genetik modifikatsiyalangan manbalarni (GMM) biologik mikrochipdan foydalangan holda identifikatsiyalashni aniqlash. PZR usulda dori vositalari va ozuqa qo‘shimchalarni GMM ga tekshirish. Veterinaria dori vositalari, o‘zuqabop qo‘shimchalar sifat va muomalasi nazorati bo'yicha davlat ilmiy markazi.	14	4	4	6	
2	Biotexnologiyada spektrofotometriyani ahamiyati	2	2			
3	Biotexnologiyada atom-absorbsion spektrometriyani o‘rni	2	2			
4	Biotexnologik ob’ektlardan ajratib olingan birikmalarni zamonoviy fizik-kimyoviy tahlil qilishda xromotografiyaning o‘rni. Refraktometr yordamida yog‘larni to‘yinmaganlik darajasini aniqlash. Biotexnologik ob’ektlardan fermentlarni ajratish.	12	2	4	6	
5	Biologik faol birikmalarni tahlil qilishda gaz xromatografiyasining umumiy xususiyatlari. Fotokolorimetr yordamida suyuqlikning yorug‘likni yutilishi ko‘rsatkichini aniqlash.	6	2	4		
6	Biotexnologik ob’ektlarni tahlil qilishda qo‘llaniladigan suyuq kolonkali xromatografiyaning umumiy xususiyatlar. Biologik faol kislotalarni faollik darajasini aniqlash.	4	2	2		
7	Biotexnologik ob’ektlarni tahlil qilishda qo‘llaniladigan planar xromatografiyaning umumiy xususiyatlari. Biologik faol birikmalarning xromofor guruxi ultrabinafsha va infraqizil spektorida aniqlash.	6	2	4		
	Jami	46	16	18	12	

NAZARIY MASHG'ULOTLAR MAZMUNI

1- mavzu: Biotexnologiyada asimmetrik multipleks polimeraza zanjirli reaksiyasiga (PZR) usul orqali genetik modifikatsiyalangan manbalarni (GMM) biologik mikrochipdan foydalangan holda identifikatsiyalashni aniqlash.

1. Asimmetrik multipleks polimeraza zanjirli reaksiyasi tushunchasi;
2. Genetik modifikatsiyalangan manbalar turlari;
3. Biologik mikrochiplar va ulardan foydalanish usullari

2-mavzu: Biotexnologiyada spektrofotometriyani ahamiyati.

1. Bugert-Lamber-Berg qonuni;
2. Spektrometrik to'liq uzunliklari va farqlari;
3. Dori vositalari va oziq-ovqat maxsulotlarini tahlil qilishda spektrofotometriyani o'rni.

3-mavzu: Biotexnologiyada atom-absorbsion spektrometriyani o'rni.

1. Atom-absorbsion spektrometriyani nazariyasi;
2. Biotexnologida AAS ahamiyati.

4-mavzu: Biotexnologik ob'ektlardan ajratib olingan birikmalarni zamonoviy fizik-kimyoviy tahlil qilishda xromatografiyaning o'rni.

1. Xromatografiya va xromatografik parametrlardagi asosiy tushunchalar.
2. Xromatografiyadagi asosiy tushunchalar.
3. Xromatografik parametrlar.
4. Xromatografik ajratish nazariyalari.

5-mavzu: Biologik faol birikmalarni tahlil qilishda Gaz xromatografiyasining umumiy xususiyatlari.

1. Gaz xromatografiyaning umumiy xususiyatlari.
2. Namuna quyish tizimlari.
3. Xromatografik kolonkalar.
4. Adsorbentlar.
5. Gaz-suyuqlik xromatografiyasida qattiq tashuvchilar.
6. Statsionar suyuqlik fazalari.
7. Harakatlanadigan fazalar.
8. Detektor tizimlari.
9. Sifatli va miqdoriy tahlil.
10. Muvozanatning bug'-gaz fazasini tahlil qilish.

6-mavzu: Biotexnologik ob'ektlarni tahlil qilishda qo'llaniladigan suyuq kolonkali xromatografiyaning umumiy xususiyatlar.

1. Suyuq adsorbsion xromatografiya.
2. Suyuq xromatografiya, kolonkalar, adsorbentlar, harakatlanadigan fazalar,

detektorlar.

3. Suyuqlikni taqsimlash xromatografiyasi.
4. Ion almashinish va ion juftlik xromatografiyasi.
5. Ligand almashinuvi xromatografiyasi.
6. Eksklyuzion xromatografiya.
7. Affin xromatografiya.

7-mavzu: Biotexnologik ob'ektlarni tahlil qilishda qo'llaniladigan planar xromatografiyaning umumiy xususiyatlari.

1. Yupqa qatlamli xromatografiya.
2. YuQXda ajratish mexanizmlari va elyuentni tanlash.
3. Sorbentlar.
4. YuQX texnikasi.
5. Xromatografik xarakteristikalar.
6. Elutsiya turlari.
7. Miqdoriy aniqlash usullari.
8. Qog'ozda xromatografiya.

AMALIY MASHG'ULOTLAR MAZMUNI

1-mavzu: PZR usulda dori vositalari va ozuqa qo'shimchalarni GMM ga tekshirish.

1. PZR usul GOST va meyoriy xujjatlar asosida izoxlash;
2. Biotexnologiyada PZR usul orqali maxsulotlarni identifikasiyalash.

2-mavzu: Refraktometr yordamida yog'larni to'yinmaganlik darajasini aniqlash.

1. Yog' kislotalar tarkibini aniqlash.
2. Quruq moddalar miqdorini refraktometrda aniqlash.
3. Refraktometr yordamida suyuqlikning sindirish ko'rsatkichini aniqlash.

3-mavzu: Fotokolorimetr yordamida suyuqlikning yorug'likni yutilishi ko'rsatkichini aniqlash.

1. Fotometrik o'lchash texnikasi va asboblari.
2. KFK-2M asbobida ishlash tartibi.
3. Yorug'lik filtrini tanlash.
4. Darajalangan grafik metodi.
5. Fotokolorimetrik usul bilan eritmadagi temir ionlari miqdorini aniqlash

4-mavzu: Biologir faol kislotalarni faollik darajasini aniqlash.

1. Faol kislotalilikni aniqlash texnikasi.
2. Kraxma miqdorini aniqlash.

3. Pektinlarni aniqlash

5-mavzu: Vitaminlarni aniqlash usullari.

1. C vitaminini aniqlash.

2. B₁ vitaminini aniqlash.

3. B₆ vitaminini aniqlash

Ko'chma mashg'ulot mavzusi

1. Veterinariya dori vositalari, o'zuqabop qo'shimchalar sifat va muomalasi nazorati bo'yicha davlat ilmiy markazi korxonasida dori vositalari va ozuqa qo'shimchalarni tahlil qilish jarayonlari tanishtiriladi.

2. Biotexnologik ob'ektlardan fermentlarni ajratish.

O'zR FA Ilmiy tadqiqot institutlari va Ilg'or texnologiyalar markazida olib boriladi

MUSTAQIL TA'LIM MAZMUNI

Modul bo'yicha mustaqil ishlar "Boshqaruvda axborot-kommunikatsiya texnologiyalari" sohasi bo'yicha qisqa nazariy ma'lumotlar hamda ta'lim muassasasida hozirgi vaqtda bu sohada amalga oshirilayotgan ishlar haqida ma'lumot keltirilishi zarur. Modul doirasidagi mustaqil ta'lim mavzulari portfolio topshiriqlari ko'rinishida tinglovchilarga taqdim etiladi va bajariladi.

II. MODULNI O‘QITISHDA FOYDALANILADIGAN INTERFAOL TA'LIM METODLARI

“Keys-stadi” metodi

«**Keys-stadi**» - inglizcha so‘z bo‘lib, («case» – aniq vaziyat, hodisa, «stadi» o‘rganmoq, tahlil qilmoq) aniq vaziyatlarni o‘rganish, tahlil qilish asosida o‘qitishni amalga oshirishga qaratilgan metod hisoblanadi. Mazkur metod dastlab 1921 yil Garvard universitetida amaliy vaziyatlardan iqtisodiy boshqaruv fanlarini o‘rganishda foydalanish tartibida qo‘llanilgan. Keysda ochiq axborotlardan yoki aniq voqea-hodisadan vaziyat sifatida tahlil uchun foydalanish mumkin. Keys harakatlari o‘z ichiga quyidagilarni qamrab oladi: Kim (Who), Qachon (When), Qaerda (Where), Nima uchun (Why), Qanday/ Qanaqa (How), Nima-natija (What).

“Keys metodi” ni amalga oshirish bosqichlari

Ish bosqichlari	Faoliyat shakli va mazmuni
1-bosqich: Keys va uning axborot ta’minoti bilan tanishtirish	✓ yakka tartibdagi audio-vizual ish; ✓ keys bilan tanishish (matnli, audio yoki media shaklda); ✓ axborotni umumlashtirish; ✓ axborot tahlili; ✓ muammolarni aniqlash
2-bosqich: Keysni aniq- lashtirish va o‘quv topshirig‘ni belgilash	✓ individual va guruhda ishlash; ✓ muammolarni dolzarblik ierarxiyasini aniqlash; ✓ asosiy muammoli vaziyatni belgilash
3-bosqich: Keysdagi asosiy muammoni tahlil etish orqali o‘quv topshirig‘ining yechimi ni izlash, hal etish yo‘llarini ishlab chiqish	✓ individual va guruhda ishlash; ✓ muqobil yechim yo‘llarini ishlab chiqish; ✓ har bir echimning imkoniyatlari va to‘siqlarni tahlil qilish; ✓ muqobil yechimlarni tanlash
4-bosqich: Keys yechimi ni shakllantirish va asoslash, taqdimot.	✓ yakka va guruhda ishlash; ✓ muqobil variantlarni amalda qo‘llash imkoniyatlarini asoslash; ✓ ijodiy-loyiha taqdimotini tayyorlash; ✓ yakuniy xulosa va vaziyat yechimi ning amaliy aspektlarini yoritish

Keys. DNK ni restriksion endonukleazalar bilan kesish usuli ishlab chiqildi. O‘simlikdan DNK ajratib olindi va restriktazalar bilan ishlov berildi. Lekin elektroforezda tekshirilganda DNK umuman yo‘q bo‘lib ketganligi aniqlandi ya’ni

xatolik kelib chiqdi. Ishlab chiqilgan usul ishlamadi.

Keysni bajarish bosqichlari va topshiriqlar:

- Keysdagi muammoni keltirib chiqargan asosiy sabablarni belgilang (individual va kichik guruhda).
- DNK ni restriksiya qilish uchun bajariladigan ishlar ketma-ketligini belgilang (juftliklardagi ish).

«FSMU» metodi

Texnologiyaning maqsadi: Mazkur texnologiya ishtirokchilardagi umumiy fikrlardan xususiy xulosalar chiqarish, taqqoslash, qiyoslash orqali axborotni o'zlashtirish, xulosalash, shuningdek, mustaqil ijodiy fikrlash ko'nikmalarini shakllantirishga xizmat qiladi. Mazkur texnologiyadan ma'ruza mashg'ulotlarida, mustahkamlashda, o'tilgan mavzuni so'rashda, uyga vazifa berishda hamda amaliy mashg'ulot natijalarini tahlil etishda foydalanish tavsiya etiladi.

Texnologiyani amalga oshirish tartibi:

- qatnashchilarga mavzuga oid bo'lgan yakuniy xulosa yoki g'oya taklif etiladi;
- har bir ishtirokchiga FSMU texnologiyasining bosqichlari yozilgan qog'ozlarni tarqatiladi:

F	• fikringizni bayon eting
S	• fikringizni bayoniga sabab ko'rsating
M	• ko'rsatgan sababingizni isbotlab misol keltiring
U	• fikringizni umumlashtiring

- ishtirokchilarning munosabatlari individual yoki guruhiiy tartibda taqdimot qilinadi.

FSMU tahlili qatnashchilarda kasbiy-nazariy bilimlarni amaliy mashqlar va

mavjud tajribalar asosida tezroq va muvaffaqiyatli o'zlashtirilishiga asos bo'ladi.

Test DNK-polimeraza qanday funksiyani bajaradi?

- A). DNKni gidrolizlovchi ferment.
- B). Polinukleotidlarni gidrolizlovchi ferment.
- V). Turli hil DNKni sintezlovchi ferment.
- G). Matrisa asosida alohida nukleotidlardan polinukleo-

Qiyosiy tahlil

- DNK va RNKning farqini taxlil qiling ?

Tushuncha tahlili

- DNK qisqarmasini izohlang...

Amaliy ko'nikma

- O'simlik hujayralariga genlarni kiritishga misol keltiring

Namuna. Har bir katakdagi to'g'ri javob 5 ball yoki 1-5 balgacha baholanishi mumkin.

“Insert” metodi

Metodning maqsadi: Mazkur metod o'quvchilarda yangi axborotlar tizimini qabul qilish va bilimlarni o'zlashtirilishini yengillashtirish maqsadida qo'llaniladi, shuningdek, bu metod o'quvchilar uchun xotira mashqi vazifasini ham o'taydi.

Metodni amalga oshirish tartibi:

- o'qituvchi mashg'ulotga qadar mavzuning asosiy tushunchalari mazmuni yoritilgan input-matnni tarqatma yoki taqdimot ko'rinishida tayyorlaydi;
- yangi mavzu mohiyatini yorituvchi matn ta'lim oluvchilarga tarqatiladi yoki taqdimot ko'rinishida namoyish etiladi;
- ta'lim oluvchilar individual tarzda matn bilan tanishib chiqib, o'z shaxsiy qarashlarini maxsus belgilar orqali ifodalaydilar. Matn bilan ishlashda talabalar yoki qatnashchilarga quyidagi maxsus belgilardan foydalanish

tavsiya etiladi:

Belgilar	1-matn	2-matn	3-matn
“V” – tanish ma’lumot.			
“?” – mazkur ma’lumotni tushunmadim, izoh kerak.			
“+” bu ma’lumot men uchun yangilik.			
“– ” bu fikr yoki mazkur ma’lumotga qarshiman?			

Belgilangan vaqt yakunlangach, ta’lim oluvchilar uchun notanish va tushunarsiz bo‘lgan ma’lumotlar o‘qituvchi tomonidan tahlil qilinib, izohlanadi, ularning mohiyati to‘liq yoritiladi. Savollarga javob beriladi va mashg‘ulot yakunlanadi.

III. NAZARIY MATERIALLAR

1-mavzu: Biotexnologiyada asimmetrik multipleks polimeraza zanjirli reaksiyasiga (PZR) usul orqali genetik modifikatsiyalangan manbalarni (GMM) biologik mikrochipdan foydalangan holda identifikatsiyalashni aniqlash.

Reja:

1. Asimmetrik multipleks polimeraza zanjirli reaksiyasi tushunchasi
2. Genetik modifikatsiyalangan manbalar turlari
3. Biologik mikrochiplar va ulardan foydalanish usullari

Asosiy tushunchalar:

- **Polimeraza zanjir reaksiyasi** yoki **PZR** bu ma'lum DNK bo'lagini *in vitro* (odam organizmida emas, tajriba probirkasida) ko'p marta nusxalash usuli hisoblanadi.
- PZR termostabil DNK polimerazaga, **Taq polimerazaga**, bog'liq va DNKning shu qismi uchun maxsus DNK **praymerlari** bo'lishini talab qiladi.
- PZRda harorat o'zgarishi bilan reaksiya bir necha marta takrorlanadi, shu orqali DNK nishon qismining ko'plab nusxalarini olish mumkin.
- PZR ustida ko'plab tajribalar va amaliy dasturlar olib borilgan. Bundan asosan DNKni klonlash, tibbiy diagnostika va sud-tibbiy ekspertizasida foydalaniladi.

PZR nima?

Polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) bu DNK ma'lum qismining ko'plab marotaba (million yoki milliard) nusxasini olish uchun qo'llanadigan, keng tarqalgan laborator usul hisoblanadi. Bu DNK qismi tajriba o'tkazuvchini qiziqtirgan har qanday soha bo'lishi mumkin. Misol uchun, bu tadqiqotchi funksiyasini aniqlashni maqsad qilgan gen yoki sud-tibbiy ekspertizasida jinoyatni ochish uchun qo'llanadigan genetik ashyoviy dalil bo'lishi ham mumkin.

Odatda PZRning maqsadi DNKning kerakli qismini tahlil qilish yoki boshqa maqsadlar uchun yetarli darajada hosil qilishdir. Misol uchun, PZR orqali ko'paytirilgan DNK keyingi tajribalar, masalan, [ketma-ketlikni aniqlash](#), [gel elektroforez](#) yoki [klonlash](#) uchun yuborilishi mumkin.

PZR biologiya va tibbiyotning ko'plab sohalarida, xususan, molekulyar biologiya, tibbiy tashxislash va hatto ekologiya uchun ayrim sohalarida ham qo'llanadi.

Taq polimeraza

Organizm hujayrasidagi [DNK replikatsiyasi](#) kabi, PZR jarayonida ham yangi DNK zanjirlarini hosil qilish uchun andoza DNK va DNK polimerazalarning

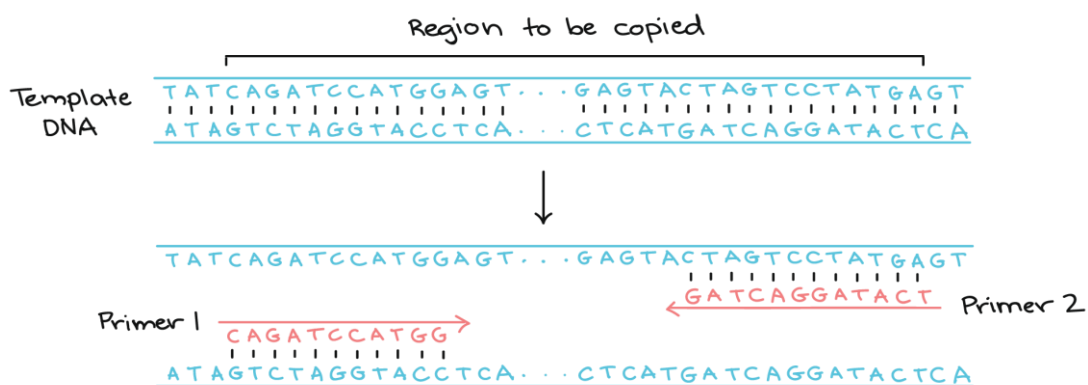
bo'lishi talab etiladi. PZRda odatda **Taq polimeraza** deb nomlangan DNK polimerazasi qo'llanadi, bu issiqlikka chidamli bakteriyalardan (*Thermus aquaticus*) ajratib olinadi.

T. aquaticus issiq buloqlar va gidrotermal tuynuklarda yashaydi. Uning DNK polimerazasi issiqlikka juda chidamli va 70°C70°C70, °, start text, C, end text (bu haroratda odam yoki *E. coli* DNK polimerazasi nofunktsional holatda bo'ladi) atrofida eng faol holatda bo'ladi. Bu haroratga chidamli Taq polimeraza PZR uchun juda mos keladi. Ko'rib turganimizdek, PZRda yuqori harorat andoza DNKn **denaturatsiyalash** yoki uning zanjirlarini ajratish uchun takroriy ravishda qo'llanadi.

PZR praymerlar

Boshqa DNK polimerazalar singari *Taq* polimeraza ham faqatgina qisqa nukleotidlar ketma-ketligi, ya'ni **praymerlar** mavjud bo'lgandagina DNK sintezini boshlashi mumkin. PZR reaksiyalarida tajriba o'tkazuvchi praymer yordamida nusxasi olinishi yoki ko'paytirilishi kerak bo'lgan DNK qismini belgilaydi.

PZR praymerlari qisqa bir zanjirli DNK bo'laklari bo'lib, odatda 202020 ta nukleotiddan iborat. Har bir PZR reaksiyasida ikkita praymer ishlatiladi va ular nishon (nusxalanishi kerak bo'lgan) qismga yon tomonlaridan birikishga moslashtirilgan. Bunda praymerlar ketma-ketligi andoza DNKning qarama-qarshi zanjiriga, ya'ni nusxasi yaratilishi kerak bo'lgan qismning chetki uchi (qirrasi)ga bog'lanadi. Praymerlar andozaga komplementar asos juftlashuvi orqali bog'lanadi.

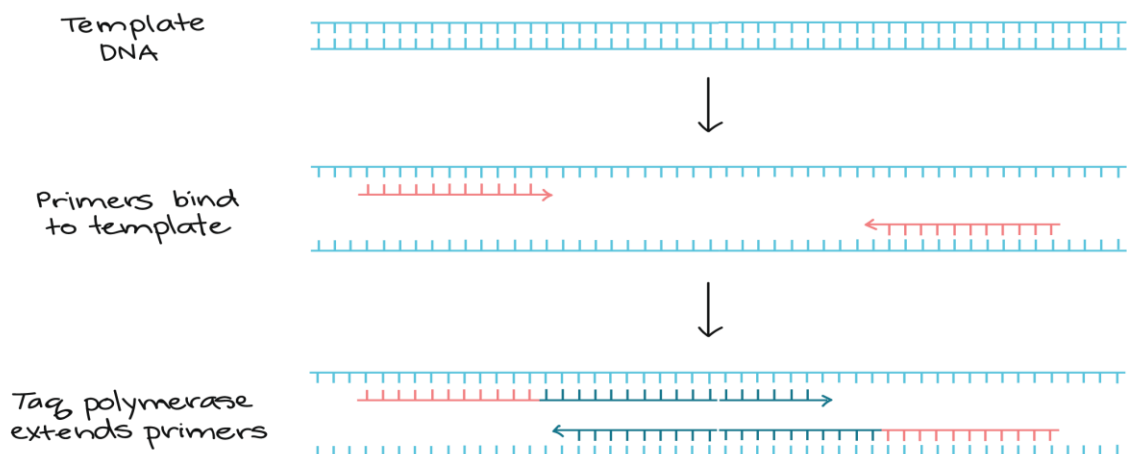


Andoza DNK:

5'TATSAGATSSATGGAGT...GAGTASTAGTSSTATGAGT 5' 3'
 ATAGTSTAGGTASSTSA...STSATGATSAGGATASTSA 5'

Praymer 1: 5'SAGATSSATGG 5' Praymer 2:

Praymerlar andozaga bog'langach, ular polimerazalar tomonidan uzaytiriladi va ularning o'rtasida joylashgan qismning nusxasi yaratiladi.



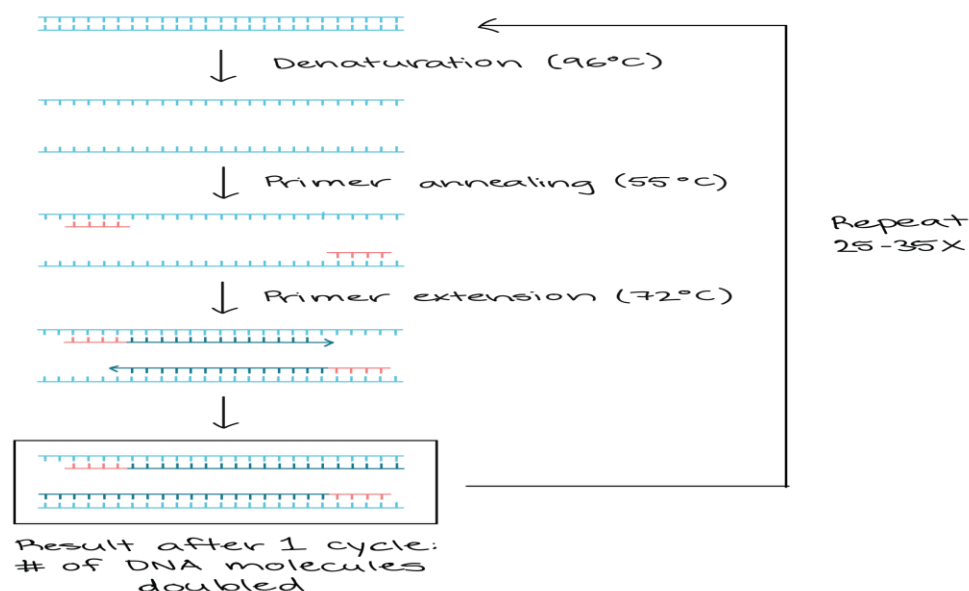
[DNK va praymer yoʻnalganligi toʻliqroq yoritilgan rasm]

PZR bosqichlari

PZR reaksiyasining asosiy tarkibiy qismlari *Taq* polimeraza, praymerlar, andoza DNK va nukleotidlar (DNK qurilish birliklari)dir. Ferment uchun zarur boʻlgan kofaktorlar bilan birga yuqoridagilar bitta probirkaga yigʻiladi, keyin yuqori va past harorat almashinib turuvchi takroriy siklga qoʻyiladi, natijada DNK sintezlanadi.

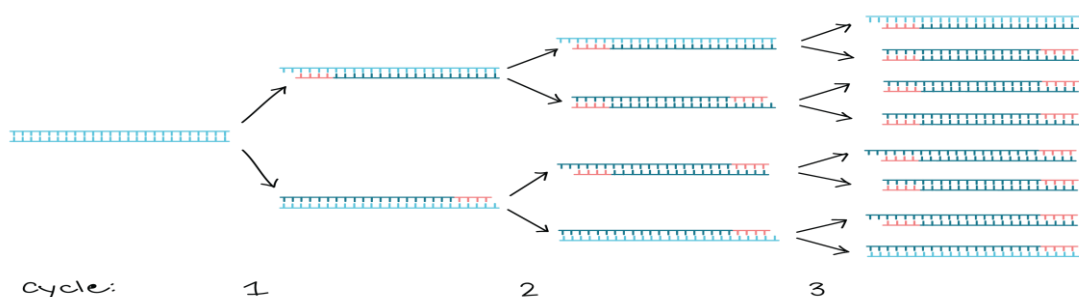
Asosiy bosqichlar:

1. **Denaturatsiya** (96°C 96°C 96, °, start text, C, end text): DNK zanjirlarini denaturatsiya qilish yoki ajratish uchun reaksiyaga yuqori harorat beriladi. Natijada keyingi bosqich uchun kerakli bir zanjirli andoza hosil boʻladi.
2. **Yumshatish** (55°C 65°C 65°C, °, start text, C, end text): praymerlar andoza DNKdagi komplimentar qismlariga bogʻlanishi uchun reaksiyada harorat pasaytiriladi.
3. **Uzaytirish** (72°C 72°C 72, °, start text, C, end text): *Taq* polimeraza praymerlarni uzaytirib, yangi DNK zanjirlarini sintezlashi uchun reaksiyada harorat koʻtariladi.



Bu sikl oddiy PZR reaksiyasida 252525 \[\mbox{-}\] 353535 marta takrorlanadi, umumiy hisobda DNKning ko‘paytiriladigan qismiga bog‘liq ravishda 222 \[\mbox{-}\] 444 soat vaqt sarflanadi. Agar reaksiya samarali (yaxshi natijali) bo‘lsa, nishon qism bir nechtadan milliard marotabagacha ko‘payishi mumkin.

Chunki har reaksiyada faqat boshlang‘ich DNK andoza sifatida xizmat qilmaydi, balki bitta reaksiyada yangi sintezlangan DNK ham keyingi reaksiyada andozaga aylanadi. Reaksiyada praymerlar va *Taq* polimeraza molekulari juda ko‘p miqdorda bo‘ladi, shu tufayli DNK molekulari soni har reaksiya siklida ikki barobarga ortishi mumkin. Bunday eksponensial o‘shish darajasi quyidagi rasmda tasvirlangan.

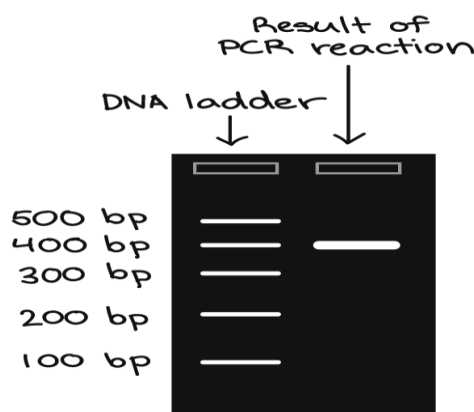


PZR natijalarini vizual tekshirish uchun gel elektroforezdan foydalaniladi

PZR reaksiyasi natijalari odatda [gel elektroforez](#) usuli yordamida vizual (ko‘z bilan ko‘riladigan) tahlil qilinadi. **Gel elektroforez** – bu DNK fragmentlarini elektr toki yordamida gel matritsasi orqali o‘tkazib, ularni hajmiga ko‘ra ajratadigan usul. Odatda PZR namunasidagi bo‘laklarning o‘lchamlarini aniqlash uchun standart yoki DNK chizg‘ichlari kiritiladi.

Bir xil uzunlikka ega bo‘lgan DNK fragmentlari gelda “tasma” hosil qiladi va gel DNK bog‘lovchi bo‘yoq bilan bo‘yalgan bo‘lsa, oddiy ko‘z bilan ko‘rish

mumkin. Misol uchun, 400400400 asos jufti (aj) hosil boʻladigan PZR reaksiyasi gelda quyidagicha koʻrinishda boʻladi:



Chap tomon: 100, 200, 300, 400, 500 aj tasmali DNK chizgʻichi.

Oʻng tomon: PZR reaksiyasi natijasi, 400 aj tasma.

DNK tasmasi DNK nishon qismining bitta yoki bir nechta nusxasini emas, balki juda koʻplab nusxasini oʻz ichiga oladi. DNK mikroskopik oʻlchamda boʻlgani sababli koʻz bilan koʻrish uchun juda koʻp nusxalar bir joyga yigʻilishi kerak. Bu PZR muhimligini koʻrsatuvchi yana bir isbot: DNK ketma-ketligi yetarlicha nusxada ishlab chiqariladi va koʻz bilan koʻrish orqali boshqariladi.

PZR va sud-tibbiy ekspertizasi haqida toʻliqroq

Haqiqiy sud-tibbiy ekspertizalarida hodisa sodir boʻlgan joyda DNK tahlillari mutaxassislar tomonidan yuqoridagi misolda keltirilganga oʻxshash tartibda oʻtkaziladi. Shuningdek, bir qator turli xil markerlar (misoldagi kabi bitta markerda emas) voqea sodir boʻlgan joydan olingan DNK va gumon qilinuvchilarning DNKsi oʻrtasida taqqoslanishi mumkin.

Bundan tashqari, odatiy sud-tibbiy ekspertizasida ishlatiladigan markerlar faqatgina ikki xil koʻrinishda boʻlmaydi. Ular yuqori darajada **polimorf** (*poly* = koʻp, *morph* = shakl) boʻladi. Yaʼni ular kichik qismlari boʻyicha farq qiladigan koʻplab allellar shaklida boʻladi.

Sud-tibbiy ekspertizasida eng koʻp ishlatiladigan markerlar **qisqa toʻplamli takrorlanishlar (QTT)** deb nomlanadi, juda koʻp miqdordagi bir xil nukleotid ketma-ketliklaridan iborat (odatda 222 dan 555 gacha uzunlikda). QTTning bitta alleli 202020 ta takrordan iborat boʻlishi, boshqalari esa 181818 ta va hatto 101010 ta takrordan iborat boʻlishi mumkin

PZR dasturi

PZR orqali DNK ketma-ketligi million yoki milliard marotaba koʻpaytirilishi mumkin, hosil boʻlgan nusxalar boshqa usullar yordamida tekshiriladi. Misol uchun, DNK gel elektroforez usuli yordamida vizual tahlil

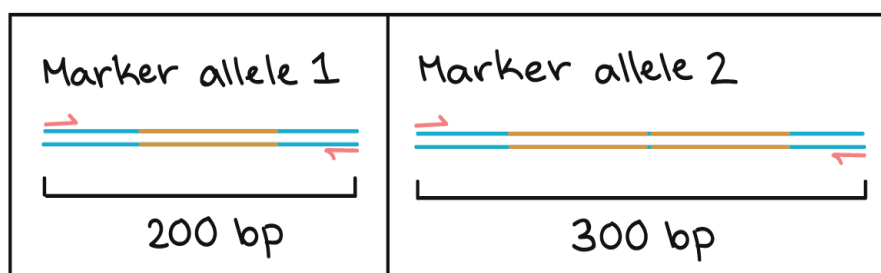
qilinishi, ketma-ketlikni aniqlash uchun yuborilishi yoki restriktaza fermentlari yordamida parchalanishi va plazmidga klonlanishi mumkin.

PZR ko‘plab tadqiqot laboratoriyalari va sud-tibbiy ekspertizasi, genetik tadqiqot va tashxislash kabi amaliy ishlarda qo‘llanadi. Misol uchun, PZR genetik buzilishlar bilan bog‘liq genlarni (yoki prenatal testda homila DNKsini) ko‘paytirish uchun ishlatiladi. PZR tekshiruvidan inson organizmidagi bakteriya yoki virus DNKsini aniqlashda ham foydalaniladi: agar patogen mavjud bo‘lsa, qon yoki to‘qima namunasidan DNK qismlarini ko‘paytirish imkoni mavjud.

Namuna muammosi: sud tibbiyotida PZR

Faraz qiling, siz sud-tibbiy ekspertiza laboratoriyasida ishlaysiz. Qo‘lingizga uchta gumonlanuvchi shaxs DNK namunasi, shu bilan birga, jinoyat joyidan olingan soch DNK namunasi kelib tushdi. Sizning vazifangiz ma‘lum bir genetik markerni tekshirish va uchta gumonlanuvchidan qaysi birining soch DNKsi ushbu markerga mos kelishini aniqlashdan iborat.

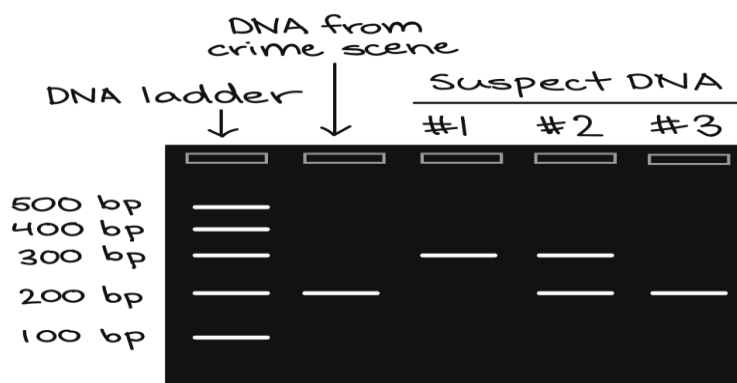
Marker ikkita allel yoki versiya ko‘rinishida bo‘ladi. Bittasi bir marta takrorlangan qism (rasmda jigarrang bilan belgilangan), keyingisi ikki marta takrorlangan qismdan iborat. Praymerlar bilan kechadigan PZR reaksiyasida birinchi allel 200200200 ajastart text, a, j, end text, ikkinchisi esa 300300300 ajastart text, a, j, end text DNK fragmenti hosil qiladi:



Birinchi marker allel: takrorlanuvchi qismning yon tomonidagi praymerlar 200 aj DNK fragmentini hosil qiladi

Ikkinchi marker allel: takrorlanuvchi qismning yon tomonidagi praymerlar 300 aj DNK fragmentini hosil qiladi

Siz to‘rtta DNK namunasida PZR o‘tkazdingiz va quyida ko‘rsatilgandek gel elektroforez yordamida natijalarni vizual tahlil qilasiz:



Gelda beshta

Gel elektroforez

Asosiy tushunchalar:

- **Gel elektroforezi** DNK fragmentlarini o'lchamiga mos ravishda ajratish usuli hisoblanadi.
- DNK namunalari gelning bir qismida joylashgan quduqlarga (chuqurchalarga) joylashtiriladi va ularni gel orqali harakatlantirish uchun elektr toki yuboriladi.
- DNK fragmentlari manfiy zaryadga ega, shuning uchun ular musbat elektrod tomonga harakat qiladi. Chunki barcha DNK fragmentlari ma'lum massa birligida bir xil zaryadga ega, kichik fragmentlar gel bo'ylab kattalariga nisbatan tezroq harakatlanadi.
- Gel DNK bog'lovchi bo'yoqlar bilan bo'yalganda, bir xil o'lchamlarga ega bo'lgan DNK fragmentlari **tasmalar** shaklida ko'rinadi.

Kirish

Faraz qilaylik, [PZR reaksiyasini](#) o'tkazib, kerakli genning ko'plab nusxalarini hosil qildik. Yoki [DNKni klonlash](#) orqali halqasimon plazmidga kerakli genni kiritdik.

Endi PZR to'g'ri bajarilgani yoki plazmid kerakli genni qabul qilib olganini tekshirishimiz lozim. DNK fragmentlarini vizual (oddiy ko'z bilan ko'rish orqali) tahlil qilish uchun qaysi usulni qo'llashimiz mumkin?

Gel elektroforezi

Gel elektroforezi DNK fragmentlari (yoki RNK va oqsil singari boshqa makromolekulalar)ni o'lchami va zaryadi bo'yicha ajratish usuli hisoblanadi. Elektroforez kerakli molekulalarni o'z ichiga olgan gel orqali zaryad oqimini o'tkazishdan iborat. Molekulalar o'z o'lchamlariga mos ravishda gel orqali turli yo'nalishda yoki turli tezlikda bir-biridan ajraladi.

[\[“Elektroforez” nomi qanday paydo bo'lgan?\]](#)

Barcha DNK molekulalari ma'lum massa birligida bir xil zaryada ega. Shuning uchun gel elektroforezi DNK fragmentlarini o'lchamiga qarab ajratadi.

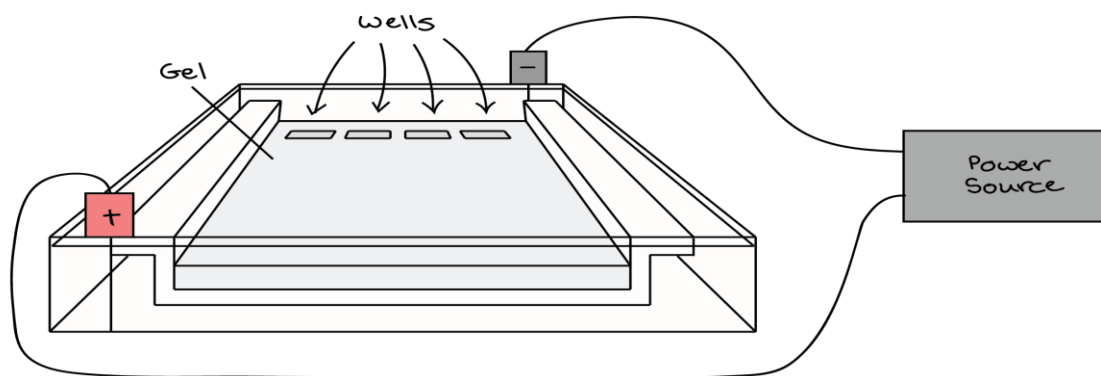
Elektroforez yordamida namunada qancha turdagi DNK fragmentlari mavjudligini va ularning bir-biriga qanday bog‘liqligini bilib olishimiz mumkin. Shuningdek, DNK qismlarining o‘lchamini bilgan holda uning absolyut o‘lchamini standart “etalon” bilan solishtirish orqali aniqlashimiz mumkin.

[\[Batafsil ma’lumot\]](#)

Gel nima?

Nomidan ko‘rinib turibdiki, gel elektroforezi geldan – jelesimon moddadan iborat. DNK bo‘laklarini ajratish uchun qo‘llanadigan gellar ko‘pincha quruq, kukunsimon shakldagi **agaroz**a deb nomlangan polisaxariddan tayyorlanadi. Agaroz bufer eritma (ozroq tuz saqlagan suv)da qizdirilsa va sovitsa, u qattiq konsistensiyali, biroz shilimshiq gel hosil qiladi. Molekulyar darajada olganda, gel – bu vodorod bog‘lari bilan bog‘langan va mayda poralarni hosil qilgan agaroz molekularining yig‘indisi.

Gelning bir qismida **quduqlar** deb nomlanadigan, DNK namunalari joylashtiriladigan cho‘ntaksimon chuqurchalar mavjud bo‘ladi:



DNK namunalari qo‘shilishidan oldin gel maxsus **gel qutisiga** joylashtiriladi. Bu qutining bir chekkasida musbat, ikkinchi chekkasida manfiy elektrod joylashtirilgan. Qutining asosiy qismiga elektr zaryadini o‘tkazadigan tuz saqlovchi bufer eritma solinadi. Garchi yuqoridagi rasmda buni ko‘rishning iloji bo‘lmasa ham, bufer eritma qutiga gelni qoplaydigan darajada quyiladi.

Gelning quduqlar mavjud qismida manfiy elektrodlar joylashtirilgan. Quduqlarsiz qismida (DNK fragmentlari harakatlanadigan tomon) musbat elektrodlar joylashtirilgan.

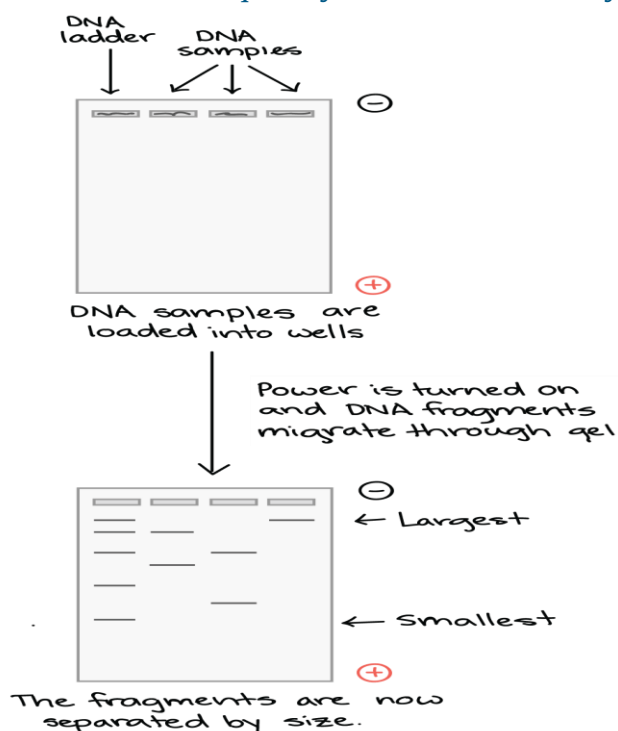
DNK fragmentlari gel bo‘ylab qanday harakatlanadi?

Gel qutiga joylashtirilgach, tekshirilishi kerak bo‘lgan DNK namunalari (misol uchun, PZR reaksiyasi yoki restriksion parchalash natijasida olingan plazmid) ehtiyotkorlik bilan quduqlarning biriga joylashtiriladi. Bitta quduq esa **DNK chizg‘ichi** – ma’lum uzunlikka ega bo‘lgan standart namuna uchun ajratiladi. Sanoat miqyosida ishlab chiqariladigan DNK chizg‘ichlari har xil

o'lchamda bo'ladi, shuning uchun biz kerakli fragmentlarni o'lchami orqali ajratib olishimiz mumkin.

Shundan so'ng kuchlanish ishga tushiriladi va gel qutisi orqali elektr toki o'tkazish boshlanadi. DNK molekulalari fosfat guruhi tutganligi bois manfiy zaryadga ega, shu tufayli ular gel matriksi orqali musbat qutb tomon harakatlanadi. Kuchlanish ishga tushirilib, gel orqali zaryad o'tishi boshlanganda, gel **ishlayotgan** holatda bo'ladi.

[Gelni ishga tushirish uchun qanday kuchlanishdan foydalaniladi?]



DNK namunalari gelning manfiy elektrod qismidagi quduqlarga joylashtiriladi.

Kuchlanish ishga tushiriladi va DNK fragmentlari gel bo'ylab (musbat qutb tomon) harakatlanadi.

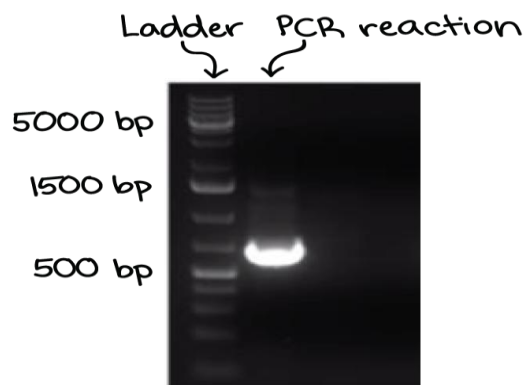
Gel ishga tushgach, fragmentlar o'lchamlari bo'yicha ajrala boshlaydi. Eng katta fragmentlar gelning yuqori qismida (dastlabki qismidagi manfiy elektrod atrofida) bo'ladi, eng kichkinalari esa pastki qismida (musbat elektrod atrofida) bo'ladi.

Reece'dagi chizmaga asoslangan. 22squared

Gel ishlayotganda, uzun fragmentlarga qaraganda qisqa DNK fragmentlari gel matritsasining poralaridan tezroq o'tadi. Gel biroz vaqt ishlagandan so'ng, DNKning eng qisqa fragmentlari gelning musbat qutbiga yaqinlashadi, eng uzun DNK fragmentlari esa quduqlar yaqinida qolib ketadi. Agar gel uzoq vaqt ishlasa, DNKning juda qisqa fragmentlari gelning chekkasidan chiqib ketishi mumkin. (Bu mening aybim bilan ko'p sodir bo'lgan!)

DNK fragmentlarining vizual tahlili

Fragmentlar ajralgandan so'ng gelni tekshirib, unda qanday o'lchamdagi tasmalar borligini aniqlash mumkin. Gel DNK bog'lovchi bo'yoq bilan bo'yalib, UB nurlari ostiga qo'yilsa, gelning turli qismlarda joylashgan DNK fragmentlari yaltirab ko'rinadi.



Chizg'ichdagi har bir raqam yonidagi *aj* DNK fragmentida qancha *asos jufti* mavjudligini ko'rsatadi.

DNKning geldagi ko'zga eng yaxshi tashlanadigan "chiziqlari" **tasma** deb nomlanadi. Har bir tasma gelning shu qismida joylashgan bir xil o'lchamli DNK fragmentlarini o'z ichiga oladi. Bitta DNK fragmenti (hatto DNK fragmentlarining kichik guruhi) yolg'iz o'zi ko'zga ko'rinmaydi.

Namunadagi tasmalarni DNK chizg'ichi bilan solishtirib, ularning taxminiy o'lchamlarini aniqlashimiz mumkin. Misol uchun, yuqorida tasvirlangan geldagi yorqin tasma taxminan 700700700 asos juft (aj) o'lchamiga ega.

Mavzu bo'yicha bilimingizni sinab ko'ring



Chap tomondagi oxirgi qator: bu yerda 3000 aj, 1500 aj va 500 aj tasmalarga ega chizg'ich belgilangan.

Birinchi qator: 5000 aj tasma.

Ikkinchi qator: 100 aj tasma.

Uchinchi qator: 1500 aj va 2000 aj tasma.

To'rtinchi qator: 500 aj tasma.

Yuqoridagi gelda to'rtta qator raqamlangan. (**Qator** bu DNKning quduqdan chiqib ketadigan yo'lagi hisoblanadi.)

DNKni tartiblash

Asosiy tushunchalar:

- **DNK sekvenirlash** – DNK bo'lagidagi nukleotidlar (A, T, S va G) ketma-ketligini aniqlash jarayoni.

- **Sanger bo'yicha sekvenirlash**da nishon DNKdan ko'plab nusxalar olinib, turli uzunlikdagi fragmentlar hosil qilinadi. Fluorescent “terminator zanjir” nukleotidlari fragment oxiriga birikadi va ularni aniqlashga imkon beradi.

- **Yangi avlod sekvenirlash** usuli yangi, keng yondashuvli, yuqori tezlikka ega va kamxarajat talab usuli hisoblanadi.

Sekvenirlash nima?

Genom ketma-ketligi to'g'risida eshitgan bo'lsangiz kerak. Misol uchun, ko'p yillik harakatlar natijasida inson genomi 2003-yilda to'liq o'rganildi. Lekin genom yoki DNK kichik bir fragmentining ketma-ketligi nimani anglatadi?

DNK sekvenirlash – DNK bo'lagi tarkibidagi asoslar (A, T, S va G) ketma-ketligini aniqlash jarayoni. Bugungi kunda kerakli uskunalar va anjomlar yordamida DNKning kichik bo'lagini sekvenirlash nisbatan oson.

Butun genom (organizmdagi barcha DNK)ni sekvenirlash hamon murakkab vazifa bo'lib qolmoqda. Bu jarayon genom DNKsini ko'plab kichik bo'laklarga bo'lish, bo'laklarni sekvenirlash va bitta uzun zanjirga yig'ishni talab qiladi. Biroq so'nggi yigirma yil ichida ishlab chiqilgan yangi usullar tufayli hozir genomni sekvenirlash “Inson genomi loyihasi”ga qaraganda ancha tezroq va arzonroq11start superscript, 1, end superscript.

Bu maqolada DNK sekvenirlash usulini yaqindan ko'rib chiqamiz. Hozirgi kunda yaxshi yo'lga qo'yilgan Sanger bo'yicha sekvenirlash usuliga to'xtalamiz, shu bilan birga, yuqori tezlik va arzon narxga ega bo'lgan yangi (“keyingi avlod”) usul haqida ham gaplashamiz.

Sanger bo'yicha sekvenirlash: zanjir terminatsiyasi usuli

DNKning 900900900 asos juftiga ega bo'lgan qismi asosan **Sanger bo'yicha sekvenirlash** yoki **zanjir terminatsiya** deb nomlanuvchi usullar yordamida sekvenirlanadi. Sanger bo'yicha sekvenirlash 1977-yilda britaniyalik olim Fred Sanger tomonidan kashf qilingan.

Inson genomi loyihasida Sanger bo'yicha sekvenirlash inson DNKsining nisbatan kichik fragmentlari ketma-ketligini aniqlash uchun ishlatiladi. (Ushbu

fragmentlar 900900900 aj dan kam bo'lasligi kerak edi, lekin tadqiqotchilar ko'p marotaba Sanger usulini qo'llash yordamida har bir fragmentni o'rganish imkoniga ega bo'ldi.) Fragmentlar DNKning kattaroq qismlari va butun xromosomaga birlashish uchun ketma-ket tizilib, bir-birining ustiga joylashadi.

Garchi hozir genom tezkor va arzon usullar yordamida sekvenirlanayotgan bo'lsa ham, Sanger bo'yicha sekvenirlash [DNKni klonlash](#) yoki [polimeraza zanjir reaksiyasi](#) (PZR) orqali hosil qilingan DNKning alohida fragmentlarini sekvenirlash uchun qo'llanadi.

Sanger bo'yicha sekvenirlashda ishlatiladigan ingrediventlar

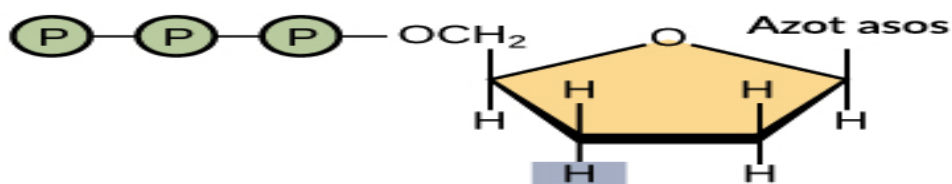
Sanger bo'yicha sekvenirlashda DNK nishon qismining nusxasi ko'p marotaba olinadi. Buning uchun kerakli ingrediventlar inson organizmidagi [DNK replikasiyasi](#) yoki DNKni *in vitro* ko'paytiruvchi polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) uchun kerak bo'ladigan ingrediventlar bilan o'xshash. Bular quyidagilar:

- DNK polimeraza fermenti
- **Praymer.** DNKning bir zanjirli kichik qismi bo'lib, andoza DNKga bog'lanadi va polimeraza uchun "boshlab beruvchi" vazifasini bajaradi.

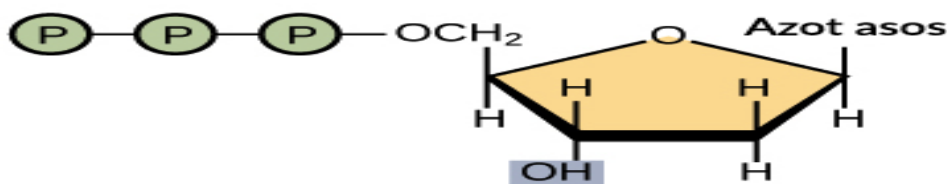
- To'rtta DNK nukleotidlari (dATF, dTTF, dSTF, dGTF)
- Ketma-ketligi aniqlanishi kerak bo'lgan andoza DNK

Lekin Sanger bo'yicha sekvenirlash reaksiyasi uchun o'ziga xos (yagona) ingredivent ham kerak bo'ladi:

- Dideoksi yoki **zanjir terminatsiyalovchisi** – har biri har xil rangli bo'yoq bilan bo'yalib nishonlangan to'rtta nukleotid (ddATF, ddTTF, ddSTF, ddGTF)



Dideoksinukleotid (ddNTP)



Deoksinukleotid (dNTP)

Rasm: "[Butun-genomni sekvenirlash: 1-rasm](#)", OpenStax College, Biology ([CC BY 4.0](#)).

Dideoksi nukleotidlar doimiy yoki deoksi nukleotidlarga o'xshash, lekin bitta farqi – uglevod halqasidagi 3' uglerodda gidroksil guruhning yo'qligi.

Doimiy nukleotidda 3' gidroksil guruh mavjud zanjirga yangi nukleotidlarni biriktirish uchun "ilgich" vazifasini bajaradi.

Zanjirga dideoksi nukleotidi birikkach, bo'sh gidroksil guruhi qolmaydi va yangi nukleotidlar birikmaydi. Zanjir dideoksi nukleotid bilan tugaydi, asos turiga qarab (A, T, S yoki G) bo'yoqning ma'lum bir rangi bilan bo'yaladi.

[Bo'yoq qayerga biriktiriladi?]

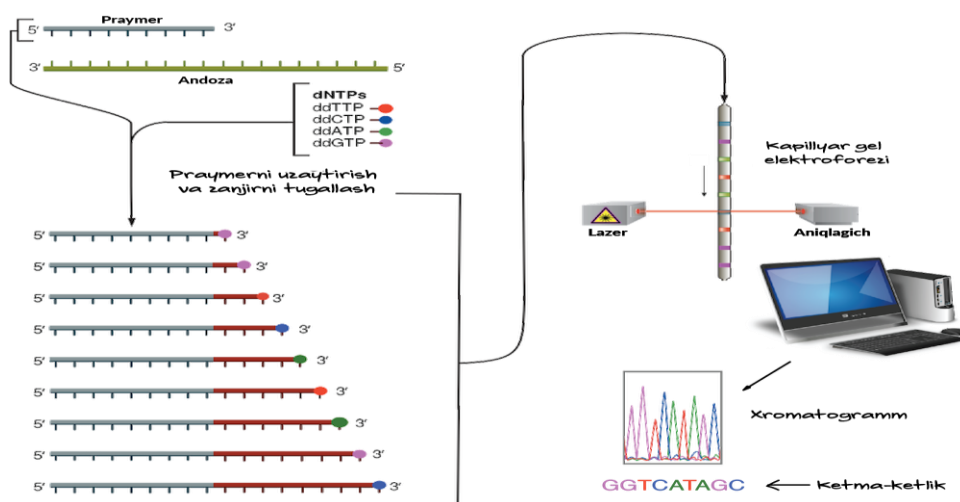
Sanger bo'yicha sekvenirlash usuli

Sekvenirlanishi kerak bo'lgan DNK namunasi probirkada praymer, DNK polimeraza va nukleotidlar (dATF, dTTF, dGTF va dSTF) bilan aralashtiriladi. To'rtta bo'yali nishonlangan zanjir terminatsiyalovchi dideoksi nukleotidlar ham qo'shiladi, lekin oddiy nukleotidlarga qaraganda kamroq miqdorda.

Dastlab andoza DNKni denaturatsiyalash (zanjirlarini ajratish) uchun aralashma qizdiriladi, keyin esa praymer bir zanjirli andozaga bog'lanishi uchun sovitiladi. Praymer bog'langach, harorat yana oshiriladi, bu DNK polimerazaga praymerdan boshlab yangi DNK zanjiri sintezlashi uchun sharoit yaratadi. DNK polimeraza zanjirga nukleotid biriktirishni boshlaydi, bu holat normal nukleotid o'rniga dideoksi nukleotidni zanjirga biriktirguncha davom etadi. Shu nuqtada boshqa nukleotidlar qo'shilmaydi, shuning uchun zanjir dideoksi nukleotid bilan tugaydi.

Bu jarayon bir nechta sikl davom etadi. Sikl tugagandan so'ng kamida bitta reaksiya davomida nishon DNKning har biriga dideoksi nukleotidi qo'shishi deyarli kafolatlanadi. Reaksiya oxirida, probirkada har birining tarkibida boshlang'ich DNKdagi nukleotidlarga ega bo'lgan turli uzunlikdagi fragmentlar bo'ladi (quyidagi rasimga qarang). Fragmentlarning oxirgi uchlari so'nggi nukleotidni ko'rsatuvchi bo'yoqlar bilan yorliqlangan.

[Barcha fragmentlar yorliqlanadimi?]



Rasm “[Sanger bo'yicha sekvenirlash](#)”, Estevezj ([CC BY-SA 3.0](#)). Rasm ([CC BY-SA 3.0](#)) ruxsatnomasi asosida takomillashtirildi.

Reaksiya tugagach fragmentlar o'zida gel saqlagan uzun va ingichka nay bo'ylab harakatlana boshlaydi, bu jarayon **kapillyar gel elektroforezi** deb nomlanadi. Qisqa fragmentlar geldagi poralar orqali tez harakatlanadi, uzunlari esa sekinroq harakatlanadi. Har bir fragment probirka oxiridagi “finish” chizig'ini bosib o'tgandan so'ng, bo'yoqni aniqlashga yordam beruvchi lazer nuri bilan yoritiladi.

Eng kichik fragment (praymerdan keyin bitta nukleotid bilan tugaydigan) finish chizig'ini birinchi bosib o'tadi, ikkinchi bo'lib undan kattarog'i (praymerdan keyin ikkita nukleotid bilan tugaydigan) bosib o'tadi va shu tariqa davom etadi. Shunday qilib, bo'yoq ranglari birin-ketin detektor (aniqlagich)ga yozib olinadi, boshlang'ich DNK bo'lagining ketma-ketligi ma'lum vaqt ichida tiklanadi. Detektor tomonidan yozib olingan ma'lumotlar yuqoridagi **xromatogrammada** ko'rsatilganidek, fluoressent nurlarining yuqori nuqtaga chiqishini o'z ichiga oladi. Xromatogrammadagi DNK ketma-ketliklari shu yuqori nuqtalar orqali o'qiladi.

Foydalanish va cheklovlar

Sanger bo'yicha sekvenirlash nisbatan uzun (900900900 tagacha asos juftlariga ega bo'lgan) DNK zanjirlari ketma-ketligini aniqlashda yaxshi natija beradi. U odatda DNKning [bakteriya plazmidlari](#) yoki [PZR](#)da nusxasi olingan alohida DNK bo'laklarini sekvenirlash uchun ishlatiladi.

Shu bilan birga, Sanger bo'yicha sekvenirlash katta hajmdagi loyihalar, masalan, butun genomni yoki metagenomni (mikroblar jamoasining “kollektiv genomini”) sekvenirlash uchun qimmat va samarasiz hisoblanadi. Bu kabi vazifalar uchun yangi, keng miqyosli sekvenirlash usullari tezkor va arzonroq.

Yangi avlod sekvenirlash

Bu nom xit bo'lgan qo'shiq nomiga o'xshab eshitilishi mumkin, lekin aslida ham shunday nomlanadi! So'nggi DNK sekvenirlash usullarining nomi umumiy qilib **yangi avlod sekvenirlash** deb nomlanadi.

Turli xil texnologiyalardan foydalanadigan har xil yangi avlod sekvenirlash usullari mavjud. Biroq ularni Sanger bo'yicha sekvenirlashdan ajratib turadigan bir qator xususiyatlar mavjud:

- **Yuqori darajadagi parallellik:** ko'plab sekvenirlash reaksiyalari bir vaqtning o'zida sodir bo'ladi
- **Kichik o'lchov:** reaksiyalar juda kichik hajmda va hatto chiplarda amalga oshirilishi mumkin

- **Tezkor:** reaksiyalar parallel sodir bo'lgani uchun natijalar darhol tayyor bo'ladi
- **Arzon:** genomni sekvenirlash Sanger bo'yicha sekvenirlashga nisbatan arzonroq tushadi
- **Qisqa uzunlik:** 505050 \[\mbox{-}\] 700700700 ta nukleotiddan iborat uzunlikda o'qiladi

Umuman olganda, keyingi avlod sekvenirlash juda katta miqdordagi kichik Sanger bo'yicha sekvenirlash reaksiyalarini parallel ravishda bajarishga o'xshaydi. Ushbu parallellik va kichik hajmi tufayli katta miqdordagi DNKni Sanger bo'yicha sekvenirlashga qaraganda yangi avlod usullari bilan tezroq va arzonroq sekvenirlash mumkin. Misol uchun, 2001-yilda inson genomini sekvenirlash narxi \$100\$100dollar sign, 100 millionmillionstart text, m, i, l, l, i, o, n, end text bo'lgan. 2015-yilda esa bor-yo'g'i \$1245\$1245dollar sign, 1245 ni tashkil qilgan22squared!

Nega sekvenirlashning tez va arzon bo'lishi muhim? Doimiy ravishda genomlarni sekvenirlash imkoniyati biologiya tadqiqotlari va biotibbiy dasturlar uchun yangi imkoniyatlarga yo'l ochadi. Masalan, arzon narxlardagi sekvenirlash xususiylashtirilgan tibbiyotga ilk qadam, ya'ni inson ehtiyojiga qarab uning genomidagi gen variantlari tuzilishiga asoslangan holda tibbiy davolashga imkon yaratadi.

2-mavzu: Biotexnologiyada spektrofotometriyani ahamiyati.

Reja:

1. Bugert-Lamber-Berg qonuni;
2. Spektrometrik to'liq uzunliklari va farqlari;
3. Dori vositalari va oziq-ovqat maxsulotlarini taxlil qilishda spektrofotometriyani o'rni.

Fotometr, fotokolorimetr, spektrometr va spektrofotometr nima.

Spektral vositalar laboratoriyalarda assimilyatsiya qiluvchi erituvchilar tarkibidagi moddalarni konsentratsiyasini o'lchash uchun keng qo'llaniladi. Bunday qurilmalar ko'pincha chaqiriladi: fotometr, fotokolorimetr, spektrometr va spektrofotometr. Ushbu qurilmalar juda o'xshash bo'lsa ham, ularni bir-biri bilan chalkashtirmaslik kerak. Ularning asosiy farqlari quyidagilardir: Fotometr - bu fotometrik miqdorlarni o'lchash uchun ishlatiladigan asbobning umumiy tushunchasi. Fotosokolorimetr bu fotometrning bir turi bo'lib, bu qurilma eritmaning rangini yoki rangi intensivligini o'lchash uchun ishlatiladi. Ko'pincha tahlilda ishlatiladigan spektrning qismi fotokolorimetrlardagi filtrlar bilan ta'kidlanadi. Bunday tizim ko'chma (mobil) qurilmalar uchun qulay, ammo

nisbatan past o'lchov aniqligi bilan ajralib turadi. Agar fotometrda spektrning bir qismini ajratish uchun monoxromator (diffraksiya panjarasi) ishlatilsa, unda bunday moslamani spektrofotometrlarga, ya'ni spektrning tanlangan qismida ishlaydigan fotometrlarga kiritish mumkin. Zamonaviy fotometrlar nafaqat bir xil to'lqin uzunligida ishlashga, balki ixtiyoriy qadam bilan namunani turli to'lqin uzunliklarida skanerlashga imkon beradi. Bunday qurilmalarni allaqachon spektrometrlar deb tasniflash mumkin.

ECOVIEW savdo belgisining fotometrlari diffraksion panjara asosida aniq monoxromator, to'lqin uzunligini avtomatik sozlash tizimi, kremniy fotoselga asoslangan sezgir detektor va qulay interfeysga ega kuchli kontroller bilan jihozlangan, shuning uchun ularni Yangi avlod spektrofotometri deb atash mumkin!

Spektrofotometrlar

Spektrofotometr - bu yorug'lik tarkibiy qismlarining intensivligini aniqlash uchun ishlatiladigan laboratoriya asbobidir. Ular ko'rinadigan yoki turli to'lqin uzunliklariga ega bo'lgan ultrabinafsha komponentlar bo'lishi mumkin.

Siz hozirda eng yaxshi narxda spektrofotometrni sotib olishingiz mumkin. O'z-o'zidan sozlash tizimi bilan jihozlangan yangi avlod qurilmalarini taklif etamiz.

Spektrofotometrlar nima uchun ishlatiladi?

Ushbu qurilmadan foydalanib, emulsiyalar, eritmalar tarkibidagi turli xil moddalarni osongina aniqlashingiz mumkin. Spektrofotometr nafaqat vaqtni, balki reaktivlarni ham tejashga imkon beradi.

Spektrofotometrning asosiy farqi bu monoxromatorning mavjudligi, bu qurilma kerakli to'lqin uzunligini olish imkonini beradi. Qurilma turli to'lqin uzunliklarida, ya'ni ultrabinafsha nurlaridan infraqizilgacha ishlaydi. Ular odatda spektral tahlil va kolorimetriyada qo'llaniladi.

Bugungi kunda mahsulot sifatiga bo'lgan talablar yil sayin ortib bormoqda, shuning uchun mutaxassislar va sotuvchilar iste'molchilarni jalb qilish uchun turli xil usullardan foydalanadilar. Masalan, oziq-ovqat rangi va qadoqlashning o'zi mahsulotga bo'lgan talabga ko'proq ta'sir qiladi. Albatta, bu erda sifatning o'zi eng muhim rol o'ynaydi, lekin iste'molchi sizning mahsulotingizga alohida qarash uchun uni vizual ravishda jozibali qilishingiz kerak. Masalan, ichimliklar, un, mayonez va boshqa mahsulotlarning rangi ushbu maxsus moslama bilan o'lchanadi. Spektrofotometr standart va namuna o'rtasidagi rang farqlarini ham o'lchaydi. Undan foydalanib, bo'yoqlar yaratiladi.

Shuningdek, bizning qurilmalarimiz yordamida siz atrof-muhitning suv, tuproq, havo, sanoat chiqindilari va boshqalarni kuzatib borishingiz mumkin. Ular turli sohalarda qo'llaniladi: kimyoviy, metallurgiya, neft-kimyo, farmatsevtika. Qulay vositalar tez tahlillarni ta'minlaydi.

Biz sizga sifatli spektrofotometrlarni taklif qilamiz, ularning narxi albatta sizni xursand qiladi. Bundan tashqari, biz qurilmalarning sifatini qat'iy nazorat qilamiz, siz aniq zamonaviy va aniq spektrofotometrni olasiz. Zamonaviy elektron komponentlar uzoq xizmat muddatini kafolatlaydi, bu yaxshi yangilik.

Shunday qilib, sizga yuqori texnologiyali fotometr kerak bo'lsa, uni bizdan sotib olishingiz mumkin. Bizning ishimiz davomida biz mijozlarimiz bilan ishonchli aloqalarni o'rnatdik va ularga eng zamonaviy ishlanmalarni taqdim etamiz.

Spektrofotometrlar ECOVIEW - Yangi avlod spektrofotometrlari

ECOVIEW spektrofotometrlari eskirgan PromEcoLab spektrofotometrlarini PE-5300V, PE-5400V, PE-5400UF, PE-3000UF, PE-3200C / UV, PE-6100UF bilan almashtirdi. PromEcoLab PE-5300V, PE-5400V, PE-5400UF, PE-3000UF, PE-3200C / UV, PE-6100UF spektrofotometrlari to'xtatiladi. ECOVIEW spektrofotometrlari shunga o'xshash asboblardan ustun bo'lgan texnik xususiyatlarga ega.

V-1100 TM ECOVIEW spektrofotometri PromEcoLab PE-5300V spektrofotometri bilan almashtirildi. B-1100 spektrofotometri o'z sinfidagi inqilobiy modeldir. Qurilma PE-5300V, KFK-3, PE-5300VI va hokazo modellariga o'xshash, ammo ular to'lqin uzunligini sozlashda va ishlatilgan to'lqin uzunligi diapazonida ulardan ustundir. Iqtisodiyot segmentidagi qurilmalar uchun V-1100 spektrofotometrida avtomatik (dasturiy) to'lqin uzunligi sozlamalari va o'z-o'zini sozlash tizimi qo'llaniladi.

Spektrofotometr UV-1100 TM ECOVIEW (ECOVIEW) kichik va o'quv laboratoriyalari uchun mo'ljallangan. Qurilma ishlaydigan hududning havosini tahlil qiluvchi laboratoriyalar uchun juda mos keladi. Qurilma PE-5300UF modeliga o'xshaydi, ammo to'lqin uzunligini sozlashda u undan ustundir. Spektrofotometr to'lqin uzunligini sozlash uchun avtomatik (dasturiy) tizim bilan jihozlangan, operatorga ko'rsatma tizimi, rangli displey va

V-1200 TM ECOVIEW spektrofotometri (ECOVIEW) PromEcoLab PE-5400V spektrofotometri bilan almashtirildi. V-1200 spektrofotometri o'z sinfidagi inqilobiy modeldir. Qurilma PE-5400V, KFK-3-01, PE-5400VI va boshqalar modellariga o'xshash, ammo ular ishlatilgan to'lqin uzunligi oralig'ida ulardan ustundir. Birinchi marta V-1200 spektrofotometri ushbu sinf qurilmalari uchun rangli sensorli ekran bilan jihozlangan! Maxsus step motorlarini ishlatish tufayli qurilmaning shovqini pasayadi!

UV-1200 TM ECOVIEW spektrofotometri PromEcoLab PE-5400UF spektrofotometri bilan almashtirildi. UV-1200 spektrofotometri o'z sinfidagi inqilobiy modeldir. Qurilma PE-5400UF va hokazo modeliga o'xshaydi, ammo ishlatilgan to'lqin uzunligi oralig'ida undan ustun turadi. UV-1200 spektrofotometri

birinchi marotaba ushbu sinf qurilmalari uchun rangli sensorli ekran bilan jihozlangan! Maxsus step motorlarini ishlatish tufayli qurilmaning shovqini pasayadi!

Spektrotometr UV-1800 TM ECOVIEW (ECOVIEV) - bu universal tahliliy asbob bo'lib, u muntazam tahlillar va ilmiy tadqiqotlar uchun juda mos keladi. Qurilma to'lqin uzunligi spektrida namunani skanerlash tizimi bilan jihozlangan. Sensorli ekran va foydalanuvchilarga qulay interfeys foydalanuvchining kundalik ishini osonlashtiradi.

UV-3000, UV-3100, UV-3200 va UV-6100 ikki nurli spektrofotometrlar ilmiy-tadqiqot laboratoriyalari uchun mo'ljallangan bo'lib, ushbu spektrofotometrlar zamonaviy kontroller bilan jihozlangan bo'lib, bu sizga fotometriya rejimida ishlash, spektrlarni skanerlash, kinetikani o'rganish (reaktsiyaning vaqtga bog'liqligi) namunani ko'p to'lqinli tahlilini o'tkazish, miqdoriy tahlilni o'tkazish, shuningdek DNK / oqsillarni tekshirish.

SpektrofotometrlarEKOZ

V-1100, UV-1100, V-1200, UV-1200, UV-1800, UV-3000, UV-3100, UV-3200, UV-6100 yangi avlod spektrofotometrlari Rossiya laboratoriyalarining barcha talablarini hisobga olgan holda ishlab chiqilgan. Fotometrik usulga asoslangan barcha sertifikatlangan o'lchash usullari bilan ishlash uchun asboblardan foydalanish mumkin. UV-3200 va UV-6100 spektrofotometrlari yangi usullarni ishlab chiqishda muvaffaqiyatli ishlatilishi mumkin, chunki ular aniqlikni oshirdi!

Kichik muntazam tahlillarga ega laboratoriyalar va o'quv laboratoriyalari uchun V-1100 spektrofotometri va V-1200 spektrofotometrini tavsiya qilamiz.

Oddiy ish yuki bo'lgan laboratoriyalar uchun biz B-1200 spektrofotometrlarini, UV-1200 spektrofotometrlarini va UV-1800 spektrofotometrlarini tavsiya qilamiz.

Tadqiqot laboratoriyalari uchun biz UV-3000, UV-3100, UV-3200 spektrofotometrlarni va UV-6100 ikki nurli spektrofotometrni tavsiya qilamiz.

Bizning barcha spektrofotometrlarimiz suv, atmosfera havosi, sanoat chiqindilari, tuproq, pastki cho'kindilar va toklarning ekologik monitoringi uchun ishlatilishi mumkin. Shuningdek, barcha qurilmalarimiz ichimlik suvi sifatini nazorat qilish, oziq-ovqat, kimyo, farmatsevtika, metallurgiya va neft-kimyo sanoatida xom ashyo va tayyor mahsulotni texnologik nazorat qilish uchun ishlatilishi mumkin. CODni aniqlash uchun asboblardan foydalanish mumkin.

Barcha an'anaviy xandaklar uchun mos asboblardan foydalanish uchun. Maxsus ariqlarni sotib olishning hojati yo'q!

Qurilmalar o'z-o'zini sozlash tizimi bilan jihozlangan! To'lqin uzunligini sozlashning aniqligi o'rnatilgan monitoring dasturi tomonidan ta'minlanadi! Qurilma uchun eskirgan boshqarish yorug'lik filtrlari kerak emas!

Spektrofotometrik tahlil usuli

Xuddi shu aloqaga ega bo'lgan va IF mintaqasida bitta guruhni tashkil etadigan molekulalar mos keladigan xarakterli chastotadagi assimilyatsiya bantlarini hosil qiladi. Ushbu xarakterli chastotalar olingan spektrdan o'rganilayotgan suspenziyada atomlar yoki molekulalarning kerakli guruhlari mavjudligini aniqlashga yordam beradi.

Spektrofotometriya bo'linadi: molekulyar, kerakli modda molekulyar tuzilishga ega bo'lganda va atom. Spektrofotometrlar asbobni ajratib turadigan to'lqin uzunligiga va aniqlanishi kerak bo'lgan moddalarga qarab tanlanadi.

Ayrim qurilmalarda sinish va tarqalish qonunlariga o'zgartirishlar kiritish uchun süspansiyon (sinov moddasi bilan eritma) va eritma o'lchanadi. Yorug'lik nuri süspansiyonundan o'tib ketganda, moddaning so'rilish xususiyatlariga qarab, u susayadi. Yorug'likning pasayishi intensivligi suspenziyadagi moddaning tarkibiga bog'liq. Aniqroq bog'liqlik Bouguer-Lambert-Beer (BLB) tomonidan aniqlanadi, qonun "uning qalinligining mohiyati - energiya chizig'ining zaiflashuvidan".

Spektrofotometrik aniqlanish turli vazifalar uchun ko'plab sohalarda paydo bo'ladi: da'vo qilingan mahsulot / mahsulotning haqiqiyligini tasdiqlaydi, ishlab chiqarilgan mahsulotning sifatini belgilaydi, uning yordamida suv havzalarida radioaktiv elementlar topiladi, qancha miqdordagi suspenziya mavjudligini miqdoriy jihatdan hisoblab chiqadi, suspenziyadagi kimyoviy elementlarni farqlash.

U biologik va geologik laboratoriyalarda, radiatsiyaviy xavfsizlik maqsadida (atom stansiyalarida, institutlarda va boshqalarda), ishlab chiqarish va materiallarning kimyoviy tarkibini bilish zarur bo'lgan sohalarda qo'llaniladi.

Spektrofotometrik usulning matematik tavsifi

Biz o'tkazuvchanlik T tushunchasini kiritamiz.

Men bu suspenziya orqali uzatiladigan yorug'lik energiyasining intensivligidir,

I_0 - eritma orqali.

Kerakli moddalar kontsentratsiyasini aniqlash uchun spektrofotometrlar $D = -\log$ deb topilgan optik zichlikdan foydalanadilar $D(T)$.

Konsentratsiya BLB qonuni bilan aniqlanadi:

Elementar o'zgarishlardan foydalanib, ushbu jurnalni olish juda oson $D(T) = \epsilon * l * c$ yoki $D = \epsilon * l * c$.

O'zgaruvchilarning belgilari ushbu qonunning cheklashlarida quyida keltirilgan.

Agar eritmaga bir nechta sinov elementlari kiritilsa, usul bu holatda ham qo'llaniladi. Qo'shimcha qonunga muvofiq har bir element umumiy optik zichlikka hissa qo'shadi:

Bouger-Lambert Behr qonuni optik zichlikning konsentratsiyaga chiziqli bog'liqligini aniqlaydi va uning grafigi kelib chiqishni qoldiradi. Aslida, chiziqli bo'lish har doim ham kuzatilmaydi.

Bouguer Lambert Pivo to'g'risidagi qonun

Qonun to'liq amalga oshirilishi uchun quyidagi shartlar bajarilishi kerak:

Radiatsiya monoxromatik bo'lishi kerak, ya'ni. to'lqin uzunligi bir xil bo'lishi kerak, unga eritma va süspansiyon ko'rinadi.

Molyar assimilyatsiya koeffitsienti (ϵ) ham suspenziyada, ham eritmada muhitning sinish xususiyatlariga bog'liq. Agar suspenziyadagi refraktsiya kuchliroq bo'lsa, u holda chiziqli qonun qo'llanilmaydi. The koeffitsienti qanchalik katta bo'lsa, usul ushbu ta'rifda sezgir bo'ladi.

O'lchov paytida doimiy atrof-muhit harorati bo'lishi kerak. O'zgarish faqat bir necha daraja ichida joizdir.

Faqat parallel nur nuridan foydalanish kerak.

Spektrofotometr bilan o'lchash paytida analitning konsentratsiyasi (c) analit xususiyatining o'zgarishi sababli o'zgarmasligi kerak. Masalan, suspenziyada molekulalar dissosiyatsiya yoki kislota asosidagi reaksiya natijasida ionlarga o'tmasligi kerak.

Atomdagi elektronlarning qo'zg'alishidan qochishga harakat qiling (ba'zida bu usul tahlil uchun ham ishlatiladi, ammo klassik dasturda bunga yo'l qo'yilmaydi), ya'ni oltmish kilojouldan oshiq energiya bilan atomlarni nurlantirmaslik kerak.

Eritma va suspenziyani o'lchashda yorug'lik bir xil yo'ldan o'tishi kerak (I).

Distillangan suv ko'pincha eritma sifatida ishlatiladi.

Spektrofotometrik usulning cheklanishi

Atomlar va molekulalarning ichki o'tishlari qo'zg'alishining energiya sathiga mos keladigan energiya (to'lqin uzunligi) yanada intensiv so'riladi: u holda molar yutilish koeffitsienti maksimal bo'ladi.

Gazlar aralashmasi uchun usul yaxshi ishlamaydi.

BLB qonunining cheklovlari.

Spektrofotometrik usulning afzalliklari

Inert gazlarning tarkibini aniqlash uchun yaxshi mos keladi.

U past konsentratsiyalar bilan ishlaydi - agar suspenziyada ularning soni oz bo'lsa, elementlarni ajratib turadi.

Kengaytirilgan noaniqlikka 0,5-1,% darajasida erishish mumkin.

Eritmada yuqori va past miqdordagi moddalar mavjud.

Qo'shimcha qonunga binoan aralashmalar uchun qo'llanilishi mumkin.
Aniqlanish tezligi (eritma tayyorlashdan tashqari).

Oddiylik.

Spektrofotometrik usulning texnik qismi

Spektrofotometrik tadqiqotlar rangli va toza echimlar tayyorlashni talab qiladi. Spektelni o'lchash uchun spektrofotometr va fotokolorimetr ishlatiladi, bunda sinov eritmalari joylashtiriladi.

Spektrofotometrning asosiy qismlari:

nurlanish manbai

monoxromator (agar yorug'lik manbai monoxromatik nur berolmasa),

eritmalar va suspenziyalar joylashtirilgan kupe,

o'lchash moslamasi.

Asosiy qismlar kengaytirildi: 1 parallel nurga erishish uchun prizma, nometall va linzalar, yorug'lik nurlarining intensivligini tenglashtiradigan 2 ta takoz va diafragma.

Siz monoxromatik nurni quyidagi yorug'lik manbalari orqali olishingiz mumkin:

bilvosita quyosh nuri

halogen lampalar

lazer

Nernst pin

akkor chiroq

global pin,

lyuminestsent nurlanish.

Spektrofotometrik o'lchash, yuqorida aytilganidek, kerakli optik chiziqni tanlashni talab qiladi. Nernst pinini (shN) ishlab chiqarish uchun ustunga bir-biriga mahkam bosilgan nodir tuproqli Me oksidi ishlatiladi. Global (G) silikon karbid ustuniga siqish orqali olinadi. Ular orqali oqim o'tkazilsa, ular tegishli to'lqin uzunliklari bilan yorug'lik nurlanishini chiqaradilar: shN - 1,6 dan 2,0 mikrongacha yoki 5,6 dan 6,0 mikrongacha, G - 2 dan 16 mikrongacha.

Monoxromatizatorlar - bu barqaror to'lqin yaratadigan qurilmalar. Monoxromatizatorlarni to'ldirishda yorug'lik filtrlari va prizmalar qo'llaniladi.

Filtrlarni quyidagilarga ajrating:

Yutish

Shovqin

Interferentsiya polarizatsiyasi

Filtrlar va kuvaytlar tayyorlash uchun kvarts va shishadan foydalaniladi.

Fotomultipleyerlar va fotosellardan foydalanadigan yorug'lik nurlari yoki retseptorlarining intensivligini aniqlash vositasi sifatida. Retseptorlari ikki

xususiyat bilan ajralib turadi: spektral va integral sezgirlik. Birinchi xususiyat - bu turli xil optik chiziqlarni farqlash qobiliyati, ajralmas sezgirlik yorug'likning doimiy oqimiga javob berish qobiliyatidir.

IQ sohasida o'lchash uchun termo-emf yoki termojuft va bolometrdan tayyorlangan termojuftlar qo'llaniladi. Ikkinchisi haroratga duch kelganda materialning qarshiligini o'zgartiradi: termojuft ko'prik pallasida qurilgan, infraqizil nurlanish bu elementni isitilishini va ko'prikning nomutanosibligini keltirib chiqaradi.

Spektrofotometrik tahlil $C = f(D)$ bog'liqligini olish, kelajakda olingan natijalarning korrelyatsiyasi uchun ma'lum namunalardan kalibrlash xarakteristikasini tuzishni o'z ichiga oladi. Kalibrlash xarakteristikasi aniqlanganda, o'lchash tartibi quyidagicha: 1 eritma (u o'lchash uchun asos bo'ladi) - uni o'lchash, eritma tarkibiga 2 ta sinov moddasini qo'shish, 3 ta bo'yoq qo'shish. Bunday holda, suspenziyaning rang darajasi sinov moddasining konsentratsiyasiga, rangli eritmaning spektrofotometridagi 4 o'lchovga bog'liq bo'lishi kerak. Ba'zan tegishli bazalar spektrofotometrغا suriladi, keyin usul kalibrlash namunalarini talab qilmaydi.

Hosil bo'lgan spektrofotometriya

Ushbu turdagi usul bilan suspenziyani o'lchash uchun ikki xil yorug'lik chizig'i ishlatiladi. Nurlar spektrda bir-biriga yaqin joylashgan bo'lib, ular qurilmaga o'rnatilgan filtrlardan hosil bo'ladi. Ushbu qurilma bitta eritmada turli xil moddalarning konsentratsiyasini aniqlay oladi. Spektrofotometrlar bilan taqqoslaganda, fotokolorimetrlarning narxi unchalik katta emas (SF-2000-02 spektrofotometrning narxi 192000 rubl, KFK-5M fotokolorimetrining narxi 55000 rubl) va aksariyat tahlillar uchun aniqlik etarli.

Zamonaviy spektrofotometrlar kyuvetaning hajmini o'zgartirishga imkon beradi, bu tahlil qilish imkoniyatlarini oshiradi, ba'zilar bir necha soniya ichida tahlil qilishadi.

3-mavzu: Biotexnologiyada atom-absorbsion spektrometriyani o'rni.

Reja:

1. Atom-absorbsion spektrometriyani nazariyasi;
2. Biotexnologida AAS ahamiyati.

Mineral elementlarning fiziologik ahamiyati, ularning fermentativ jarayonlarga katalitik ta'siri borasidagi bilimlarni kengayishi alohida mineral elementlarni, jumladan, mikroelementlarni miqdoriy aniqlashning analitik usullarini ishlab chiqish va foydalanishga ehtiyoj tug'dirdi.

Ko'pgina kimyoviy usullar katta namunalar bilan ish ko'radi va ko'p vaqt sarfini talab qiladi. Fotokolorimetrik usullar va kompleksometriya ham o'zini sezgirligi, aniqligi va tahlil o'tkazish tezligi bo'yicha talablarga javob bermaydi. Bu talablarga spektral usullar, xususan, keng tarqalgan atom-absorbsion spektroskopiya eng to'liq javob beradi. Hozirda atom tizimlarida ro'y beradigan nurlanish va yutilish jarayonlarining bog'liqligi va fizikaviy mohiyati aniqlangan. Kvant nazariyasiga muvofiq E_i va E_k energiyaga ega bo'lgan i va k statsionar darajalar o'rtasida uch ko'rinishdagi o'tishlar kuzatiladi:

- spontan ravishda qo'zg'algan darajadan past energetik holatga nurlanishli o'tish ($k \rightarrow i$);
- chastotasi ν_{ki} bo'lgan tashqi nurlanish ta'sirida majburiy ro'y beradigan quyidan yuqori energetik holatga yutilishli o'tish ($i \rightarrow k$);
- chiqarilgan nur chastotasiga mos chastotaga ega bo'lgan nurlanish ta'sirida majburiy (indutsiraviy) ro'y beradigan nurlanishli o'tish ($k \rightarrow i$).

Uzoq vaqt davomida analitik kimyoda faqat spontan nurlanishli olishdan foydalanib kelindi.

Atom-absorbsion spektroskopiyada yutilishli jarayon foydalaniladiki, bunda atom tomonidan energiya yutilishi asosiy darajada ro'y beradi. Atom-absorbsiyasini qayd etishning oqilona usuli 1955-yili Uolsh tomonidan taklif qilingan va tahlil o'tkazish qurilmasini sxemasi tavsiya etilgan. Bunday oddiy qurilma sxemasi 1-rasmda keltirilgan.

1-rasm. Ikki nurli atom-absorbsion spektrofotometr sxemasi:

1 – yorug'lik manbayi; 2 - uzgich diski; 3 - alanga; 4 - fotoelektrik yorug'lik qabul qilgichi; 5 - qayd qilish elektron sxemasi; 6 – ko'zgu.

Tahlil etilayotgan eritma aerosol ko'rinishida gorelka alangasiga purkagich yordamida kiritiladi. Shundan so'ng elementning alangadagi nurlanishi (alangali fotometriyada) emas, balki standart yorug'lik manbayi nurlanishini atomlar tomonidan yutilishi o'lchanadi. Buning uchun yutuvchi bug' qatlami tadqiq etilayotgan element yutilish chiziqlariga mos keluvchi to'lqin uzunlikdagi

monoxromatik yorug'lik dastasi bilan yoritiladi. Namuna alangada atom bug'larini hosil qiladi. Aniqlanayotgan element atomlari tushayotgan yorug'likni ular konsentratsiyasiga to'g'ri proporsional tarzda yutadi.

Yorug'lik manbai sifatida past bosimli gazorazryad lampalari taklif etilgan bo'lib, ular aniqlanayotgan elementni ingichka rezonans chizig'ini beradi. Spektral qism o'lchanayotgan element yutayotgan to'lqin uzunligini ajratish uchun mo'ljallangan prizma va difraksion panjaraga ega. Yorug'lik signali fotoko'paytirgichga kelib tushadi va galvanometrغا beriladi.

Signal spektrofotometrda avtomatik sanash qurilmasiga kelib tushadi, u esa natijalarni yutilish yoki optik zichlik birliklarida konsentratsiyani raqamli vizual qayd qilgichga beradi. Signal o'ziyozar patensiometr tomonidan qabul qilinishi mumkin.

Atom-absorbsion spektroskopiyaning ustunligi shundaki, alangada aniqlanayotgan elementni yaqqol namoyon bo'lgan rezonans chiziqli oddiy spektri olinadi. Bu esa turli elementlar rezonans chiziqlarining bir-birini qoplab ketishi oldini oladi va tadqiq etilayotgan mahsulot komponentlari o'zaro ta'sirini kamaytiradi. Bundan tashqari, absorbsion tahlilda tahlil sharoitlarini, xususan, alanga haroratini ta'siri kamaytirilgan.

Oziq-ovqat mahsulotlarining suyuq namunalaridagi elementlar konsentratsiyasini suyuq namunalarda aniqlash uchun C-115 atom-absorbsion spektrofotometri keng ishlatiladi. Uning ishi ma'lum element atomlari tomonidan yorug'lik yutilishi hodisasiga asoslangan. Spektrofotometr quyidagi ikki asosiy rejimning birida ishlaydi:

- atom-absorbsion tahlil, bu rejimda yorug'lik rezonans nurlanish manbayidan atom bug'lari qatlamini o'tadi va ular tomonidan yutiladi;
- emission tahlil, bunda nurlanish manbai namuna atom bug'lari hisoblanib, ular purkalish davomida alangada qo'zg'atiladi va ulardan yorug'lik oqimi nurlanadi.

Oxirgi rejimda konsentratsiya o'lchovi spektral chizig'ining intensivligi hisoblanadi.

C-115 spektrofotometrni funksional sxemasi:

1-o'zgartirgich; 2-logarifmator; 3-ajratuvchi kuchaytirgich; 4-dastlabki kuchaytirgich; 5-foto qabul qilgich; 6-monoxromator; 7-optik blok; 8-spektral lampa; 9-ko'zgu; 10-amortizator.

Asbobning spektral diapazoni 190-860 nm. Yo'l qo'yiladigan xatoligi $\pm 0,5$ nm. gacha. Ta'minlash 220 V, 50 Gs elektr tarmog'idan amalga oshiriladi, asbobning iste'mol quvvati esa 0,35 kV.A gacha. Asbobning o'lchamlari 1010x500x710 mm, og'irligi 140 kg.

Chet el spektrofotometrlaridan ultrabinafsha va ko'rinadigan yorug'likda tadqiqotlash uchun «Besman» firmasining (Avstriya) mikrokompyuterli DU asbobi ishlatiladi. Asbobni spektral diapazoni 140-900 nm, o'lchamlari 1150x670x470 mm. Spekrni infraqizil sohasida tadqiqotlash uchun «Besman» firmasini FT seriyadagi spektrofotometrlari va SPEN seriyadagi atom-absorbsion spektrofotometrlaridan foydalanish mumkin. 360, 370, 400 modeldagi atom-absorbsion spektrofotometrlar «Perkin-Elmer» firmasi (Angliya) tomonidan ishlab chiqariladi va 190-870 nm spektral diapazonga ega.

Ko'pgina oziq-ovqat mahsulotlarini tahlil qilish uchun ularning dastlabki quruq yoki nam usullarda kullantirish zarur bo'ladi. Bu usullar o'zining afzalliklari va kamchiliklariga ega. Nam kullantirishda namunani kuydirish uchun ishlatiladigan kislota bilan tahlil etilayotgan eritmaga qo'shimcha miqdorda mineral elementlar kiritiladiki, ular miqdoriy natijalarga ta'sir qiladi. Shuning uchun ko'pgina oziq-ovqat mahsulotlari uchun ehtiyotkorlik bilan o'tkaziladigan quruq kullantirishni qo'llash maqsadga muvofiqdir.

Namunalarni tahlilga tayyorlashda mikroelementlar organik erituvchilar yordamida ekstratsiya qilinadi. Organik erituvchilarni mikroelementlar konsentratsiyasi optimal chegaradan past bo'lganda ham qo'llash mumkin. Bundan tashqari, organik erituvchilar suvli eritmalariga nisbatan atom-absorbsion usul sezgirligini oshiradi. Shuning uchun darajalangan grafiklarni tuzishda etalon eritmalar organik erituvchilarda tayyorlanishi kerak.

Namunalarni tahlilga tayyorlashda aniqlanayotgan elementlar konsentratsiyasidan kelib chiqqan holda mahsulot namunasi miqdorini aniqlash zarur bo'ladi. Optimal konsentratsiyalarni hisoblash uchun har bir element uchun «sezgirlik» atamasi ishlatiladi. Bu atama 1 % yutilish yaratadigan suvli eritmadagi element konsentratsiyasini ko'rsatadi va mkg/ml da ifodalanadi. Oziq-ovqat mahsulotlaridagi keng tarqalgan elementlarni aniqlash sezgirligi o'zgarib turadi va bu tahlil o'tkazish sharoitiga bog'liq (2.4-jadval).

Asosiy mineral elementlarni aniqlashdagi sezgirlik

Atom-absorbsiyasi oziq-ovqat mahsulotlaridagi ko'p sonli metallarni aniqlash uchun foydalanilishi mumkin, ammo bu elementlarni tadqiq qilayotgan eritmalaridagi konsentratsiyasi 1 mkg/ml atrofida bo'lishi lozim. Bu elementlarga 2.4-jadvalda ko'rsatilganlardan tashqari kobalt, nikel, qo'rg'oshin, qalay, xrom, stronsiy, kadmiy va boshqalar ham tegishli.

Turli mahsulotlar uchun tahlil etish metodikasi bir xil bo'lib, u rezonans chizig'ini tanlash, eritmalarini goretka alangasiga kiritish va asbob ko'rsatishlarini tushirish kabi bosqichlarni qamrab oladi. Farqli tomonlari namunalarni tadqiqotga tayyorlash hisoblanadi.

4-mavzu: Biotexnologik ob'ektlardan ajratib olingan birikmalarni zamonoviy fizik-kimyoviy tahlil qilishda xromatografiyaning o'rni.

Reja:

1. Xromatografiya va xromatografik parametrlardagi asosiy tushunchalar.
2. Xromatografiyadagi asosiy tushunchalar.
3. Xromatografik parametrlar.
4. Xromatografik ajratish nazariyalari.

1. Xromatografiya va xromatografik parametrlardagi asosiy tushunchalar.

Xromatografik tahlil usullari erigan namuna va harakatsiz sorbent bilan harakatlanuvchi faza (eluent) o'rtasida sodir bo'ladigan siklik sorbsiya-desorbsiya harakatlariga asoslanadi. Murakkab aralashmalarning tarkibiy qismlari turli xil sorblikka ega va statsionar faza bo'ylab o'tib, ular turli tezliklarda va turli miqdorda so'riladi. Natijalarni keyinchalik o'rganish va ularni standart bilan taqqoslash reaktivning aniq tarkibini aniqlash imkonini beradi. An'anaviy usulda statsionar faza sifatida faollashgan sirtga ega bo'lgan material ishlatiladi va inert gaz yoki suyuqlik oqimi eluent sifatida ishlaydi. Eluentni sorbent qatlami orqali filtrlash sorbsiya va desorbsiyaning qayta-qayta takrorlanishini keltirib chiqaradi, bu esa xromatografik tahlil usullarini boshqa analitik usullardan ajratib turadi va ularning samaradorligini aniqlaydi.

Xromatografiya - gaz, suyuqlik yoki erigan moddalar aralashmasini adsorbsion usulda ajratish va analiz qilish. Xromatografiya rus botanigi M.S. Svet tomonidan 1903-yilda kashf etilgan. 1931-yilda Kun va uning shogirdlari xromatografiya yordamida tuxum sarig'idagi ksantofil, lutein va zeaksantin moddalari hamda a va rkarotinlarni ajratishdi. 1941-yilda A. Martin va R. Sing taqsimlash xromatografiyasiga asos soldi va oqsil, uglerod birikmalarini o'rganishda uning keng imkoniyatlarini ko'rsatib berdi. 1940-45 yillarda S. Mur va U. Staynlar aminokislotalarni xromatografiya usulida ajratish va miqdoriy analiz qilishga katta xissa qo'shdi. 1950-yilda Martin va Jeyms gazsuyuqlik xromatografiyasi usulini ishlab chiqdi.

Sifatli va miqdoriy tahlil. Xromatografik tahlil usullari moddaning sifat va miqdoriy tarkibini belgilaydi. Sifatli testda namuna olingan parametrlarni ma'lumotlar kutubxonasida saqlangan mos yozuvlar qiymatlari bilan solishtirish orqali uning xromatogrammasi bilan aniqlanadi.

Tahlilning miqdoriy usuli aralashmalarning konsentratsiyasiga qarab hosil bo'ladigan cho'qqilarni o'lchashga asoslangan. Laborant xromatogrammani quyidagi usullardan biri yordamida tekshiradi:

Mutlaq bitiruv usuli. Pik parametrlarining turli moddalar kontsentratsiyasiga bog'liqligi eksperimental tarzda aniqlanadi. Keyin grafiklar va jadvallar tuziladi, ular bilan keyinchalik solishtiriladi.

Oddiyligi va yuqori aniqligi tufayli usul mikroifratlarni aniqlash uchun asosiy hisoblanadi.

Ichki normalizatsiya usuli. Tanlangan pik parametrlarining yig'indisi (masalan, ularning balandligi yoki maydoni) 100% sifatida qabul qilinadi. Keyinchalik, individual o'rganilayotgan cho'qqining balandligining umumiy qiymatga nisbati hisoblab chiqiladi, buning natijasida namunadagi ma'lum bir komponentning massa ulushi aniqlanadi.

Ichki standart usuli. Aralashmaga standart modda kiritiladi, buning uchun kalibrlash egri chizig'i oldindan ma'lum. Keyin o'rganilayotgan komponentlarning cho'qqilari "standart" ning cho'qqilari bilan taqqoslanadi. Usul o'zgaruvchan, ammo tahlil qilinadigan tarkibiy qismlarning ma'lum miqdori bo'lgan kompozitsiyalarni o'rganishda qo'llaniladi.

Usullar doimiy ravishda takomillashtiriladi, bu murakkab aralashmalarni tahlil qilishda aniqroq ma'lumotlarni olish va xromatogrammalarda to'qinni tekislash imkonini beradi.

Xromatografik usullar uch asosiy turga bulinadi:

- 1) adsorbsion;
- 2) taqsimlanish;
- 3) cho'ktirish.

Adsorbsion xromatografiya asosida ajratilayotgan moddalarning tanlangan qatgiq adsorbent sirtida absorbsiyasi yotadi. Adsorbsiyani adsorbat-adsorbent tizimida molekulalararo fizikaviy Van-der-vaals kuchlari (molekular xromatografiya) yoki kimyoviy moyillik kuchlari, masalan ion almashinuvchi sorbent sirtida ajratilayotgan komponentlar ionlarining almashinishidagi reaksiya jarayonlari (ion almashinish xromatografiyasi) keltirib chikqarishi mumkin. Har ikkala xolatda ham ajralishni amalga oshirish uchun ajratilayotgan moddalar adsorbsiya energiyasida farq buo'lishi shart.

Taqsimlanish xromatografiyasishsh asosida ajratilayotgan moddalarning suyuqlikda turlicha eruvchanligi yotadi. Ularni ajratishning asosiy sharti moddalar eruvchanligidagi farqidir. Lekin ajralish jarayoni bir-biri bilan aralashmaydigan xarakatlanmaydigan (suyuq) va harakatdagi (suyuq yoki gaz) ikki faza sirt chegarasida bo'lganligi uchun ajralish jarayoni moddaning ikki faza o'rtasida taqsimlanish koefitsiyenta bilan aniqlanadi deyilsa to'g'riroq bo'ladi.

Shundan xromatografiya ushbu variantining nomi – taqsimlanish kelib chiqali. Adsorbsion xromatografiya kabi molekulalararo o'zaro ta'sir kuchlarining

tabiati ajralish jarayonini ta'minlashda asosiy omil vazifasini uynaydi. Lekin bu variantda Van-der-vaals kuchlarining o'рни birlamchidir.

Cho'ktirish xromatografiyasi asosida ajratiladigan moddalar bilan cho'ktiruvchi reaktiv o'rtasidagi reaksiya natijasida qiyin eruvchan birikmalarning xosil bo'lishi yotadi. Xromatofafiyaning har qaysi turlari ichida ularning rivojlanishi natijasida turli variant va ko'rinishlari paydo bo'ldi va bo'lmoqda. Jumladan, adsorbsion va taqsimlanish xromatografiyalarini kolonkada, kog'ozda, shisha plastinka sirtiga yotqizilgan yupqa sorbent qavatida amalga oshirish mumkin; kolonkalar turli forma va konstruksiyalarda bo'lishi mumkin. Bu omillarga bog'liq xolda xromatografiyaning turli variantlari mos ravishdagi nomlarni olgan. Masalan, kolonkali, qog'oz, yupqa qatlamli va h.k..

Harakatdagi va qo'zg'almas fazalariing agregat xolati bo'yicha klassifikatsiya. Ko'zg'almas faza agregat holati bo'yicha qattiq yoki suyuq bo'lishi mumkin, ya'ni qo'zg'almas faza sifatida adsorbsion xossani namoyon qiladigan qattiq (adsorbsion xromatografiya) yoki inert tutuvchi sirtiga yoyilgan suyuqlik (taqsimlanish xromatografiyasi) ishlatilishi mumkin.

Xarakatdagi faza esa suyuq gaz yoki bo'g' bo'lishi mumkin. Shunta ko'ra xromatografiyaning to'rtta asosiy ko'rinishini ajratish mumkin: suyuqlik-adsorbsion, gaz-adsorbsion, suyullik-suyullik va gaz-suyuqlik. Mazkur klassifikatsiya gaz xromatografiyasi bo'yicha 1956 yilda Londonda bo'lib o'tgan birinchi xalqaro simpozium tomonidan tavsiya etilgan (1-jadvaya).

1-jadval

Harakatdagi va qo'zg'almas fazalar agregat holatlari bo'yicha klassifikatsiyasi

Qo'zg'almas faza	Harakatdagi faza	O'zbekcha Nomi va qisqartma nomi	Inglisha nomi va qisqartma nomi	Imkoniy varnamlar
Qattiq - adsorbent	Suyuq	Suyuqlik-adsorbsion, SAX	Liquid-Solid, LSC	Molekular, ion almashinish, kolonkali, yupqa qavat, gradiyent-elyuyentli
Qattiq - adsorbent	Gaz (gaz-tashuvchi)	Gaz-adsorb-sion, GAX	Gas-solid, GSC	Molekular, kolonkali, xromatografiya, temperaturada dasturlash
Suyuq - Erituvchi	Suyuq	Suyuqlik-suyuqlik, SSX	Liquid-liquid, LLC	Molekular, kolonkali, qog'oz, yupqa qavat
Suyuq - erituvchi	Gaz (gaz-tashuvchi)	Gaz- suyuqlik, GSX	Gas-liquid, GLC	Molekular, kolonkali, kapillyar, xromatografiya, temperaturali dasturlash

2. Xromatografiyadagi asosiy tushunchalar

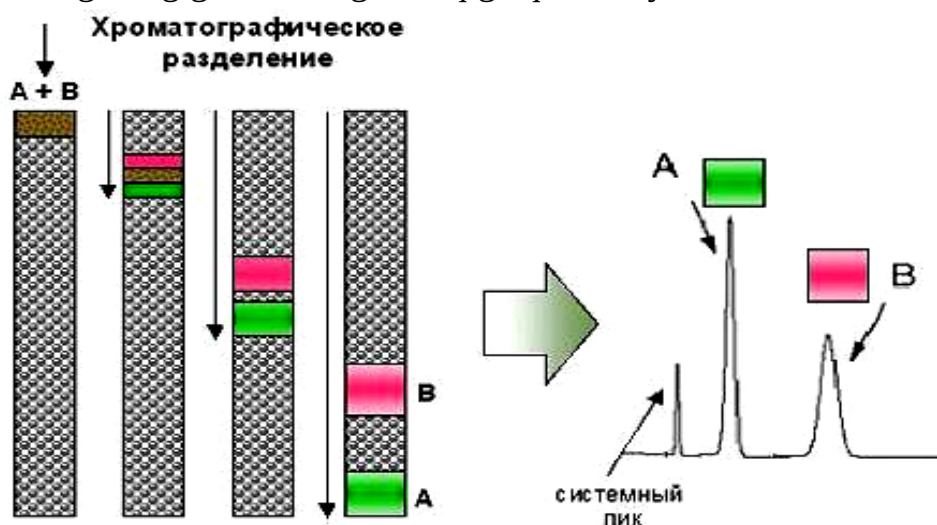
"Xromatografiya" - bu aniq elementlarni to'liq tekshirish uchun kimyoviy aralashmani uning tarkibiy qismlariga ajratish uchun ishlatiladigan analitik usul.

Xromatografiyaning turli xil turlari mavjud, masalan, gaz xromatografiyasi, suyuq ion almashinuvi xromatografiyasi, shuningdek, yaqinlik xromatografiyasi. Biroq, ularning barchasi bir xil asosiy printsiplardan foydalanadi.

Xromatografiya har bir organik kimyogar va biokimyoga ma'lum bo'lgan ajratish usulidir. O'zim organik kimyogar sifatida muntazam ravishda laboratoriyada kimyoviy moddalarning turli aralashmalarini xromatografik ajratishni amalga oshirdim. Aslida, men tadqiqot slaydlarini ko'rib chiqayotganimda, laboratoriyada amalga oshirgan haqiqiy ajratish xromatografiyasining rasmini topdim. Bu rasm ushbu post uchun ajoyib asos bo'lishi mumkin shekilli!

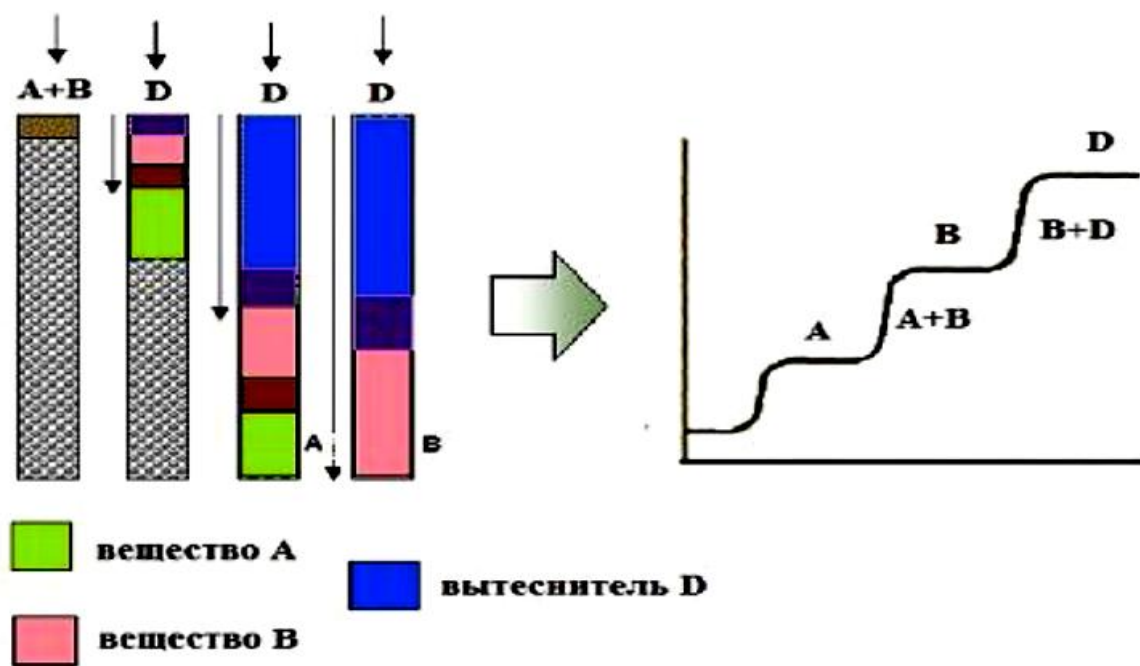
Avval bu erda nimaga erishmoqchi bo'lganimni tasvirlab beraman. Menda ikkita "A" va "B" reaksiyasi bor edi. Men ularga "C" deb nomlanuvchi mahsulotni yaratish uchun ma'lum reaksiya sharoitlariga qarab har biri bilan reaksiyaga kirishishga ruxsat berdim. Reaksiya tugagach, menda reaksiyaga kirmagan A, reaksiyaga kirmagan C va kerakli C ni o'z ichiga olgan reaksiya aralashmasi bor edi. Keyingi qadam sof C ni aniqlash va tahlil qilish uchun AC, B va A ni ajratib olish edi.

Boshida, chap qismda ko'rsatilganidek, men yupqa qatlam tahlili (TLC) plitasidan foydalanganman. Bu asosan to'rtburchaklar shisha bo'lib, u nozik qatlamli kremniy bilan qoplangan. Men reaksiya aralashmasining oz miqdorini idishning yuzasiga (cho'zilgan chiziqliq bilan belgilangan) qo'ydim va keyin plastinkani mos keladigan organik erituvchi bilan to'ldirilgan idishga joylashtirdim (bu holda, 1:1 hajmli geksan va etil asetat aralashmasi ishlatilgan) va faqat plastinkaning pastki qismini qoplash uchun etarli hajm. Keyin, kapillyar kuch bilan, eritma silika plastinkasidan yuqoriga ko'tarila boshladi va siz ko'rib turganingizdek, reaksiya aralashmasi uchta aniq nuqtaga bo'lingan. erituvchining old qismidagi belgiga etib borgan vaqtga qadar soyalar.



Ustunli (kolokali) xromatografik ajralish jarayoni

Keyin, ajratishni amalga oshirish uchun men shisha ustunni birlashtirdim (tasvirning o'ng tomonida ko'rsatilganidek). Men pastki qismida biriktirilgan klapanli shisha asosli ustun yasadim, so'ngra ustunning tagiga elastomer vilkasini joylashtirdim va uni silika Gelidan (organik erituvchi ishtirokida tayyorlangan) aralashma bilan to'ldirdim. Ustun to'ldirilgandan so'ng va to'shak ustidagi erituvchining hajmi bir vaqtning o'zida besh millimetrga kamaytirilgandan so'ng, men shisha pipetka yordamida ustunning yuqori qismidagi kremniy dioksidi bilan to'ldirilgan to'shakka ehtiyotkorlik bilan quydim. Men kranni yopdim, keyin suyuqlikning ustun orqali sekin oqishiga yo'l qo'ydim. Men doimiy ravishda ustunning yuqoridan pastga qarab erituvchi qo'shdim.



Birikmalarni xromatografik ajralishi.

Ko'rib turganingizdek, reaksiya aralashmasi 3 ta alohida bandga bo'linishni boshladi: to'q sariq, pushti va sariq, reaksiyaga kirishmagan B reaksiyaga kirmagan A va C, bu men o'z navbatida kerakli mahsulotdir. Men alohida tasmlarni alohida kolbalarga ajratdim va sof C ni olishga qodir edim!

Xromatografiya printsiplari

- Xromatografiya printsiipi aralashmaning tarkibiy qismlarini statsionar faza va harakatlanuvchi faza bilan o'zaro ta'siri asosida ajratishni o'z ichiga oladi. Xromatografiyada tahlil qilinayotgan modda yoki aralash suyuqlik yoki gazsimon harakatlanuvchi faza bilan birlashtirilib, statsionar faza orqali pompalanadi.
- Statsionar faza va mobil faza odatda qarama-qarshi xususiyatlarga ega bo'lishi uchun mo'ljallangan, ulardan biri hidrofil (suvga yaqinlik), ikkinchisi esa lipofil (qutbsiz moddalarga yaqinlik). Tahlil qiluvchi moddaning tarkibiy qismlari bu fazalar bilan ularning qutbliligiga qarab turlicha o'zaro ta'sir qiladi. Polaritesi yuqori bo'lgan komponentlar statsionar faza bilan o'zaro ta'sir qilish uchun ko'proq

vaqt sarflaydi va shuning uchun ko'proq sekinroq bo'ladi, pastroq polariteli komponentlar esa kamroq o'zaro ta'sir qiladi va kamroq kechiktiriladi.

- Ko'chma faza tahlil qiluvchi moddani statsionar faza orqali o'tkazganligi sababli, aralashmaning turli komponentlari bir-biridan ajralib turadi. Har bir komponent statsionar fazani ushlab turish vaqti deb ataladigan ma'lum bir vaqtda chiqaradi yoki undan chiqadi. Ajratish tarkibiy qismlarning statsionar va mobil fazalar bilan o'zgaruvchan o'zaro ta'siri va yaqinligiga asoslanadi.

- Xromatografik jarayon davomida elutsiya qilingan komponentlar ularning signallari qayd qilinadigan detektordan o'tadi. Keyinchalik bu signallar xromatogramma yaratish uchun chiziladi, bu ajratishning vizual tasvirini ta'minlaydi va namunada mavjud bo'lgan turli komponentlarni aniqlash va miqdorni aniqlashga yordam beradi.

- Xromatografiyada ajratishga adsorbsiya (suyuqlik-suyuqlik o'zaro ta'siri), bo'linish (suyuqlik-suyuqlik o'zaro ta'siri) va molekulyar og'irliklardagi farqlar kabi omillar ta'sir qiladi. Bu omillar statsionar faza, harakatlanuvchi faza va aralashmadagi moddalar o'rtasidagi o'ziga xos o'zaro ta'sirlarni aniqlaydi, bu esa molekulalarning bir-biridan ajralishiga olib keladi.

Xulosa qilib aytganda, xromatografiya statsionar faza va harakatlanuvchi faza bilan komponentlarning differentsial o'zaro ta'siri va yaqinliklaridan foydalanish orqali ishlaydi. Ushbu ajratish texnikasi aralashmaning tarkibiy qismlarini ajratish va tahlil qilish uchun adsorbsiya, bo'linish va molekulyar xususiyatlar tamoyillariga tayanadi.

3. Xromatografik parametrlar.

Xromatografiya ushbu ajratish usulining tamoyillari va usullarini tushunish uchun muhim bo'lgan turli atamalar va tushunchalarni o'z ichiga oladi. Xromatografiyaning ba'zi asosiy atamalari:

Asosiy atama	Tushunchalar
Analit	Xromatografiya paytida ajratiladigan modda.
Analitik xromatografiya	Namunadagi tahlil qiluvchi moddalarning mavjudligi va kontsentratsiyasini aniqlash uchun xromatografiyadan foydalanish.
Bog'langan faza	Zarrachalarni yoki ustun quvurlarining ichki devorini qo'llab-quvvatlash uchun kovalent bog'langan statsionar faza.
Xromatogramma	Xromatografning vizual chiqishi, aralashmaning turli qismlariga mos keladigan tepaliklar yoki naqshlarni ko'rsatadi.
Xromatograf	Gaz xromatografiyasi yoki suyuqlik xromatografiyasi kabi xromatografik ajratish imkonini beruvchi asbob.
Kromatografi	Statsionar faza va mobil faza o'rtasida tarkibiy qismlarni taqsimlovchi jismoniy ajratish usuli.
Eluent	Elutsiya xromatografiyasida ishlatiladigan erituvchi yoki erituvchi aralashmasi, mobil faza bilan sinonimdir.
Eluat	Elyusiya xromatografiyasida kolonnadan chiqadigan eritma va erituvchi aralashmasi.
Oqimli	Xromatografik ustundan oqib chiqadigan oqim ko'pincha elyuat bilan

	almashtiriladi.
Eluit	Xromatografik ustundan chiqadigan namuna komponentiga ishora qiluvchi erigan yoki analit uchun aniqroq atama.
Eluotropik seriyalar	Xromatografiyada elutivlik kuchi bo'yicha tartiblangan erituvchilar ro'yxati.
Immobilizatsiyalangan faza	Qo'llab-quvvatlash zarralari yoki ustun trubasining ichki devoriga o'rnatilgan statsionar faza.
Mobil bosqich	Xromatografiya tizimi bo'ylab harakatlanadigan, ajratilayotgan namunani olib yuradigan faza.
Tayyorlovchi xromatografiya	Xromatografiyani tahlil qilish uchun emas, balki keyingi foydalanish uchun ko'proq miqdordagi moddani tozalash uchun ishlatish.
Saqlash vaqti	Belgilangan sharoitlarda ma'lum bir tahlil qiluvchining tizimdan ustun kirish joyidan detektorgacha o'tishi uchun ketadigan vaqt.
namuna	Xromatografiyada tahlil qilinadigan modda, u bitta komponent yoki komponentlar aralashmasi bo'lishi mumkin.
Eritilgan	Bo'linish xromatografiyasida namuna komponentlari.
Hal qiluvchi	Boshqa moddani eritishga qodir modda; xromatografiyada u suyuq harakatlanuvchi fazaga ishora qiladi.
Statsionar bosqich	Yupqa qatlamli xromatografiyadagi silika qatlami kabi xromatografiya protsedurasi uchun o'rnatilgan modda.
Detektor	Analitlarni ajratishdan keyin sifat va miqdoriy aniqlash uchun ishlatiladigan asbob.

Ushbu jadvalda xromatografiya bilan bog'liq asosiy atamalarning qisqacha ko'rinishi keltirilgan.

Ushbu atamalar va tushunchalar xromatografiya tamoyillari, usullari va natijalarini tushunish va muhokama qilish uchun asos bo'lib xizmat qiladi.

4. Xromatografik ajratish nazariyalari.

1. Ustunli xromatografiya

Ustunli xromatografiya biomolekulalarni, xususan, oqsillarni ularning hajmi, shakli, aniq zaryadi, qo'llaniladigan statsionar fazasi va bog'lanish qobiliyati kabi xarakterli xususiyatlariga asoslanib tozalash uchun keng qo'llaniladigan usuldir. U adsorbsion xromatografiya toifasiga kiradi, bunda ajratish komponentlarning statsionar fazaga differentsial adsorbsiyasi orqali erishiladi.

Ustun xromatografiyasida ustun statsionar fazali material bilan o'ralgan bo'lib, ko'pincha kremniy yoki qatron boncuklari kabi mustahkam tayanchdir. Ajratish uchun namuna ustunning yuqori qismiga qo'llaniladi, so'ngra mobil faza yoki yuvish buferi qo'shiladi. Suyuqlik bo'lishi mumkin bo'lgan mobil faza ustun bo'ylab oqadi, u bilan birga namunaning tarkibiy qismlarini olib yuradi.

Ko'chma faza ustun materiali bo'ylab harakatlanar ekan, namunaning turli komponentlari statsionar faza bilan turlicha o'zaro ta'sir qiladi. Statsionar faza bilan kuchliroq o'zaro ta'sirga ega bo'lgan komponentlar yanada qattiqroq bog'lanadi va

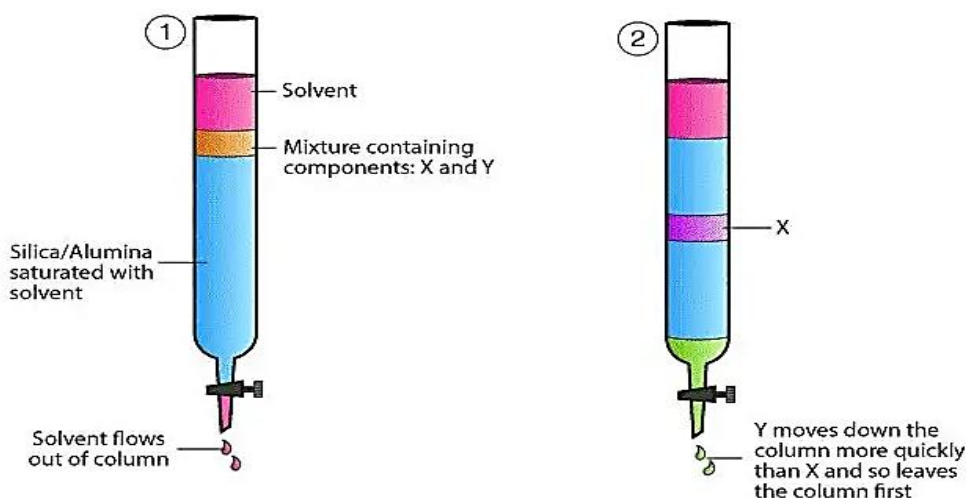
ustundan sekinroq tezlikda elutsiyalanadi, zaifroq o'zaro ta'sirga ega bo'lgan komponentlar esa tezroq elute bo'ladi.

Namunalar ustun materiali bo'ylab o'tadi va vaqt va hajmga bog'liq holda ustunning pastki qismida to'planadi. Ushbu to'planish kerakli biomolekulalarni o'ziga xos xususiyatlariga qarab ajratish va tozalash imkonini beradi.

Statsionar faza materialini va mobil faza tarkibini tanlash tozalanayotgan biomolekulalarning xususiyatlariga bog'liq. Statsionar faza materiali adsorbsiya uchun sirtini ta'minlaydi, mobil faza esa namuna komponentlari uchun tashuvchi sifatida ishlaydi.

Ustunli xromatografiya har xil turdagi biomolekulalarga qo'llanilishi mumkin bo'lgan ko'p qirrali texnikadir va biotexnologiya va farmatsevtika sanoatida keng ko'lamli tozalash uchun ayniqsa qimmatlidir. Bu murakkab aralashmalardan o'ziga xos biomolekulalarni ajratish imkonini beradi va sof va yuqori sifatli biomolekulyar namunalarni ishlab chiqarishda hal qiluvchi rol o'ynaydi.

Umuman olganda, ustun xromatografiyasi adsorbsion xromatografiyaning bir shakli sifatida biomolekulalarni o'ziga xos xususiyatlariga ko'ra tozalash va ajratish uchun kuchli vosita bo'lib, turli fan va sanoat sohalarida yutuqlarga hissa qo'shadi.



Adsorbsion xromatografiya

2. Ion almashinadigan xromatografiya

Ion almashinadigan xromatografiya - bu zaryadlangan oqsil guruhlari va matritsa deb nomlanuvchi qattiq qo'llab-quvvatlovchi material o'rtasidagi elektrostatik o'zaro ta'sirlardan foydalanadigan xromatografik usul. Matritsa ajratilishi kerak bo'lgan oqsillarning zaryadiga qarama-qarshi bo'lgan ion yukiga ega bo'lib, matritsa va oqsillar o'rtasida ionli aloqalar hosil bo'lishiga imkon beradi.

Ion almashinadigan xromatografiyada matritsa maqsadli oqsillar turiga qarab musbat yoki manfiy zaryadlangan bo'lishi mumkin. Agar matritsa musbat

zaryadlangan bo'lsa, u anion almashinadigan matritsa deb ataladi va u manfiy zaryadlangan oqsillarni adsorbsiyalaydi. Boshqa tomondan, agar matritsa manfiy zaryadlangan guruhlar bilan bog'langan bo'lsa, u kation almashinadigan matritsa deb ataladi va u musbat zaryadlangan oqsillarni adsorbsiya qiladi.

Ion almashinadigan xromatografiya yordamida oqsillarni ajratish uchun oqsillarni o'z ichiga olgan namuna aralashmasi tegishli ion almashinadigan matritsa bilan o'ralgan ustunga qo'llaniladi. Zaryadlari matritsaga qarama-qarshi bo'lgan oqsillar elektrostatik o'zaro ta'sirlar orqali matritsaga bog'lanadi. Ushbu bog'lanish maqsadli oqsillarni aralashmaning boshqa tarkibiy qismlaridan ajratish imkonini beradi.

Bog'langan oqsillarni ion almashinadigan ustundan tozalash yoki chiqarish bufer eritmasining shartlarini o'zgartirish orqali amalga oshiriladi. Buni pH ni, ion tuzlari konsentratsiyasini yoki bufer eritmaning ion kuchini o'zgartirish orqali amalga oshirish mumkin. Ushbu parametrlarni sozlash orqali oqsillar va matritsa o'rtasidagi elektrostatik o'zaro ta'sirlar buzilishi mumkin, bu esa qiziqish oqsillarini chiqarishga olib keladi.

Ion almashinadigan xromatografiya oqsillarni zaryad xususiyatlariga ko'ra ajratishning yuqori selektiv usulini ta'minlaydi. U odatda oqsillarni tozalash jarayonlarida qo'llaniladi, chunki u murakkab aralashmalardan o'ziga xos zaryad xususiyatlariga ega oqsillarni ajratish va tozalash imkonini beradi. Ushbu uslub turli sohalarda, jumladan biokimyo, biotexnologiya va farmatsevtika tadqiqotlarida hal qiluvchi rol o'ynaydi.

Xulosa qilib aytganda, ion almashinadigan xromatografiya zaryadlangan oqsil guruhlarini va qarama-qarshi zaryadli matritsa o'rtasidagi elektrostatik o'zaro ta'sirga tayanadi. Ushbu o'zaro ta'sirlardan foydalangan holda, oqsillarni tanlab adsorbsiyalash va keyinchalik bufer sharoitlarini o'zgartirish orqali elutsiya qilish mumkin. Ushbu texnika oqsillarni zaryadlash xususiyatlariga ko'ra ajratish va tozalash uchun qimmatli vositani taklif qiladi.

3. Gel-o'tkazuvchanlik xromatografiyas

Gel-o'tkazuvchanlik xromatografiyasi, shuningdek, molekulyar elak xromatografiyasi sifatida ham tanilgan, makromolekulalarni molekulyar o'lchamlardagi farqlarga qarab ajratish uchun ishlatiladigan usul. Odatda oqsillarning molekulyar og'irligini aniqlash va oqsil eritmalarida tuz konsentratsiyasini kamaytirish uchun ishlatiladi.

Gel-o'tkazuvchanlik xromatografiyasida ustun kichik g'ovaklarga ega bo'lgan inert molekulalardan tashkil topgan statsionar faza bilan o'ralgan. Turli o'lchamdagi molekulalarni o'z ichiga olgan eritma doimiy oqim tezligida ustun orqali doimiy ravishda o'tkaziladi. Teshiklarga kirish uchun juda katta bo'lgan

kattaroq molekulalar cheklangan hududdagi zarrachalar orasida ushlanib qoladi va saqlanadi. Bu molekulalar kattaligi tufayli ustun bo'ylab sekinroq harakatlanadi.

Boshqa tomondan, kichikroq molekulalar statsionar faza materialining teshiklariga tarqalishi mumkin. Molekulalarning kattaligi kamayishi bilan ular g'ovakli tuzilishga chuqurroq kirib borishi mumkin. Binobarin, kichikroq molekulalarning ushlab turish muddati qisqaroq va ustundan tezroq o'tadi.

Gel-o'tkazuvchanlik xromatografiyasi uchun eng ko'p ishlatiladigan ustun material dekstrandan tashkil topgan Sephadex G hisoblanadi. Bundan tashqari, agaroz va poliakrilamid kabi materiallar ustun materiallari sifatida ishlatilishi mumkin.

Gel-o'tkazuvchanlik xromatografiyasi oqsillarning molekulyar og'irligini aniqlash va makromolekulalarni ularning o'lchamlari farqiga qarab ajratish uchun qimmatli texnikani taqdim etadi. Bu biokimyo, biotexnologiya va farmatsevtika fanlari kabi turli tadqiqot sohalarida biomolekulalarni tavsiflash va tozalash imkonini beradi.

4. Qog'oz xromatografiyasi

Qog'oz xromatografiyasi - qo'llab-quvvatlovchi material sifatida tsellyuloza bilan to'yingan qog'oz qatlamidan foydalanadigan xromatografik texnikaning bir turi. Ushbu usulda statsionar faza filtr qog'ozining teshiklarida joylashgan suv qatlami, mobil faza esa rivojlanayotgan tankga joylashtirilgan mos suyuqlikdir.

Qog'oz xromatografiyasi jarayoni aralashmaning tarkibiy qismlarini statsionar va harakatlanuvchi fazalarga differensial yaqinliklari asosida ajratishni o'z ichiga oladi. Tsellyuloza qog'ozi suv bilan to'yinganligi sababli, u namuna komponentlari o'zaro ta'sir qiladigan statsionar "suyuq faza" vazifasini bajaradi.

Qog'oz xromatografiyasini o'tkazish uchun qog'ozga konsentrlangan nuqta sifatida namuna aralashmasining kichik joyi qo'llaniladi. Keyin qog'oz harakatlanuvchi fazani o'z ichiga olgan rivojlanayotgan idishga joylashtiriladi, bu esa qog'ozni kapillyar ta'sir orqali yuqoriga ko'chirishga imkon beradi. Mobil faza harakatlanar ekan, u o'zi bilan birga namuna komponentlarini olib yuradi.

Migratsiya jarayonida namuna aralashmasidagi komponentlar tsellyuloza qog'ozi va mobil faza bilan turlicha o'zaro ta'sir qiladi. Ba'zi komponentlar statsionar fazaga kuchliroq yaqinlikka ega bo'lishi mumkin va sekinroq harakat qiladi, boshqalari esa zaifroq yaqinlikka ega va tezroq harakat qiladi.

Mobil faza qog'ozni yuqoriga ko'chirishda davom etar ekan, namunaning turli komponentlari ajralib chiqadi va qog'ozning turli pozitsiyalarida aniq chiziqlar yoki dog'lar hosil qiladi. Har bir komponentning qog'ozdagi joylashuvi uning statsionar fazaga yaqinligi va mobil faza tomonidan o'tkazish tezligi bilan belgilanadi.

Migratsiya tugagandan so'ng, qog'oz rivojlanayotgan tankdan chiqariladi va quritishga ruxsat beriladi. Ajratilgan komponentlar keyinchalik ultrabinafsha nurlanishi, binoni yoki kimyoviy reagentlar bilan püskürtülmesi kabi tegishli aniqlash usullarini qo'llash orqali ko'rinishi mumkin. Xromatogramma deb nomlanuvchi qog'ozdagi dog'lar yoki tasmalar paydo bo'lgan naqsh namuna aralashmasining tarkibi haqida ma'lumot beradi.

Qog'oz xromatografiyasi oddiy va arzon usul bo'lib, odatda o'simlik pigmentlari, aminokislotalar va kichik molekulalar kabi organik birikmalarni sifatli tahlil qilish va ajratish uchun ishlatiladi. U biokimyo, sud tibbiyoti va atrof-muhit tahlili kabi sohalarda keng qo'llaniladi, bu erda tez va ko'chma ajratish usullari talab qilinadi.

Xulosa qilib aytganda, qog'oz xromatografiyasi statsionar faza sifatida tsellyuloza bilan to'yingan qog'oz va mobil faza sifatida mos suyuqlik yordamida aralashmaning tarkibiy qismlarini ajratishni o'z ichiga oladi. Kapillyar ta'sir orqali mobil faza qog'ozni yuqoriga ko'chiradi, namuna komponentlarini birga olib yuradi va ularning statsionar va mobil fazalarga yaqinligiga qarab ajralib chiqishiga olib keladi. Qog'oz xromatografiyasi sifatli tahlil qilish uchun keng qo'llaniladigan usul bo'lib, oddiylik, iqtisodiy samaradorlik va ko'chmalik muhim ahamiyatga ega bo'lgan holatlarda ayniqsa foydalidir.

5-mavzu: Biologik faol birikmalarni tahlil qilishda Gaz xromatografiyasining umumiy xususiyatlari.

Reja:

1. Gaz xromatografiyaning umumiy xususiyatlari.
2. Namuna quyish tizimlari.
3. Xromatografik kolonkalar.
4. Adsorbentlar.
5. Gaz-suyuqlik xromatografiyasida qattiq tashuvchilar.
6. Statsionar suyuqlik fazalari.
7. Harakatlanadigan fazalar.
8. Detektor tizimlari.
9. Sifatli va miqdoriy tahlil.
10. Muvozanatning bug'-gaz fazasini tahlil qilish.

1. Gaz xromatografiyaning umumiy xususiyatlari.

Analitik amaliyotda ko'pincha gaz-suyuqlik xromatografiyasi usuli qo'llaniladi. Bu suyuqlikning statsionar fazalarining g'ayrioddiy xilma-xilligi bilan bog'liq. Gaz-suyuqlik xromatografiyasida statsionar faza kolonka haroratida amalda uchuvchan bo'lmagan va qattiq tayanchga qo'llaniladigan

suyuqlikdir. Suyuq fazaning miqdori qattiq tashuvchining og'irligi bo'yicha 5-30% ni tashkil qiladi.

Suyuq fazaga bir qator qat'iy talablar qo'yiladi:

1) aralashmaning tarkibiy qismlarini yaxshi eritish qobiliyati (agar eruvchanlik past bo'lsa, komponentlar ustunni juda tez tark etadi); 2) aralashmaning tarkibiy qismlariga va qattiq tashuvchiga nisbatan inertlik; 3) past uchuvchanlik (ustunning ish haroratida bug'lanib ketmaslik uchun); 4) issiqlik barqarorligi; 5) yetarlicha yuqori selektivlik, ya'ni komponentlar aralashmasini ajratish qobiliyati; 6) past yopishqoqlik (aks holda diffuziya jarayoni sekinlashadi); 7) tashuvchiga qo'llanilganda, unga mahkam bog'langan bir xil plyonka hosil qilish qobiliyati.

Suyuq fazaning tabiati komponentlarning ustundan chiqish ketma-ketligini belgilaydigan asosiy omil hisoblanadi. Suyuq fazalar sifatida qutbsiz parafinlar (masalan, skvalan, vazelin moyi, apiezonlar), o'rtacha qutbli (murakkab efirlar, nitrillar va boshqalar) va qutbli (polietilenglikollar yoki karbovaks, gidroksilaminlar va boshqalar) ishlatiladi.

Har bir suyuqlik fazasi qo'llash harorat oralig'iga ega. Pastki harorat chegarasi suyuqlik fazasining qattiqlashishiga mos keladigan minimal ish haroratidir. Odatda, ustunning minimal ish harorati suyuq fazaning quyilish nuqtasidan $10-15^{\circ}\text{C}$ gacha tanlanadi. Yuqori harorat chegarasi suyuqlik fazasining maksimal ruxsat etilgan ish harorati (MDPT) bo'lib, ustundan olib ketilgan uchuvchi birikmalar hosil bo'lishi bilan undan yuqorida u yiqila boshlaydi. Suyuq fazalarni tahlil qilish uchun ishlatish amaliyoti shuni ko'rsatadiki, ular bilan suyuqlik fazasining MDPT dan $20-30^{\circ}\text{C}$ past haroratlarda ishlash kerak. Gaz-suyuqlik xromatografiyasida foydalanishning eng yuqori harorat diapazoni organosilikon polimerlarga ega, masalan, metil silikonlar - xona haroratidagi suyuqliklar va ularning MDPT si $300-350^{\circ}\text{C}$ ga etadi. Termik jihatdan eng barqaror suyuqlik fazalari bor, kremniy va uglerod atomlarini o'z ichiga olgan karboran-siloksan polimerlaridir. Ushbu birikmalarning MDRT 400°C ga etadi.

Qattiq tashuvchi odatda statsionar suyuqlik qo'llaniladigan sezilarli darajada inert qattiq moddadir. Xromatografik ustundagi qattiq tayanchning asosiy maqsadi suyuqlik fazasini uning yuzasida bir xil plyonka shaklida ushlab turishdir. Shu munosabat bilan, qattiq qo'llab-quvvatlash sezilarli o'ziga xos sirt maydoniga ($0,5-10\text{ m}^2/\text{g}$) ega bo'lishi kerak va namunaviy komponentlarning adsorbsiyasini oldini olish uchun u makro g'ovakli bo'lishi kerak. Bundan tashqari, qattiq tayanch quyidagi xususiyatlarga ega bo'lishi kerak: katalitik faollikning yo'qligi, yetarli mexanik kuch, yuqori haroratda barqarorlik, o'lchamdagi teshiklarning bir xilligi va donalar hajmining maksimal bir xilligi. Biroq, bugungi

kunga qadar barcha sanab o'tilgan talablarni qondiradigan universal tashuvchi yaratilmagan.

Gaz-suyuqlik xromatografiyasida qattiq tashuvchilar sifatida diatomitlar (diatomli tuproq, infuzorit tuproq), sintetik kremniy oksidlari (makropozli silikagellar, keng g'ovakli shishalar, aerosilogellar), politetrafloroetilen asosidagi polimer tashuvchilar va boshqalar ishlatiladi. Ko'pincha "suyuqlik" fazaga kovalent bog'langan modifikatsiyalangan tashuvchilar qo'llaniladi. Bunday holda, statsionar suyuqlik fazasi eng yuqori ustun haroratida ham sirtida mustahkamroq saqlanadi. Kimyoviy bog'langan statsionar faza samaraliroq.

2. Namuna quyish tizimlari.

Gaz xromatografik tahlillarini o'tkazish uchun maxsus qurilmalar - gaz xromatograflari qo'llaniladi.

Gaz analitik (laboratoriya) xromatograflar o'rganilayotgan aralashmalarni ajratish va tahlil qilish uchun mo'ljallangan. Bular XL-3, LXM-8MD, LXM-80 markali xromatograflar, "Tsvet-100" umumiy nomi bilan birlashtirilgan laboratoriya xromatograflari modellari. Hozirgi vaqtda "Rang-500", "Rang-500M", "Rang-2000", "Milichrom AO2" seriyali analitik gaz xromatograflari .

Analitikdan tashqari ikkita turdagi **sanoat xromatograflari** mavjud: avtomatik - ishlab chiqarish jarayonlarini kuzatish uchun (XTP-63, XPA-4, XP-499) va preparativ - toza moddalarni olish uchun (Etalon-1).

Sanoat gaz xromatograflari laboratoriyadan namunalarni avtomatik kiritish moslamasi, shuningdek, qurilmaning chiqish signalini operatorga taqdim etish uchun qulay shaklga aylantiruvchi qurilma mavjudligi bilan farqlanadi. Sanoat xromatograflari ikkita mustaqil blok shaklida tayyorlanadi, ulardan biri namuna olish punkti yaqinidagi ishlab chiqarish maydoniga o'rnatiladi. Ikkinchi blok boshqaruv panelidagi birinchi blokdan katta masofada joylashgan bo'lishi mumkin.

Sanoat xromatograflari izolyatsiyalash va tozalash jarayonlarini boshqarish uchun (masalan, yengil benzin, sintetik kauchuk, etil spirti ishlab chiqarishda), polimerizatsiya, piroliz, turli mahsulotlar sintezi (masalan, formalin sintezi, ammiak, etilen oksidi), sanoat korxonalari havosidagi zaharli moddalarni nazorat qilish uchun va boshqalar.

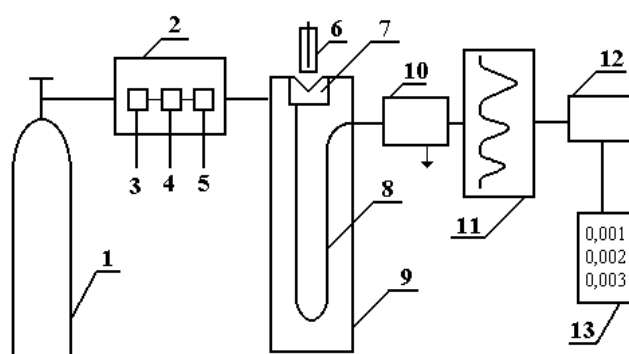
Hozirgi vaqtda sanoat gaz xromatograflari kimyo va neft-kimyo korxonalarining texnologik jarayonlarini nazorat qilish va tartibga solishning asosiy texnik vositasi sifatida universal e'tirofga sazovor bo'ldi.

3. Xromatografik kolonkalar.

Zamonaviy gaz xromatografi quyidagi asosiy qismlardan iborat (1.5-rasm):

1. Xromatografik tahlil uchun namuna tayyorlash qurilmasi (boyitish, konsentratsiya, piroliz).

2. Gazni tozalash, gaz oqimi tezligi yoki bosimni sozlash, gaz oqimi tezligini o'lchashni o'z ichiga olgan gaz silindri va tashuvchi gazni tayyorlash moslamasi.
3. Namuna kiritish va uni bug'lash uchun qurilma - dozlash-evaporatator.
4. Kerakli haroratni tartibga soluvchi va uni o'lchaydigan xromatografik ustun va ustunli termostatni o'z ichiga olgan analizator bloki.
5. Komponentlar tarkibidagi o'zgarishlarni elektr signaliga aylantiruvchi detektor.
6. Xromatografik tahlil natijalarini qayd qiluvchi registrator.
7. Tepalik maydoni va undan chiqish vaqtini avtomatik ravishda aniqlaydigan elektron integrator; raqamli bosib chiqarish qurilmasi, display.



. 1.5- Rasm. Gaz xromatografining blok diagrammasi

1 - siqilgan gaz silindri; 2 - tashuvchi gaz tayyorlash qurilmasi; 3 - gaz oqimi regulyatori; 4 - gaz sarfini o'lchagich; 5 - filtr; 6 - namunani kiritish uchun mikroshprits; 7 – bug'latgich; 8 - xromatografik kolonka; 9 - termostat; 10 - detektor; 11 – yozuvchi qurilma; 12 - integrator; 13 - raqamli bosib chiqarish qurilmasi

Gaz xromatografining asosiy tarkibiy qismlaridan biri dozator bo'lib, aniq miqdoriy namuna olish va uni xromatografik kolonkaga kiritish uchun mo'ljallangan. Har bir xromatografda to'g'ridan-to'g'ri xromatografik kolonkaning kirish qismida dozator-bug'latgich o'rnatiladi. Bu xromatografik ustunning boshiga ulangan va o'z-o'zidan yopilgan issiqlikka chidamli kauchuk membrana bilan jihozlangan kichik idish.

Pipetka suyuqlik namunasining to'liq va tez bug'lanishi sodir bo'ladigan haroratda saqlanishi kerak. Suyuq namuna mikroshprits bilan chiqariladi va gazsimon namunalar ko'pincha tibbiy shprits bilan ukol qilinadi. Ajratilgan komponentlarning kontsentratsiyasi va soniga qarab, ukol qilingan gazsimon namunaning hajmi 1 dan 10 ml gacha, suyuqlik namunasining hajmi esa 0,1 dan 10 mkl gacha.

Tashuvchi gaz bilan birga kiritilgan bug 'namunasi kolonnaga kiradi va u yerda sorbsiyalanadi.

Xromatografik kolonkalar turli shakllarda, o'lchamlarda va materiallarda bo'ladi. Eng keng tarqalganlari, uzunligi 2 milyadan bir necha o'n metrgacha bo'lgan spiral, U va W shaklidagi kolonkalardir. Kolonkalarining ichki diametrlari odatda 3 dan 6 mm gacha. Kolonkalarlar zanglamaydigan po'latdan, mis, guruch, shishadan yasalgan. Kolonkalar materiali namunaning tarkibiy qismlari kimyoviy jihatdan inert bo'lishi kerak.

Harorat gazning sorbsiya qobiliyatiga katta ta'sir ko'rsatadi, shuning uchun xromatografik kolonkalar, qoida tariqasida, termostatlanadi. Odatda, termostatni xona haroratidan sezilarli darajada yuqori haroratlarda amalga oshiriladi, ammo ba'zi hollarda past qaynaydigan gazlarni ajratish paytida 0 ° C dan past haroratlar hosil bo'ladi.

Detektor kolonkadan o'tgan gaz tarkibidagi o'zgarishlarni aniqlash uchun mo'ljallangan. Ikkinchidan xromatografik kolonkadan chiqish joyidagi komponentlarning kontsentratsiyasini doimiy ravishda o'lchaydi va konsentratsiyani yozuvchi qurilma tomonidan qayd qilinadigan elektr signaliga aylantiradi.

4. Adsorbentlar.

Eng keng tarqalgan detektorlardan biri katarometrdir. Uning ishlash prinsipi kir yuvish gazining issiqlik o'tkazuvchanligiga bog'liq bo'lgan qizdirilgan volfram filamentining qarshiligini o'lchashga asoslangan. Doimiy sharoitda qizdirilgan filamentdan olinadigan issiqlik miqdori gazning tarkibiga bog'liq. Tashuvchi gazning issiqlik o'tkazuvchanligi qanchalik yuqori bo'lsa, katarometr shunchalik sezgir bo'ladi. Shu nuqtai nazardan eng mos keladigan gaz tashuvchisi vodorod bo'lib, uning issiqlik o'tkazuvchanligi ko'pchilik boshqa gazlarning tegishli xarakteristikasidan sezilarli darajada oshadi. Biroq, xavfsizlik nuqtai nazaridan, geliy ko'proq ishlatiladi, uning issiqlik o'tkazuvchanligi ham ancha yuqori. Katarometrning afzalliklari oddiylik, yetarli aniqlik va ishlashda ishonchlilikdir. Biroq, sezgirligi past bo'lganligi sababli, u iz aralashmalarini aniqlash uchun ishlatilmaydi.

Eng sezgir ionlanish detektorlari, masalan, 10^{-12} g gacha aniqlash imkonini beruvchi olov ionizatsiyasi. Ushbu detektorlar vodorod yondirgich alangasining elektr o'tkazuvchanligini o'lchaydi. Vodorod alangasida organik birikmalar aralashmalari paydo bo'lganda, osonlik bilan o'lchash mumkin bo'lgan nopoklik konsentratsiyasiga mutanosib ravishda olovning ionlanishi sodir bo'ladi. Bu detektorning kamchiligi shundaki, u faqat organik moddalarni tahlil qilish uchun qo'llaniladi va ammiak, vodorod sulfidi, kislorod, azot, oltingugurt oksidi, uglerod

oksidi va boshqalar kabi noorganik moddalar uchun detektorning sezgirliги keskin pasayadi.

5.1-jadval

Xromatografik detektorlarning qiyosiy tavsiflari

Detektor	Aniqlash chegarasi	Detektorning chiziqlilik diapozoni
Katarometr	10^{-12} g / ml	10^5
Olovning ionlanishi	10^{-12} g / s	10^7
Elektron suratga olish	10^{-14} g / ml	10^4
Termoionik	10^{-15} g / s	10^3
Q spektrometri	> 1 mkg	10^3
Mass-spektrometr	$10^{-14} - 10^{-12}$ g	10^4

Argon detektori juda yuqori sezuvchanlikka ega bo'lib, unda analit molekulalarining metastabil argon atomlari bilan to'qnashuvi natijasida ionlanish radioaktiv β -nurlanish ta'sirida hosil bo'ladi.

Termoionik detektorda ishqoriy metall tuzlari yondirgich alangasiga kiritiladi. Fosfor birikmalari bunday olovga kirganda, fosfor atomlarining tarkibiga mutanosib ravishda ionli oqim paydo bo'ladi. Bu yuqori sezgirlikdagi selektiv fosfor detektori.

Boshqa turdagi detektorlar ma'lum: termokimyoviy, olovli fotometrik, mikrokulometrik, ultratovushli va boshqalar.

5. Gaz-suyuqlik xromatografiyasida qattiq tashuvchilar.

Saqlash hajmi va ushlab turish vaqti tajribaning ma'lum sharoitlarida xromatografiya qilingan moddalarning sifat ko'rsatkichlari hisoblanadi. Sifatli tahlil ushbu qiymatlarni o'lchash va taqqoslashga asoslanadi. Saqlash xususiyatlariga asoslangan bir nechta identifikatsiyalash usullari mavjud.

1. Shaxsiy mos yozuvlar moddalarni qo'llash. Ushbu usulning variantlaridan biri tahlil qilinadigan va etalon aralashmalarni bir xil sharoitda ketma-ket ajratishdan iborat. Ikkala aralashmaning mos keladigan tarkibiy qismlarining cho'qqilarini saqlash vaqtlarining tengligi identifikatsiya qilish uchun asos bo'lib xizmat qilishi mumkin.

Yana bir variant - o'rganilayotgan aralashmaga mos yozuvlar komponenti kiritiladi, bu aralashmada mavjudligi taxmin qilinadi. Standartni joriy etishdan oldin olingan xromatogrammadagi ushbu cho'qqining balandligi bilan solishtirganda (kengaytirmasdan) mos keladigan cho'qqining balandligining oshishi tahlil qilinadigan aralashmada kerakli birikma mavjudligini ko'rsatishi mumkin.

Bu usul oddiy, ammo muhim kamchiliklarga ega. Birinchidan, siz mos yozuvlar moddalariga ega bo'lishingiz kerak; ikkinchidan, ushbu kolonka bo'yicha ajratishda olingan barcha tepaliklar alohida moddalarga mos kelishi kerak. Ammo bu shartlar bajarilgan taqdirda ham, amalga oshirilgan identifikatsiyaning aniqligiga kafolat yo'q. Deyarli har doim kamida ikkita modda mavjud bo'lib, ularning saqlanish hajmi ma'lum bir sorbent bilan kolonkada juda yaqin. Bunday moddalar aralashmaning va standartning bir-biriga o'xshash bo'lmagan har qanday tarkibiy qismi bo'lishi mumkin.

2. Saqlash xarakteristikalarini bo'yicha jadval ma'lumotlaridan foydalanish. Hozirgi vaqtda turli xil moddalar uchun nisbiy saqlash hajmlari qiymatlari bilan ko'plab jadvallar nashr etilgan. Kerakli mos yozuvlar ulanishlari mavjud bo'lmasa, ushbu jadvallardan foydalanish mumkin. Tahlil qilinadigan aralashma tegishli jadvalda ko'rsatilgan shartlar bo'yicha kolonkaga ajratiladi va aralashmaga oldindan oz miqdorda standart sifatida xizmat qiluvchi moddalar kiritiladi. Olingan xromatogramma asosida nisbiy ushlab turish hajmlari, ushlab turish indeksleri yoki boshqa xarakteristikalar hisoblanadi. Olingan qiymatlar jadval ma'lumotlari bilan taqqoslanadi.

3. Moddalarning saqlanish xususiyatlari va boshqa fizik-kimyoviy xossalari orasidagi grafik yoki analitik munosabatlardan foydalanish. Ma'lumki, moddalarning *gomologik* qatoridagi tutilish hajmining logarifmi $\lg V_R$ molekuladagi uglerod atomlari soni (z), qaynash nuqtasi (T) va boshqa xususiyatlar bilan bog'liq bo'lishi mumkin .

$$\lg V_R = a + bz \quad (1,15)$$

$$\lg V_R = a + bT \quad (1.16)$$

Tahlil qilinayotgan aralashmalarning tarkibiy qismlarini aniqlash uchun tegishli grafiklardan keng foydalaniladi. Agar tahlil qilinayotgan komponent qaysi gomologik qatorga tegishli ekanligi oldindan ma'lum bo'lsa, u holda grafikdan aniqlangan qaynash nuqtasi (yoki uglerod atomlari soni) individual identifikatsiya qilish uchun yetarli.

4. Xromatografik bo'lmagan identifikatsiya usullari. Gaz xromatografiyasining boshqa tadqiqot usullari, masalan, IQ spektroskopiyasi va mas-spektrometriyasi bilan kombinatsiyasi samarali bo'ldi. Tahlil qilinadigan moddalar spektrlar katalogi yoki etalon bilan aniqlanadi.

Shuningdek, yadro magnit-rezonansi, alangali fotometriya va boshqalar usullarini, shu jumladan kimyoviy usullarni (masalan, xromatografik kolonkadan oldin va keyin kimyoviy reaksiyalardan foydalanish) qo'llash mumkin.

6. Statsionar suyuqlik fazalari.

Gaz xromatografiyasi eng istiqbolli fizik-kimyoviy tahlil usullaridan biridir. Hozirgi vaqtda xromatografik uskunalar mavjud bo'lmagan organik moddalarni tahlil qilish bilan shug'ullanadigan ilmiy yoki ishlab chiqarish laboratoriyalari deyarli yo'q.

Gaz xromatografiyasi neft va kon gazlarini, havoni, asosiy kimyo mahsulotlari va asosiy organik sintez sanoatini, neft va uni qayta ishlash mahsulotlarini, organometall birikmalar va boshqalarni tahlil qiladi. Gaz xromatografiyasi biologiya, tibbiyot, yog'ochni qayta ishlash texnologiyasi, yog'och kimyosi, oziq-ovqat sanoati va boshqa sohalarda qo'llaniladi.

Ishlab chiqarilgan asbob-uskunalar nafaqat normal sharoitda gaz bo'lgan moddalarni, balki yuqori qaynaydigan birikmalar, dori-darmonlar, turli xil pestitsidlar va boshqalarni ham tahlil qilish imkonini beradi.

Gaz xromatografiyasi sanoat jarayonlarini avtomatlashtirish uchun ham qo'llaniladi. Sanoat xromatografining sensori nafaqat ro'yxatga olish moslamasi, balki signallarni to'g'ridan-to'g'ri aktuatorlarga yuboradigan tartibga soluvchi qurilma sifatida ham qo'llaniladi. Shunday qilib, sanoat xromatografi texnologik jarayonning eng muhim parametrlarini: harorat, bosim, xom ashyo sarfi va boshqalarni nazorat qilishi va tartibga solishi mumkin.

Gaz xromatografiyasining fizik-kimyoviy qo'llanilishi orasida sorbsiya termodinamikasini o'rganish, molekulyar og'irliklarni, moddalarning bug' bosimini, diffuziya koeffitsientlarini, adsorbentlar va katalizatorlarning sirtlarini aniqlash imkoniyatini ham ta'kidlash kerak.

Gaz xromatografiyasining muhim xususiyati turli mahsulotlardagi iz aralashmalarini aniqlash qobiliyatidir. Ayni paytda, gaz xromatografiyasi $10^{-10}\%$ miqdordagi konsentratsiyalarni aniqlashi mumkin. Bu usulni polimer materiallar ishlab chiqarishda, shuningdek, biosferani o'rganishda qo'llaniladigan monomerlarni tahlil qilishda qo'llaniladi.

Gaz xromatografiyasi moddalarni individual va guruhli aniqlash imkonini beradi (ya'ni ularni ma'lum bir birikmalar guruhiga belgilash). Individual xromatografik identifikatsiya quyidagi texnikadan foydalangan holda amalga oshiriladi: tahlil qilinayotgan aralashmaning tarkibiy qismlarining saqlanish xususiyatlarini standartlarning saqlanish xususiyatlari, standart aralashmalarning tarkibiy qismlari yoki jadval ma'lumotlari bilan solishtirish.

7. Harakatlanadigan fazalar.

1. *Saqlash masofasi* - l_R , mm - namunani xromatogrammaga kiritish momentidan mos keladigan cho'qqining maksimaligacha bo'lgan masofa. l_0 - so'rilmaydigan komponentni ushlab turish masofasi, mm, namunani quyish

paytidan boshlab, so'rilmaydigan komponentning eng yuqori nuqtasiga qadar aniqlanadi;

2. *Tuzatilgan (kamaytirilgan) ushlab turish masofasi*, l'_R so'rilmaydigan komponentning cho'qqisining yuqori qismidan mos keladigan cho'qqining maksimaligacha bo'lgan masofa, mm;

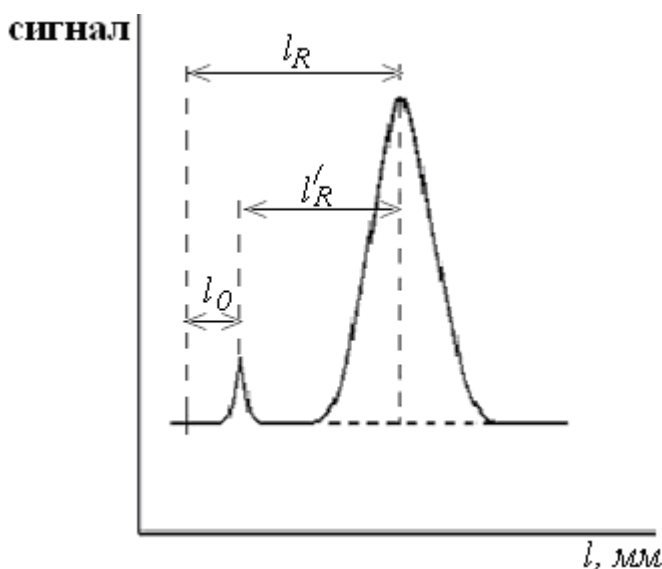
$$l'_R = l_R - l_0 \quad (2.1)$$

3. *Saqlash vaqti*, min - namunani ustunga kiritish paytidan boshlab tegishli cho'qqining maksimalini qayd etish paytigacha o'tgan vaqt.

Saqlash vaqtini potentsiometrda diagramma lentasining chiziqli tezligini bilgan holda hisoblash mumkin U_n , mm / min:

$$t_R = \frac{l_R}{U_n} \quad (2.2)$$

(ko'pincha ushlab turish vaqti to'g'ridan-to'g'ri sekundomer bilan o'lchanadi).



. 2.1- Rasm. Tutish masofasini ko'rsatadigan xromatogramma

4. *Tuzatilgan ushlab turish vaqt*, t'_R min - so'rilmaydigan komponentning maksimal cho'qqisi paydo bo'lgan paytdan boshlab mos keladigan birikmaning maksimal cho'qqisining paydo bo'lishigacha o'tgan vaqt,

$$t'_R = t_R - t_0 = \frac{l'_R}{U_n} \quad (2.3),$$

t_0 so'rilmaydigan komponentni ushlab turish vaqti.

Saqlash vaqti - ustun uzunligi, tashuvchining gaz oqimi tezligi, sorbsiya, harorat funktsiyasi. Tashuvchi gaz oqimi tezligiga bog'liq bo'lmagan miqdor ushlab turish hajmidir.

5. *Tutilish hajmi* (tutish hajmi), V_R ml - namunani quyish paytidan boshlab xromatogrammaning mos keladigan cho'qqisining maksimalini qayd etish paytigacha bo'lgan vaqt davomida ustundan o'tgan ustun haroratidagi tashuvchi gaz hajmi.

$$V_R = F_C \cdot t_R \quad (2.4)$$

bu erda tashuvchi gazning to'g'rilangan kosmik tezligi, ml / min.

Tashuvchi gazning hajmli tezligi F_R ustunning chiqishida suyuqlik oqimi o'lchagich bilan o'lchanadi. Haqiqiy (tuzatilgan) qiymatni hisoblash uchun, F_C oqim o'lchagichning (odatda suv) p_{H_2O} ishchi suyuqligining to'yingan bug 'bosimini, oqim o'lchagichning haroratida T_p , keyin hisobga olish kerak.

$$F_C = F_R \cdot \frac{p_0 - p_{H_2O}}{p_0} \cdot \frac{T_K}{T_p} \quad (2.5)$$

ustunning chiqishida tashuvchi gazning o'lchangan hajmli oqim tezligi qaerda, ml / min; - ustunning chiqishidagi gaz bosimi, odatda 1 atm; - ustun harorati, K.

6. *Kamaytirilgan (tuzatilgan) ushlab turish hajmi*, ml - so'rilmaydigan komponentni ushlab turish hajmi uchun tuzatilgan ushlab turish hajmi (V_0). Formula bo'yicha hisoblangan:

$$V'_R = V_R - V_0 = F_C \cdot t'_R \quad (2.6)$$

7. *Samarali (haqiqiy) ushlab turish hajmi*, ml - qisqartirilgan ushlab turish hajmi, ustundagi bosimning pasayishi uchun tuzatilgan:

$$V_N = V'_R \cdot j = F_C \cdot t'_R \cdot j \quad (2.7)$$

Bu yerda j - ustundagi tashuvchi gazning siqilishini hisobga oladigan tuzatish koeffitsienti:

$$j = \frac{3 \left(p_i / p_0 \right)^2 - 1}{2 \left(p_i / p_0 \right)^3 - 1} \quad (2.8)$$

Ustunga kirishda tashuvchi gazning bosimi qayerda, atm; - ustunning chiqishidagi tashuvchi gazning bosimi, 1 atmga teng.

Shunday qilib, haqiqiy saqlash hajmi:

$$V_N = (t_R - t_0) \cdot F_R \cdot \frac{p_0 - p_{H_2O}}{p_0} \cdot \frac{3}{2} \cdot \frac{(p_i / p_0)^2 - 1}{(p_i / p_0)^3 - 1} \cdot \frac{T_K}{T_P} \quad (2.9)$$

6. *Ustun haroratida o'ziga xos ushlab turish hajmi*, - statsionar suyuqlik faziyv ustunining og'irligi birligiga haqiqiy ushlab turish hajmi. Formula bo'yicha hisoblash.

$$V_q^T = V_N / q$$

(2.10)

Bu yerda q - ustundagi statsionar suyuqlik fazasining massasi, g.

9. *Maxsus ushlab turish hajmi* - 273 K gacha kamaytirilgan ustun haroratida *solishtirma ushlab turish hajmi* quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$V_q^T = V_N^T \cdot \frac{273}{T_K} \quad (2.11)$$

Gaz-suyuqlik xromatografiyasida solishtirma ushlab turish hajmi fizik-kimyoviy konstanta hisoblanadi. Uning qiymati faqat suyuqlik fazasining tabiatiga bog'liq va xromatografik ajratish shartlariga bog'liq emas. Miqdor sifat tahlilida komponentlarni aniqlash va fizik-kimyoviy tadqiqotlar uchun ishlatilishi mumkin.

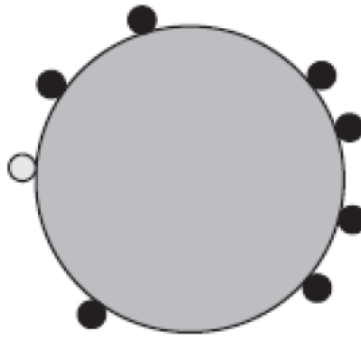
6-mavzu: Biotexnologik ob'ektlarni tahlil qilishda qo'llaniladigan suyuq kolonkali xromatografiyaning umumiy xususiyatlar.

Reja:

1. Suyuq adsorbsion xromatografiya.
2. Suyuq xromatografiya, kolonkalar, adsorbentlar, harakatlanadigan fazalar, detektorlar.
3. Suyuqlikni taqsimlash xromatografiyasi.
4. Ion almashinish va ion juftlik xromatografiyasi.
5. Ligand almashinuvi xromatografiyasi.
6. Eksklyuzion xromatografiya.
7. Affin xromatografiya.

1. Suyuq adsorbsion xromatografiya.

O'simlik pigmentlari aralashmasini ajratish bo'yicha ishida M.S. Svet, tegishli adsorbentlar tomonidan tahlil qilingan aralashmaning alohida komponentlarining tanlab adsorbsiyalanishiga (yutilishiga) asoslangan adsorbsion xromatografik tahlil usulining aniq ta'rifini berdi. Adsorbentlar qattiq moddalar deb ataladi, ularning yuzasida adsorbsiyalangan modda (sorbit) yutilidi (1 -rasm).



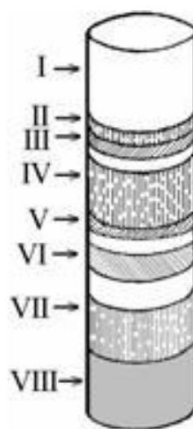
1-rasm. Adsorbsion xromatografiya jarayonida moddani sorbentga birikish jarayonining sxematik tasviri

Ajratiladigan moddalar aralashmasining eritmasi shisha truba orqali, ya'ni adsorbent bilan to'ldirilgan adsorbsion kolonka (ustunli xromatografiya) (silikagele, Al_2O_3 , Na_2SO_4 va boshqalar) orqali o'tkaziladi. Har xil adsorbsiya qobiliyati va shunga mos ravishda aralashmaning tarkibiga kiradigan moddalarning desorbsiyasi natijasida ular adsorbent ustunning turli balandliklarida adsorbsiyalanib, xromatografik zonalar hosil bo'ladi. Bunday holda, osonroq adsorbsiyalanadigan moddalar ustunning yuqori qismida joylashadi va qiyin adsorbsiyalanadigan moddalar pastki zonani hosil qiladi.

Agar adsorbent rangsiz yoki oq bo'lsa va adsorbsiyalangan moddalar rangli bo'lsa, adsorbentda rangli zonalar paydo bo'lib, xromatogramma hosil bo'ladi.

Ultrabinafsha nurlarida fluoressentlanadigan moddalar bo'lsa, kolonkani (ustun) nurlangan zonalar ko'zga yaqqol tashlanadi (paydo bo'ladi) mumkin.

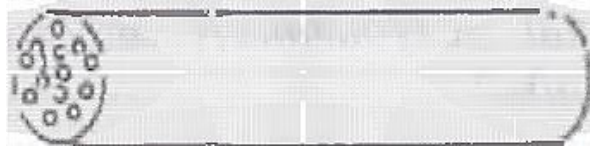
Agar adsorbsiyalangan moddalar rangsiz bo'lsa, ular hosil qilgan zonalar ham rangsiz bo'ladi. Bunday holda, ular ustun orqali o'tib, adsorbsiyalangan moddalar yoki ionlar bilan rangli birikmalar hosil qiladigan, rangsiz zonalarni mos ranglarda bo'yaydigan reaktivni "ko'rsatishi" kerak.



Xromatografik jarayonlar va ustunli xromatografiya texnikasi

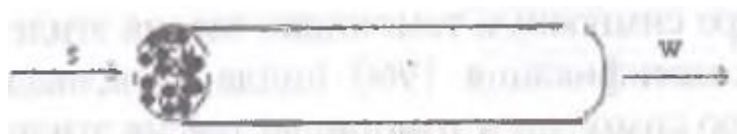
1. Hidrodinamik jarayonlar

Donador qavat orqali gaz yoki suyuqlikning oqishi xromatografik kolonkani ko'pgina xolda notugri yki sferik formadagi donador sorbent bilan to'ldirilgan naycha deb karash mumkin.



Bunday sistema gidroaerodinamikada harakatsiz yoki statsionar donador qavat deyiladi.

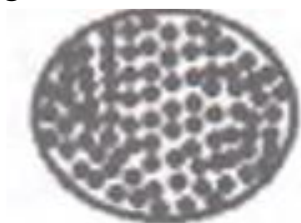
Xromatografik ajralish jarayonida donador qavat orqali qarakatdagi suyuq yoki gaz faza tuxtovsiz filtrlanadi. Bunday oqimning asosiy xarakteristikasi kolonkaning aynan chiqishida ulchanadigan hajmiy tezlik yoki sarfdir (W). Agar sarf W ($\text{sm}^3/\text{min.}$ yoki $\text{sm}^3/\text{sek.}$) kolonkaning kesim yuzasiga $S_{\text{kol.}}$ bo'linsa, $\text{sm}/\text{min.}$ yoki $\text{sm}/\text{sek.}$ bilan o'lchanadigan fiktiv tezlikga olinadi.



$$\omega = W/S - \text{fiktiv tezlik}$$

Fiktiv tezlikni o'lchash nisbatan oddiy bo'lganligi uchun, undan xromatografik ajralish sharoitini ifodalashda, turli bog'likliklarini ifodalashda va x.k.larda foydalaniladi. Uning o'lchov birligi chiziqli tezlik o'lchov birligiga mos kelishiga qaramasdan harakatdagi fazaning kolonka kundalang kesimi birligi ichidagi sarfi ekanligini hisobga olish kerak.

Agar kolonka kesilsa, uning (kesimning) bir qismidan harakatdaga faza o'tmasligini, bir qismi esa harakatdagi faza bilan to'lgan kanallardan iborat ekanligi ko'rinadi.



Ko'pgina tajribalar natijasi ko'rsatadiki, bir xil o'lchamli g'ovak bo'lmagan, xaotik joylashtirilgan sferik zarrachalar uchun $\varepsilon = 0,33-0,39$ keng ulchamli zarrachalar uchun $\varepsilon = 0,35-0,45$ turli o'lchamli shar shaklidagi zarrachalar uchun $\varepsilon = 0,39-0,40$.

Dastlabki hisoblashlar uchun $\varepsilon = 0,5$ deb olinishi mumkin. Bu qiymat gaz suyuqlik xromatografiyasi uchun xarakterli bo'lib, unda g'ovakligi kam bo'lgan sorbentlar qo'llaniladi va harakatdagn faza faqat zarrachalar o'rtasidagi oraliqlarni

to'ldiradi. Suyuqlik xromatografiyasida g'ovak sorbentlar qo'llanilganligi uchun harakatdagi faza bilan oraliklardan tashqari g'ovaklar ham to'ladi. Buning hisobiga $\varepsilon = 0,85-0,90$ ga yotadi.

Anik hisoblashlar uchun ε tajriba yuli bilan aniqlanishi kerak. Buning uchun xromatografik sistemaga sorbsiyalanmaydigan modda yuboriladi va uning maksimum cho'qqisi paydo bo'lish vaqti aniqlanadi. Agar sorbsiyalanmaydigan komponent ideal siqib chiqarish rejimida harakat qilayapti deyilsa, u holda qayd etilgan vaqt quyidagi nisbatdan topiladi.

$$t_0 = V_0/W = V_{\text{KOЛ.}} \varepsilon/W$$

Bundan,

$$\varepsilon = t_0 W/V_{\text{KOЛ.}}$$

Oqimlarni o'rganishda bosimning tushib ketishini aniqlash muhimdir. Dastavval oqimning to'g'ri kapillyardan o'tishini qaraymiz. Bunda oqadigan gaz yoki suyuqlikning kapillyar devori bilan ishqalanishi bo'ladi, Bunda ishqalanish juda katga bo'lganidan oqimning ishqalanishga uchragan qismi xuddiki harakatsiz faza hosil qolganday bo'ladi. Devordan uzoqlashgan sayin oqim tezligi ortib boradi va max ga erishadi. Shunday qilib, devorda turli masofa uzoqlikdagi qavatlar turlicha tezlikda harakat qiladi va bunda ular r ga bog'liq bo'lgan ichki ishqalanishni yengadi. Ichki ishqalanish kuchini yengish uchun unga tashqi kuch-kapillyar oxirlaridagi bosim tushishi (o'zgarishi) DP qo'yilishi kerak.

Oqimning haqiqiy manzarasi murakkab formalar va turli o'lchamli tutash kanallardan iborat murakkab sistemadir. Oqimning haqiqiy tezligi kesimning bir nuqtasidan ikkinchi nuqtasiga o'tganda va kanal uzunligi bo'ylab o'zgaradi.

Shunga qaramasdan donador qavatning o'rtacha xarakteristikasini kiritish mumkin va oqimning o'rtacha chiziqli tezligini o'rnatish mumkin.

Donador qavatning muhim xarakteristikasi uning ko'ndalang kesimining harakatdagi faza bilan band bo'lgan ulushi (poroznost) ε lir. Oqimlarni o'rganishda bosimning tushib ketishini aniqlash muhimdir. Dastavval oqimning to'g'ri kapillyardan o'tishini qaraymiz. Bunda oqadigan gaz yoki suyuqlikning kapillyar devori bilan ishqalanishi bo'ladi, Bunda ishqalanish juda katga bo'lganidan oqimning ishqalanishga uchragan qismi xuddiki harakatsiz faza hosil qolganday bo'ladi. Devordan uzoqlashgan sayin oqim tezligi ortib boradi va max ga erishadi. Shunday qilib, devorda turli masofa uzoqlikdagi qavatlar turlicha tezlikda harakat qiladi va bunda ular r ga bog'liq bo'lgan ichki ishqalanishni yengadi. Ichki ishqalanish kuchini yengish uchun unga tashqi kuch-kapillyar oxirlaridagi bosim tushishi (o'zgarishi) DP qo'yilishi kerak.

Oqimning haqiqiy manzarasi murakkab formalar va turli o'lchamli tutash kanallardan iborat murakkab sistemadir. Oqimning haqiqiy tezligi kesimning bir nuqtasidan ikkinchi nuqtasiga o'tganda va kanal uzunligi bo'ylab o'zgaradi.

Shunga qaramasdan donador qavatning o'rtacha xarakteristikasini kiritish mumkin va oqimning o'rtacha chiziqli tezligini o'rnatish mumkin.

Donador qavatning muhim xarakteristikasi uning ko'ndalang kesimining harakatdagi faza bilan band bo'lgan ulushi (poroznost) ε lir.

$$\varepsilon = S_0/S_{\text{кол}} \quad (1)$$

бунда $S_{\text{кол}} = \pi d^2/4$; $d_{\text{кол}}$ - колонка диаметри; S_0 - ҳаракатдаги фаза билан банд кесим юзаси.

Агар (1) тенгламанинг сурат ва маҳражи колонка узунлигига кўпайтирилса, куйидаги тенглама олинади:

$$\varepsilon = V_0/V_{\text{кол}} \quad (2)$$

бунда $V_{\text{кол}}$, - колонканинг умумий ҳажми, V_0 — колонканинг ҳаракатдаги фаза билан банд бўлган ҳажми.

Шундай қилиб ε - бу ҳаракатдаги фаза билан банд бўлган колонка кесими ёки ҳажмининг улушидир.

Кейинги маълумотларда S_0 ва V_0 эркин кесим ва эркин ҳажм деб юритилади.

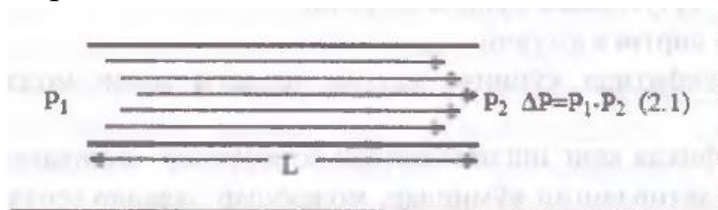
ε ни билган ҳолда оқимнинг ўртача ҳақиқий тезлигини аниқлаш мумкин. Бунинг учун сарф W эркин кесимга (S_0) бўлинади, яъни:

$$U = W/S_0$$

Агар тенгламанинг сурат ва маҳражи $S_{\text{кол}}$ га кўпайтирилса, куйидаги тенглама олинади:

$$U = W/S_{\text{кол}}/S_0/S_{\text{кол}} = \varepsilon/\omega$$

Фиктив тезликни (w) ўлчаш жуда осой бўлиб, у ҳамма вақт хроматографиясига маълум бўлади. ε капалияни ўлчаш эса нисбатан қийиндир.



Капилляр узунлиги L oshishi bilan siljish maydoni ko'payadi, ishqalanish kuchi oshadi va oldingi tezlikni saqlash uchun katta ΔP talab qilinadi. Shuning uchun barcha formulalarda ΔP ning uzunlik L ichida o'zgarishi ishlatiladi. Oqimning o'rtacha tezligi (u) bilan ΔP ni bog'lovchi formula Puazeyl tomonidan keltirib chiqarilgan:

$$U = \Delta P d^2 / (L 32 \eta) \quad (2.2)$$

bunda d -kapilyar diametri.

Donador qavatni kapilyarlar tizimi deb hisoblash mumkin. Bir qancha modellar taklif etilgan bo'lib, ularning eng oddiysi Kozen-Karman modelidir.

Bunda donador qavat qayrilgan kapillyarlar yig'indisi deb olinib, ular devorining hajm birligidagi qavagga nisbatan qavatning tashqi solishgirma sirtiga teng Stashq ko'ndadang kesim sirti ε bilan aniqlanadi.

2. Suyuq xromatografiya, kolonkalar, adsorbentlar, harakatlanadigan fazalar, detektorlar.

Xromatografik ajratish asosida sorbsiya jarayonlari yotadi. Ko'pincha fizik-kimyoviy jarayonlar kabi sorbsiya jarayonlari ham ikki bosqichda amalga oshadi.

1-bosqich. Muvozanatga intilish bosqichi bo'lib, u vaqt o'tishi bilan muvozanatga qarab yaqinlashadi va ma'lum tezlik bilan xarakterlanib sorbsiya kinetikasi bo'limida o'rganiladi.

II-bosqich - muvozanat bosqichi bo'lib, u sorbsiya statikasi qonunlari bilan yoziladi. Oxirgi bosqich xromatografik ajratishga erishishda hal qiluvchi vazifani o'taydi.

Sorbsiya deyilganda gaz, bug' yoki erigan moddalarning qattiq yoki suyuq yutuvchilarda yutilishi tushuniladi.

Yutuvchi – sorbent.

Yutiluvchi – sorbat.

Absorbsiya - butun hajm bo'yicha yutuvchi.

Adsorbsiya - sirtiga yutuvchi.

Adsorbent sifatida ko'pincha qattiq holdagi g'ovak moddalar ishlatiladi.

Xromatografiyada keng ishlatilayotgan sorbentlar: silikagellar, alyumogellar, aktivlangan ko'mirlar, molekular elaklar (sitalar), g'ovak polimer-sorbentlar.

Suyuq yutuvchilar (sorbentlar) ning o'zi analitik xromatografiyada ishlatilmaydi, ular qattiq tashuvchi (nositel) lar sirtiga qoplangan holda ishlatiladi.

Bunday holatda xromatografiyada qo'zg'almas faza deb yuritiladigan suyuq; yutuvchi sirtida absorbsiya va adsorbsiya jarayonlari borishi bilan birga qattiq nositel sirtida ham adsorbsiya jarayoni borishi mumkin.

Shunday kilib, xromatografiyada ikki asosiy tipdagi sorbentlar, ya'ni qattiq adsorbentlar va katgik tashuvchiga koplangan xarakatsiz fazalar ishlatiladi.

Faraz qilaylik, yopiq idishda ma'lum miqdor sorbent va erituvchi yoki qandaydir gaz (gaz tashuvchi) turibdi. Agar idishga ershuvchi yoki uning bug'ida eriydigan So konsentratsiyali sorbat qo'shsak, sorbentning sorbatni yutishi hisobiga uning eritmadagi yoki gaz fazadagi konsentratsiyasi (S) kamayganligini kuzatamiz.

Analli kimyo ish ko'radigan past konsentratsiyada konsentratsiyaning o'zgarishi chiziqli qonuniyat (Genri qonuni) bilan yoziladi, ya'ni: Xromatografik

ajratish asosida sorbsiya jarayonlari yotadi. Ko‘pincha fizik-kimyoviy jarayonlar kabi sorbsiya jarayonlari ham ikki bosqichda amalga oshadi.

1-bosqich. Muvozanatga intilish bosqichi bo‘lib, u vaqt o‘tishi bilan muvozanatga qarab yaqinlashadi va ma’lum tezlik bilan xarakterlanib sorbsiya kinetikasi bo‘limida o‘rganiladi.

II-bosqich - muvozanat bosqichi bo‘lib, u sorbsiya statikasi qonunlari bilan yoziladi. Oxirgi bosqich xromatografik ajratishga erishishda hal qiluvchi vazifani o‘taydi.

Sorbsiya deyilganda gaz, bug‘ yoki erigan moddalarning qattiq yoki suyuq yutuvchilarda yutilishi tushuniladi.

Yutuvchi – sorbent.

Yutiluvchi – sorbat.

Absorbsiya - butun hajm bo‘yicha yutuvchi.

Adsorbsiya - sirtiga yutuvchi.

Adsorbent sifatida ko‘pincha qattiq holdagi g‘ovak moddalar ishlatiladi.

Xromatografiyada keng ishlatilayotgan sorbentlar: silikagellar, alyumogellar, aktivlangan ko‘mirlar, molekular elaklar (sitalar), g‘ovak polimer-sorbentlar.

Suyuq yutuvchilar (sorbentlar) ning o‘zi analitik xromatografiyada ishlatilmaydi, ular qattiq tashuvchi (nositel) lar sirtiga qoplangan holda ishlatiladi.

Bunday holatda xromatogafiyada qo‘zg‘almas faza deb yuritiladigan suyuq; yutuvchi sirtida absorbsiya va adsorbsiya jarayonlari borishi bilan birga qattiq nositel sirtida ham adsorbsiya jarayoni borishi mumkin.

Shunday kilib, xromatogrfiyada ikki asosiy tipdagi sorbentlar, ya’ni qattiq adsorbentlar va katgik tashuvchiga koplangan xarakatsiz fazalar ishlatiladi.

Faraz qilaylik, yopiq idishda ma’lum miqdor sorbent va erituvchi yoki qandaydir gaz (gaz tashuvchi) turibdi. Agar idishga ershuvchi yoki uning bug‘ida eriydigan C_0 konsentratsiyali sorbat qo‘shsak, sorbentning sorbatni yutishi hisobiga uning eritmadagi yoki gaz fazadagi konsentratsiyasi (C) kamayganligini kuzatamiz.

Analli kimyo ish ko‘radigan past konsentratsiyada konsentratsiyaning o‘zgarishi chiziqli qonuniyat (Genri qonuni) bilan yoziladi, ya’ni:

$$C_0 = KC \quad (1)$$

C_c - sorbatning sorbentdagi konsentratsiyasi.

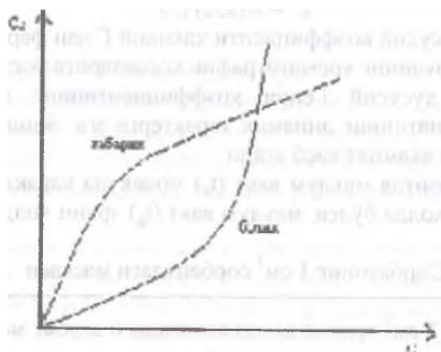
C - muvozanat konsentratsiya [mg/sm^3 , yoki mkmol/sm^3].

K - Genri koeffitsiyenta, o‘lchovsiz kattalik, [mg/sm^3 yoki mkmol/sm^3] quzg‘almas suyuq fazada

C - qo‘llanilganda [mg/g yoki mkmol/g] qattiq adsorbent ishlatiladi.

Agar C_0 ni oshirish hisobiga C oshirilsa K ning qiymati ham o'zgaradi. Yuqori konsentratsiyalarda sorbsiya muvozanatini birgina K koefitsiyent bilan xarakterlab bulmaydi. Bunda sorbsiya izotermasini $C_c=f(C)$ aniqlash kerak.

Bu bog'liqlikni ifodalovchi bir qancha formulalar mavjud. Xromatografiyada asosan past konsentratsiyali sistema bilan ishlanganligi uchun chiziqli tenglamalarga to'xtalamiz. Xromatografiyada haqiqiy Genri koefitsiyentidan (K) tashqari, yana uning ikki xil modifikatsiyasi ishlatiladi. Bu bog'liqlik grafigi 2-chizmada berilgan.



2-chizm. Chiziqli tenglamalar

Faraz qilaylik, sorbent zarrachalari bilan to'ldirilgan xromatografik kolonkaning hajm birligidagi qavatini (1 sm^3) qaraylik. Bu hajmning ε -qismi bo'shliqdan iborat bo'lib, ε qismi sorbent bilan band bo'lgan, qattiq tashuvchiga qoplangan qo'zg'almas faza bo'lganda $\varepsilon + \chi < 1$, chunki hajmning malum qismi qag'ttaq nositel bilan band etilgan. Bu holda χ - qo'zg'almas fazaning hajmiy ulushi.

Muvozanat qaror topganda sorbentdagi modda miqdori:

$$a = \varepsilon C + \chi S_s \quad (2)$$

Genrining umumiy koefitsiyenti bu holda

$$G = a/C \quad (3)$$

bunda a - 1 sm^3 sorbent qavatidagi sorbat massasi, S - sorbatning eritmadagi yoki gazdagi konsentratsiyasi.

(3) tenglama (2) ga qo'yilsa

$$G = \varepsilon + \chi K \quad (4)$$

Genrining xususiy koefitsiyenta - k' :

$k' = C_0 \chi / C \varepsilon = 1 \text{ cm}^3$ sorbent qavatida yutilgan sorbat massasi / 1 cm^3 qavatdagi eritma yoki gaz fazadagi sorbat massasi.

Bu tenglamani (1) ni xisobga olgan xolda kuyidagicha yozish mumkin:

$$k' = K (\chi / \varepsilon) \quad (5)$$

Umumiy va xususiy koefitsiyenta haqiqiy G dan farq qilib ε va χ ga, ya'ni kolonkaning xromatografik xossalriga bog'liq bo'ladi.

Umumiy va xususiy Genri koeffitsiyentining kiritilishi sorbsiya muvozanataning dinamik xarakterga ega ekanligi hisobga olinsa, alohida ahamiyat kasb etadi.

Dinamik sharoitda ma'lum vaqt (t_a) molekula harakatsiz fazada sorbsiyalangan holda bo'lsa, ma'lum vaqt (t_g) erkin holda bo'ladi. U holda:

$(t_a)/(t_g)$ = Sorbatning 1 sm^3 sorbentdagi massasi/1 sm^3 eritma va gaz qavatidagi sorbat massasi.

bundan $t_a/t_g=k'$ - xususiy Genri koeffitsiyenti (6)

Xromatografiya amaliyotida $t_g/(t_a+t_g)$ nisbat xam muximdir:

$$t_g/(t_a+t_g)=1/(1+k') = R \quad (7)$$

R - kattalik suyuqlik va yupqa qavat xromatografiyasida ishlatiladi.

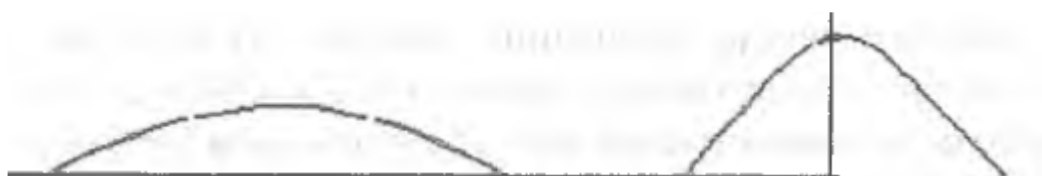
Sorbsiya jarayonida sorbent va sorbat o'rtasidagi molekulalararo ta'sir kuchiga fizikaviy yoki Vander-Vaal's ko'chlari deyiladi.

Maxsus o'zaro ta'sirlardan vodorod bog'i va donor-akseptor ta'sir xromatografik ajralishda alohida ahamiyatga ega.

Xromatografik jarayon sorbsiyaning muvozanat xarakteristikasiga (xususan G ga) uzviy bog'lik bo'lishi bilan birga sorbsiya jarayoni muvozanatini o'rnatish tezligiga ham bog'lik.

Agar sorbsiya tezligi kichik qiymatga ega bo'lsa, u holda jarayon kuchli muvozanatda bo'lmagan holatda boradi va ajralishni qiyinlashtiruvchi turli omillarning paydo bo'lishiga olib keladi.

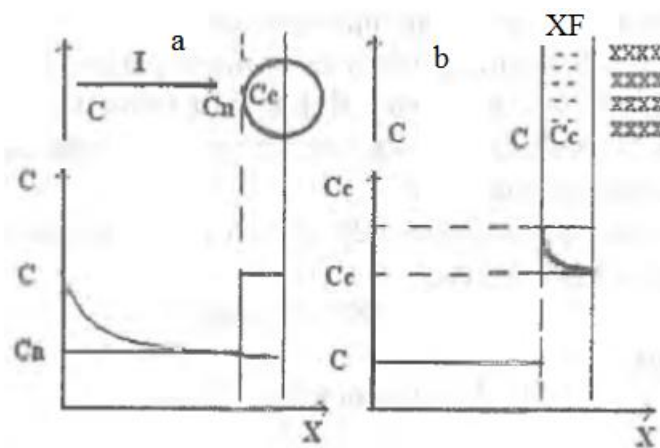
Jumladan, cho'qqining yoyilishi, assimetrik cho'qqi.



Sorbsiya jarayoni uch boskichdan iborat:

C - sorbat molekulasining sorbent zarrachalar o'rtasidan sirtga harakati (tashqi massa almashinuv). -diffuziya – sorbentning zarracha ichida sistema bo'yicha diffuziyasi (adsorbsiyada) yoki harakatsiz faza ichida diffuziya (absorbsiyada) (ichki diffuziya), - adsorbsiya.

Oxirgi bosqich oldingilariga qaraganda ancha tez borganligi uchun umumiy sorbsiya tezligiga sezilarli ta'sir etmaydi. Eng sekin boruvni bosqich tezligi bilan sorbsiya tezligi aniqdanadi. Agar sekin boruvchi bosqich tashqi massa almashinuvi bo'lsa, xarakatdagi fazada konsentratsiya farqi bo'ladi ya'ni tashqi (a) va ichki (b) modda almashinuvining limitlovchi bosqichida konsentratsiyaning taqsimlanishi:



C - o'tuvchi o'q oldidagi konsentratsiya;

C_n - dona sirti atrofida konsentratsiya; $C_s = KC_n$

C_c - sorbentdagi sorbat konsentratsiya;

$(C_s - C_n)$ farqdan moddaning G miqdor oqimi sorbentga, desorbsiya jarayonida esa zarrachadan yo'naladi.

Sorbsiya jarayonida $(C_s - C_n) > 0$. Oqim G modda (grammlarda yoki mollarda) 1 sm² maydondan yutilgan modda miqdori bilan o'lchanadi.

Vaqt birligi ichida sferaning hammasi tomonidan yutilgan modda miqdori GS_3 ni tashkil etadi, bunda S_3 - sfera sirti.

O'z navbatida konsentratsiyaning sfera ichidagi o'zgarishi GS_3/V_3 (V_3 - sfera hajmi).

$S_3 = \pi d^2 p$ $V_3 = 1/6 \pi d^3 p$ bo'lsa,

u holda, konsentratsiyaning vaqt birligi ichida o'zgarishi $6G/dp$ ga, vaqt bo'yicha esa

$dt - 6Gdt/dp$

Shunday qilib,

$dC_c = (6G/dp)dt$

$dC_c/dt = 6G/dp$

Shuni alohida qayd etish kerakki, C va C_n konsentratsiyalar vaqt o'zgarishi bilan to'xtovsiz o'zgarib turadi, o'z navbatida oqim J ham o'zgaradi. Oqim J ni kichik vaqt oralig'ida o'zgarish deb olish mumkin.

Qo'zg'almas yoki laminar harakatlanuvchi muhitda modda oqimi faqat molekular diffuziya bo'yicha anikdanadi va Fikning birinchi qonuni bilan ifodalanadi ($[G = -D(dc/dx)]$).

Konsentratsiyaning unchalik katta bulmagan gradiyentida dc/dx katgalikni farq bilan almashtirish mumkin.

Muhitda vaqt o'zgarishi bo'yicha konsentratsiya o'zgaradi va o'z navbatida oqim G ham o'zgaradi. Bunda oqimning o'zgarishi sharlarni hosil qilgan tirqishga bog'liq o'zgaradi. U o'z navbatida tirqish diametriga proporsionaldir.

Kanal (tirqish) diametrini v_{dp} ga teng (v -proporsionallik koeffitsiyenta) deb olsak,

$$G = D(C - C_n)/v_{dp}$$

Bu ifodadan,

$$dC_0/dt = 6D(C - C_n)/v_{dp}$$

agar $6D/v_{dp} = \beta$ desak,

$$dC_0/dt = \beta (C - C_n)$$

Agar tashqi massa almashinuv yetarli darajada tez borsa, u holda konsentratsiya muhitda o'zgaradi, ammo konsentratsiya gradiyenta sorbsiyalangan holatda amalga oshadi. Masalan, qo'zg'almas faza qavata holatida harakatsiz fazadagi sorbsiyalangan sorbent konsentratsiyasi C_0^* bo'lsa, inert tashuvchida sorbsiyalangan sorbent konsentratsiyasi C_c bo'ladi.

Ichki diffuziya asosiy rolni o'ynaganda sorbsiya kinetik tenglamasi:

$$dC_c/dt = \beta' (C_0^* - C_c)$$

Adsorbsiya xolatida modsaning xarakatsiz faza kavati ichida o'tishi Fik qonuni bilan yoziladi, ya'ni

$$dC_c/dt = D_{\kappa} \delta^2 C_c / \delta y^2$$

bunda D_j - xromatografiya qavatidagi diffuziya koeffitsiyenti.

y - suyuqlik qavati ichidagi yo'nalish koordinata.

Tenglamadagi $\delta^2 C_c / \delta y^2$ ni $(C_c^* - C_c)/d_f^2$ (d_f - suyuq qavat qalinligi) bilan almashtirish mumkin, U holda tenglamani solishtirshi natijasida

$\beta' = D_j/d_f^2$ ni olish mumkin.

Molekulaning adsorbsiyalangan holda bo'lish vaqti - t_g

$$t_g = 2d_f^2/2D_j = d_f^2/D_j$$

O'z navbatida molekulaning desorbsiyalangan holatda bo'lish vaqti

$$t_g = t_g/k' = d_f^2/2D_j k'$$

$$t_g' > t_g \text{ yoki } t_g' = t_{td}$$

t_{td} - tashqi diffuziya vaqti:

$$t_{td} = d_p^2/D$$

Natijada molekulaning erkin holatda bo'lish vaqti

$$t_g' = d_p^2/D + d_f^2/D_{\kappa} k'$$

Bu tenglama keyinchalik xromatografik chuqqilarni yoyilishini yozishda qo'llaniladi.

$$G = -D(dc/dx)$$

Konsengratsiyaning vaqt bo'yicha o'zgarishi

$$\delta c / \delta t = -D(\delta^2 c / \delta x^2)$$

$$C = C_{max} \exp(-x^2/4Dt)$$

$$\sigma^2 = 2Dt$$

Jillilend tenglamasi

$$D = \frac{0,0043T^{3/2}(1/M_1+1/M_2)^{1/2}}{P(\Omega_1^{1/3}+\Omega_2^{1/3})^2}$$

Bunda Ω – mol hajm, P- bosim, M-mol massa.

Suyuqliklar uchun $D = kT/(6\pi r^2)$

3. Suyuqlikni taqsimlash xromatografiyasi

Biospetsifik adsorbsiya xromatografiya substratlari (albumin, proteaza, fosfolipaza va boshqalar). Hozirgi davrda amaliyotda ularni olinishi, fizik-kimyo xususiyatlari, biologik ahamiyati, ishlatilishi va ularni qo'llash olimlar tomonidan o'rganilmoqda, jumladan X.Ya. Karimov va boshqalar albuminni fizik-kimyoviy xususiyatlari va biologik ahamiyatini o'rganib chikdilar. M.M. Raximov va boshqalar tomonidan biospetsifik adsorbsion xromatografiya, fosfolipaza A_2 ni turli manbalardan ajratib olish yo'lga quyidgan. Bu usulda, hayvonning oshqozon osti bezi va O'rta Osiyoda yashovchi kobra zaxaridan fosfolipaza A_2 olish usullari ishlab chiqildi.

Fosfolipaza A_2 - ni o'rganish va ularni turli biologik manbalardan ajratish usullari, hozirgi vaqtda izlanuvchilarning asosiy e'tiborida. Hozirda bu fermentlarni keng qo'llash, biologik membrana funksiyasi strukturasini o'rganish asosiy masala hisoblanadi. Bunday izlanish bo'yicha, asosan ilon zaharidan olingan fosfolipaza A_2 qo'llaniladi. Oq qora ilon zaharidan olingan fosfolipaza A_2 - ni tozalash uchun va undan zaxar tarkibida bo'lgan polipeptidni ajratash uchun kolonkada gidrofob xromatografiya usuli ishlab chiqildi. Uning asosiy maqsadi, turli usullar bilan fosfolipaza A_2 - ni ajratib olishda biospetsifik xromatografiyani qo'llab, adsorbent va fosfolipaza substratni birlashtirib sintez qilish hisoblanadi.

Fermentlarni biospetsifik xromatografiya usulini ishlab chiqish masalasini hal qilishda quyidagi faktorlar orqali aniqlanadi:

1. Erimaydigan tashuvchini to'g'ri tanlash va ularni kovalent bog'liqlik sharoiti.
2. Tekshirilayotgan ferment degidratatsiya adsorbentning mustaxkamligi, shuningdek regeneratsiya va tozalash jarayonida bo'lishi mumkin bo'lgan qattiq sharoit.
3. Fermentni sorbsiya va desorbsiya optimal sharoitini aniqlash.

Biospetsifik adsorbent ishlab chiqarish uchun erimaydigan tashuvchi sifatida kukunsimon poliamid qo'llanilishi, hozirgi vaqtdagi ishlatiladigan polisaxarid tashuvchiga nisbatan quyidagi afzalliklarga ega:

1. Mexanik va kimyoviy chidamliligi.
2. Turli xil xromatografik shakl berish qobiliyatiga ega.
3. Organik kislota gidrolizida kimyoviy faolligi.

Kuzatuv ishlarida turli fakgorlar ta'siri quyidagilardan iborat:

- harorat (50° C gacha)
- yuqori ion kuchi (3 M KCl)
- detergentlar (1 % - li triton X-100, 0,1 % - li setiltrimetilammoniy bromid)
- mochevina (8 M - gacha)
- dimetilsulfooksid (30 % - gacha).

Yuqoridagi faktorlar shuni ko'rsatadiki, bu sharoitda ligandstavka - tashuvchi o'rtasidagi aloqa mustahkamlik qoidasini buzilishi kuzatilmaydi. Shunday qilib, fosfolipaza A₂ - ni sorbsiya va desorbsiya sharoitini tanlash va sorbent sintezini qo'llash orqali turli xil ferment turlarini tozalash va ajratib olish mumkin. Fosfolipaza D fermentini olish uchun xomashyo sifatida turupni olish mumkin. Fosfolipaza D - eng ko'p turupda bo'lar ekan. Shuning uchun ovqatdan so'ng turup iste'mol qilish lozim, u yog'larni oson parchalaydi. Albumin hamma oqsillar ichida o'rganilgan bo'lib, biokimyoda keng ko'lamda qo'llanilib kelinmoqda. Uni o'rganishda 30 yil davomida turli uslubiy qo'llanmalar yaratilgan.

1839 yil qon zardobidan albumin ajratib olingan. Rangi oq uni «albumin» lotincha «albus»-oq deb nomlashgan. Albuminning farqlanuvchi tomonlari quyidagicha

- uning kislotaligi;
- yaxshi eruvchanligi;
- barqarorligi.

pH 4,8 ni tashkil qiladi, eruvchanligi 30%. Albuminning oddiy konsentratsiyasi sistemada 5 g/100 ml - ni tashkil qiladi va 80% kolloidli osmotik bosimda albumin hosil qiladi. Bundan tashqari albumin qondagi pH - ni boshqarib turishda katta asosiy rol uynaydi. 60% ekstra hujayradan oqsillarni albumin tashkil qiladi. Albuminning to'liq yo'qolib ketishi juda kam uchraydi.

7-mavzu: Biotexnologik ob'ektlarni tahlil qilishda qo'llaniladigan planar xromatografiyaning umumiy xususiyatlari.

Reja:

1. Yupqa qatlamli xromatografiya.
2. YuQXda ajratish mexanizmlari va elyuentni tanlash.
3. Sorbentlar.
4. YuQX texnikasi.
5. Xromatografik xarakteristikalar.
6. Elutsiya turlari.
7. Miqdori aniqlash usullari.
8. Qog'ozda xromatografiya.

Planar xromatografiya umumiy xususiyatlar Planar xromatografiyada aralashma komponentlarini xromatografik ajratish aniqlanayotgan komponentlarning tarqalish koeffitsientlariga muvofiq harakatlanuvchi faza komponentlarini statsionar faza qatlami bo'ylab o'tkazish hisobiga amalga oshiriladi.

Planar xromatografiya usullari nafaqat kapillyar kuchlar ta'sirida harakatchan fazaning harakati sodir bo'ladigan usullar (qog'oz, yupqa qatlam va yuqori samarali nozik qatlam xromatografiyasi), balki turli xil tashqi kuchlar qo'llaniladigan usullar (bosim ostida yupqa qatlamli xromatografiya, bosim ostida dumaloq yupqa qatlamli xromatografiya, markazdan qochma kuch ta'sirida yupqa qatlamli xromatografiya - aylanadigan yupqa qatlamli xromatografiya). Hozirgi vaqtda eng ko'p qo'llaniladigan planar xromatografiya usuli vaqt, yupqa qatlamli xromatografiya va yuqori samarali yupqa qatlamli xromatografiya usullari qo'llaniladi.

Planar xromatografiyada moddalarni ajratish jarayonlari sorbentning tekis qatlamida olib boriladi.

Planar yoki planar xromatografiya suyuq xromatografiyaga tegishli, chunki harakatlanuvchi faza suyuqlikdir. Planar xromatografiyaning asosiy usullari qog'oz, yupqa qatlam va elektroxromatografiyadir. Qog'oz va yupqa qatlamli xromatografiya oddiy va texnikasi bo'yicha o'xshash, qimmat uskunalarni talab qilmaydi va ekspressdir.

Amaldagi reagentlar, asbob-uskunalarining mavjudligi va nisbatan arzonligi yuqori sezuvchanlik bilan birgalikda keng miqyosda foydalanish imkonini beradi.

1. Yupqa qatlamli xromatografiya (YuQX)

Yupqa qatlam xromatografiyasi (YuQX) usuli 1938 yilda taklif qilingan (N.A. Izmailov va M.S. Shrayber), lekin keyinchalik keng amaliy qo'llanilishini topdi.

YuQX ning rivojlanishiga J. Kirchner va E. Stahl katta hissa qo'shdilar. E. Stahl uskunani ishlab chiqdi, YuQX ning qo'llanilishini ko'rsatdi va 1956 yilda YuQX dan foydalanish bo'yicha birinchi amaliy qo'llanmani yozdi. YuQX murakkab namunalardagi organik va noorganik moddalarni aniqlash va miqdorini aniqlash uchun ishlatiladi. YuQX tahlili bir necha bosqichlardan iborat: namuna tayyorlash; plastinka tayyorlash; xromatografik kamerani tayyorlash; ariza namunasi; namuna komponentlarini xromatografik ajratish; plastinadan eluentni olib tashlash; identifikatsiya qilish; miqdoriy aniqlash.

YuQX usulida xromatografiyaning turli xil variantlari amalga oshirilishi mumkin: normal fazali, teskari fazali, miselyar va chiral. Yuqori samarali YuQX sezgir, samarali va tezroq.

Eluentlarni tanlash odatda adabiyot ma'lumotlarini hisobga olgan holda amalga oshiriladi. Eluentlarning tarkibini o'zgartirib, R_f ni plitalar turini hisobga olgan holda sozlash mumkin. Eluotropik ketma-ketlik printsipi faqat indikativ ma'lumot beradi, chunki erituvchining elutivlik kuchi uning modda bilan o'zaro ta'sirining barcha kuchlarining yig'indisi bilan belgilanadi.

YuQX bo'linishi an'anaviy adsorbentlarda (silikagel, diatomli tuproq, tsellyuloza) ham, qutbli (DMSO, DMF, etilen glikol) va hidrofobik birikmalar (parafin, silikon moylari, undekan, tetradekan) bilan singdirilgan sorbentlar ustida ham amalga oshiriladi. Sorbentlar sifatida kimyoviy bog'langan fazalari (diol-, siyan-, aminofazalar) bo'lgan gidrofil sorbentlar va kimyoviy bog'langan fazalari (C2-, C8-, C18- fazalar) bo'lgan hidrofobik sorbentlar ishlatilishi mumkin.

Oddiy bo'linish YuQX polar bo'lmagan mobil fazalar va qutbli statsionar fazalardan (organik erituvchi bilan muvozanatlangan suv) foydalanadi. Moddaning qutbliligi ortishi bilan, fazalar orasida xromatografik moddalar taqsimlanadi, ular statsionar fazada eriydi.

2. Ajrish mexanizmlari va eluentlarni tanlash

YuQX tutilishning ortishi va eluentning qutbliligi ortishi bilan tutilish orqali moddalarni ajratish aralash mexanizmlar bilan davom etadi, chunki YuQX suyuq xromatografiyaning bir turi hisoblanadi. Bo'linish xromatografiyasi adsorbsion xromatografiya bilan hamroh bo'lishi mumkin va aksincha. Adsorbsion YuQX analit va erituvchi molekulalarining qutb guruhlari adsorbentning faol markazlari bilan raqobatbardosh o'zaro ta'siriga asoslangan. Elutsiya uchun qutbsiz moddalar, qutbsiz elyuentlar qo'llaniladi, chunki bu holda qutbsiz moddalar tezroq olinadi, qutbli moddalarga kamayadi.

Polar komponentning kontsentratsiyasini oshirish (R_f) harakatchanlikni oshiradi.

YuQX ikkala qutbni ajratish uchun teskari fazali ishlatiladi,
Metanol - 0,5 M NaCl (65:35)

Asetonitril - 0,5M NaCl (2:8)
Metanol - 0,1M K₂HPO₄ (55:45),
pH 8,8
RP-18

Teskari fazali TLCda, asosan, qutbli erituvchilarning aralashmalari elyuent sifatida: spirtlar, aseton, asetonitril, dioksan, suv bilan har xil nisbatda aralashmalar ishlatiladi.

3. Sorbentlar

YuQX uchun plastinka, substrat, sorbent qatlami va bog'lovchidan iborat. Substrat shisha, alyuminiy folga, polimer plyonkadan tayyorlanadi. Asosiy bog'lovchilar kraxmal, gips, ishqoriy silikatlaridir.

Oddiy fazali YuQX da eng ko'p qirrali va keng tarqalgan adsorbent silikagel hisoblanadi.

Statsionar fazalar sifatida ustunli suyuqlik xromatografiyasida ishlatiladigan sorbentlar ishlatiladi. Sorbent qatlamining qalinligi 200 - 500 mikron, zarracha hajmi esa 20 mikron va undan ko'p. Nazariy plitalar soni 2000 ga yetishi mumkin (yo'l uzunligi 12 sm), ajratish vaqti taxminan 25 minut. Yuqori samarali yupqa qatlamli xromatografiya tezroq ajratish (taxminan 10 daqiqa) va to'liqroq ajratish imkonini beradi.

Donning kattaligi 5 mkm yoki undan kam, sorbent qatlamining qalinligi esa taxminan 100 mkm. Nazariy plastinkalar soni yo'l uzunligi bilan 4000 ga etadi.

Ikki sorbent bilan qoplangan ikki fazali plitalar biokimyo, klinik va farmatsevtika kimyosida keng qo'llaniladi. Birinchi zonada (adsorbtsiyadan oldingi qatlam) namuna tozalanadi va konsentratsiyalanadi, ikkinchi zonada aralashmaning tarkibiy qismlari ajratiladi. Birinchi zonada sorbent sifatida adsorbtsion faol bo'lmagan sorbent (diatomit yoki 500 nm teshik diametri bilan silikagel) yoki RP-18 fazasi bilan modifikatsiyalangan silikageldan foydalanish mumkin. Plastinaning ikkinchi qismi oddiy silikagel bilan qoplangan. Bunday plitalardan foydalanish samaradorlikni oshirishga imkon beradi.

Yupqa qatlamli xromatografiyada sorbent shisha, metall yoki plastmassa plastinkada yupqa qatlam shaklida, analitlarni o'z ichiga olgan suyuqlik namunasining kichik hajmi (0,5-5 µl), bo'ladi.

4. YuQX texnikasi

Namunani eritish uchun erituvchi ishlatiladi, unda namunaning barcha komponentlari to'liq eritilishi kerak. Erituvchi plitadan tezda olib tashlanishi (bug'lanishi) va sorbent qatlamini yaxshilab namlashi kerak. Namuna qo'llanilgandan so'ng, plitalar isitiladi yoki sochlarini fen bilan quritiladi erituvchining bug'lanishi.

pH qiymati suvda ajraladigan moddalarning xromatografiyasiga ta'sir qilishi mumkin. Bunday moddalar uchun R_f qiymati nafaqat tarqalish koeffitsientiga, balki ionlanish konstantalariga ham bog'liq. R_f ning ionlanish konstantalariga bog'liqligi, agar ajratiladigan moddalarning taqsimlanish koeffitsientlari o'xshash bo'lsa, qo'llaniladi. Bunday birikmalar buffer eritmalar yordamida ajratiladi.

5. Xromatografik xususiyatlari

YuQX dagi moddalarning xromatografik harakatining asosiy xarakteristikasi harakatchanlik yoki ushlab turish omili (R_f): modda zonasi tomonidan boshlang'ich chiziqdan zona markazigacha bo'lgan masofaning (X_n) erituvchi fronti, (X_f) boshlang'ich chiziqdan erituvchi front chegarasigacha bosib o'tgan masofaga nisbati.

Ko'p komponentli mobil fazaning tarkibi sorbent orqali harakatlanayotganda doimiy ravishda o'zgarib turadi, bu esa R_f qiymatlarining yomon takrorlanishiga olib keladi.

6. Elutatsiya turlari

Yupqa qatlamli xromatografiyada, ustunli suyuqlik xromatografiyasidan farqli o'laroq, uch turdagi elutsiya mumkin: chiziqli, aylanali va aylanaga qarshi.

Chiziqli xromatografiya varianti ilgari ko'rib chiqilgan.

Dumaloq TLCda namuna va erituvchi plastinkaning o'rtasiga yuboriladi.

Xromatografiyadan keyin konsentrik halqalar kuzatiladi "aylanaga qarshi", "sentrifugal", "markaziy" turli mualliflar tomonidan taklif qilingan. Ushbu atamalar o'rtasidagi bog'liqlikni sxematik tarzda quyidagicha tasvirlash mumkin: Radial xromatografiya bajarish texnikasiga o'xshash: namunalar plastinka markazidan ma'lum masofada aylana shaklida qo'llaniladi.

Xromatografik ajratishdan keyin yoysimon chiziqlar olinadi.

Aylanaga qarshi YuQX da namunalar plastinkaning atrofi bo'ylab aylana shaklida qo'llaniladi va eluent plastinka markaziga qarab beriladi. Anti-doira YuQX ning asosiy afzalliklari: eng tezkor YuQX usuli, bir vaqtning o'zida ko'plab namunalarni tahlil qilish mumkin.

Ajralayotgan aralashmaning tarkibiy qismlarini aniqlash uchun turli aniqlash usullari taklif qilingan.

1. Ajraladigan moddalarning lyuminescent xossalarini o'rganish. Bu eng sezgir aniqlash usullaridan biridir. Moddalarning floresansi turli yo'llar bilan kuchaytirilishi mumkin, masalan, plastinkaga suyuq azot qo'llaniladi va UB nurlari bilan yoritiladi. Floresan bo'lmagan moddalarni lyuminescent birikmalarga aylantirish uchun reagentlar taklif etiladi.

Sorbentga qo'llaniladigan lyuminescent indikatorlardan foydalanish.

Bunday holda, plastinka ultrabinafsha nurlari bilan nurlantirilganda, plastinkaning yorug'lik fonida tahlil qiluvchi moddalarning qora nuqtalari kuzatiladi.

O'rganilayotgan moddalarni oldingi va keyingi derivatizatsiya qilishning turli usullari taklif qilingan. Xromoforlar yoki floroforlarning kiritilishi tahlilning sezgirligini oshiradi.

7. Qog'ozdagi xromatografiya

Tahlil qilingan aralash xromatografik qog'ozga boshlang'ich chiziqqa surtiladi va qog'oz xromatografik kameraga vertikal ravishda joylashtiriladi. Solvent qatlami boshlang'ich chiziq ostida bo'lishi kerak. Xromatografik ajratishdan so'ng qog'oz chiqariladi, quritiladi va ishlab chiqariladi.

Shunday qilib ko'tarilgan xromatogramma olinadi. Kameraning pastki qismida mobil fazani tashkil etuvchi erituvchilar joylashgan. Xona germetik tarzda yopilgan. Ikki varaq xromatografik qog'ozni kyuvetaga shunday botirish mumkinki, ular silindrsimon yoki to'rtburchaklar kamera ichida bir-biriga parallel ravishda osilib turadi.

Tushuvchi xromatografiya usulida moddalar aralashmasi bilan qoplangan xromatografik qog'oz xromatografik kamerada yuqoridan mustahkamlanadi va harakatlanuvchi fazani o'z ichiga olgan shisha novcha shaklidagi kyuvetaga joylashtiriladi.

Kapillyar kuchlar ta'sirida erituvchi asta-sekin pastga siljiydi. Shu bilan birga, ajratiladigan aralashmaning tarkibiy qismlari va standart moddalar pastga siljiydi.

Qog'ozning uzunligiga va ajratiladigan aralashmaning tarkibiga qarab, xromatografik ajratishning davomiyligi 12-24 soat. Xromatografik ajratilgandan so'ng, birlamchi xromatogramma kameradan chiqariladi va 15-20 daqiqa davomida duxovkaga joylashtiriladi. Dastlabki aralashmani aylananing markaziga qo'llash mumkin va u markazdan atrofga konsentrik halqalarda taqsimlanadi. Shu tarzda dumaloq xromatogramma olinadi. Ko'chma faza qog'ozda aylana markaziga tushadigan huni va mobil faza bilan idishga tushirilgan tayoq yordamida oziqlanadi.

Gidrofil qog'ozga maxsus ishlov berish bilan gidrofobik qog'oz olinadi. Qayta ishlash uchun reaktiv sifatida kerosinning neft efiridagi 1% li eritmasi, kauchukning benzoldagi 0,5% li eritmasi va boshqalar ishlatiladi. Suvda erimaydigan moddalarni tahlil qilishda xromatogrammalarni gidrofob qog'ozda olish qo'llaniladi. Polar bo'lmagan erituvchi statsionar faza, qutbli erituvchi (spirtlar, organik kislotalarning suvli eritmaları) harakatchan bo'lib xizmat qiladi. Qog'ozda olingan xromatogrammalar odatda rangsizdir. Xromatogrammalarni ishlab chiqish uchun tahlil qilingan aralashmaning tarkibiy qismlari bilan rangli

birikmalar hosil qiluvchi turli xil reagentlar qo'llaniladi. Agar tahlil qiluvchi modda lyuminestsatsiyaga qodir bo'lsa, u holda ultrabinafsha nurda floresans kuzatiladi.

Qog'oz xromatografiyasida moddalarni miqdoriy aniqlashning ikkinchi usuli xromatografiya qilingan moddalarning ekstraksiyasiga (elutsiyasiga) asoslangan. Moddalarni ajratib olish pastga qarab xromatografiya usulida qog'ozdan o'tuvchi erituvchi yordamida amalga oshiriladi. Moddalarni elutsiya qilishning yana bir usuli ham mumkin: qog'oz har bir nuqtaga mos keladigan bo'laklarga bo'linadi va moddalar mos erituvchi bilan chiqariladi. Olingan eritmalaridagi tahlil qilingan moddalar an'anaviy analitik usullar (spektrofotometriya, ftorometriya va boshqalar) bilan aniqlanadi.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC; ilgari yuqori bosimli suyuqlik xromatografiyasi) - aralashmadagi komponentlarni ajratish, aniqlash va dozlash uchun analitik kimyoda qo'llaniladigan usuldir. Uning asosiy konstruktiv xususiyati qattiq adsorbent materialdan tayyorlangan statsionar faza bo'ylab mobil fazani yuqori bosim bilan siqib chiqaradigan nasoslardir. Namunadagi har bir komponent adsorbent moddasi bilan turlicha reaksiyaga kirishadi, shuning uchun ular ustun bo'ylab turli tezlikda harakatlanib, aralashmaning ajralishiga olib keladi.

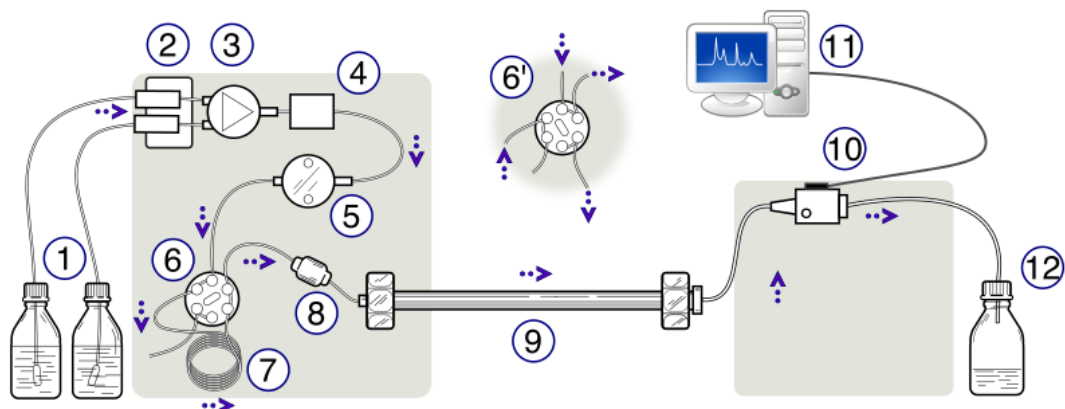
Yuqori samarali suyuqlik xromatografiya ko'p maqsadlarda qo'llaniladi: sanoatda (masalan, dori va oziq-ovqat mahsulotlarini o'rganish uchun), qonunchilikda (masalan, dopingni aniqlash uchun), tadqiqotda (masalan, murakkab biologik materialning tarkibiy qismlarini ajratish uchun) va tibbiyot uchun (masalan, qon testlari) (7.1-rasm).



7.1- Yuqori samarali suyuqlik xromatografiya

Xromatografiya-bu massa o'tkazuvchanligi bilan adsorbsiya. Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyaning asosiy qismi namuna va erituvchi aralashmasini qattiq adsorbent bilan to'ldirilgan ustun orqali siqib chiqaradigan nasoslar bo'lib, bu ularning turli tezliklarda harakatlanishi va ajralishiga olib keladi. Ustunning faol komponenti adsorbent, **statsionar faza** va qattiq, donador materialdir (masalan, kremniy yoki polimerlar), ko'pincha o'lchami 2-50 mkm. Komponentlarning ajralish sababi ularning adsorbent moddasi bilan turlicha o'zaro ta'siridir. Bosim ostidagi suyuqlik ko'pincha erituvchilar aralashmasidir (masalan, suv, asetonitril, metanol, suyultirilgan mineral kislotalarning suvli eritmalari), namuna va erituvchi birgalikda **harakatlanuvchi faza** deb ataladi. Mobil fazaning tarkibi va harorati ajratish jarayonida juda muhim rol o'ynaydi, chunki u komponentlarning adsorbsiya jarayoniga ta'sir qiladi. Ushbu o'zaro ta'sirlarning ko'pchiligining tabiati fizik, masalan, gidrofobik, dipol-dipol, ionli o'zaro ta'sirlar yoki ularning kombinatsiyasi.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiya an'anaviy *past bosimli* suyuqlik xromatografiyasidan uning bosimi juda yuqori (50-350 atm. gacha) bo'lishi bilan farq qiladi va an'anaviy ustunli suyuqlik xromatografiyasida asosiy harakatlantiruvchi kuch tortishish hisoblanadi. Yuqori samarali suyuqlik xromatografiya tomonidan tahlil qilingan namunaning o'lchami juda kichik bo'lgani uchun uning ustun o'lchami ham kichik (diametri 2,1-4,6 mikron, uzunligi 30-250 mm). Yuqori samarali suyuqlik xromatografiya ustunlarining adsorbent zarralari ham juda kichik (2-50 mkm). Bunday o'lchovlar Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyaning aralashmalarni parchalash qobiliyatini ko'paytiradi va bu hozirgi kunga qadar eng ko'p qo'llaniladigan usuldir.



7.2-rasm. Yuqori samarali suyuqlik xromatografiya qurilmasining tuzilishi: Erituvchi moddalar bo'lgan idishlar (1), Solventni gazzizlantirish (2), Gradient klapan (3), Mobil fazani etkazib berish uchun aralashtirish idishi (4), Yuqori bosimli nasos (5), Injektor klapan "in" holatida (6), "Yuklash" holatida injektor klapan (6'), Namuna kiritish halqasi (7), Old ustun (himoya ustuni) (8), Analitik

ustun (9), Detektor (*masalan*, IR, UV) (10), Ma'lumot yig'uvchi (11), Qoldiq yoki fraksiya kollektori (12).

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiya qurilmasi odatda degasser, namuna oluvchi, nasos va detektordan iborat (7.2-rasm). Namuna oluvchi namunani harakatlanuvchi faza oqimiga yuboradi. Nasoslar harakatlanuvchi fazaning tarkibi va tezligini saqlab turadi. Va detektor ustundan chiqadigan oqimdagi ajratilgan komponentlar miqdoriga mutanosib signal beradi. Qurilma tahlil natijalarini chiqarish uchun raqamli mikroprotsessordan foydalanadi. Ba'zi yuqori samarali suyuqlik xromatografiya modellarida nasoslar vaqt o'tishi bilan harakatlanuvchi fazaning tarkibini o'zgartirishi mumkin, bunday oqimlarning tarkibi gradient oqimi deb ataladi. Eng ko'p ishlatiladigan detektorlar UV-Vis, yorug'lik chiqaradigan detektorlar (DAD) va massa-spektrometriya (MS) detektorlari. Ko'pgina yuqori samarali suyuqlik xromatografiya qurilmalari ham haroratni o'zgartirishga imkon beradi.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasini qo'llanish sohalari

Ajratilgan aralashmaning namunasi ustunning kichik hajmidan oqib o'tadigan mobil fazaning oqimiga kiritiladi. Namunadagi komponentlar adsorbent (statsionar faza) bilan boshqacha reaksiyaga kirishadi va shuning uchun ustun bo'ylab turli tezliklarda harakatlanadi. Har bir komponentning tezligi uning tabiatiga, statsionar fazaning tabiatiga va mobil fazaning tarkibiga bog'liq. Tahlil qiluvchi moddaning kolonnadan suzilishi (oqishi) uchun ketadigan vaqt sekinlashuv vaqti deyiladi. Agar bir xil analit bir xil sharoitlarda o'lchanadigan bo'lsa, u bir xil sekinlashuv vaqtini ko'rsatadi, shuning uchun undan analitni sifat jihatidan aniqlash uchun foydalanish mumkin.

Hozirgi vaqtda adsorbentning o'lchamlari va sirt xususiyatlariga ko'ra farq qiluvchi ko'plab turdagi ustunlar mavjud. To'ldiruvchi materialning zarralari qanchalik kichik bo'lsa, uning bo'ylab harakatlanuvchi fazani o'tkazish uchun zarur bo'lgan bosim shunchalik yuqori bo'ladi, ammo bu piksellar sonini oshiradi. Adsorbentlar ham hidrofobik, ham qutbli bo'lishi mumkin.



Yuqori samarali suyuqlik xromatografiya mahsulotlarini yig'uvchi aylanadigan fraksiya kollektori. Tizim *E. coli* bakteriyalarining plazma membranasidan Kompleks Ini ajratish uchun ishlatilgan. Ushbu fraktsiyani olish uchun taxminan 50 litr bakteriya ishlatilgan.

Ko'chma faza sifatida ko'pincha asetonitril, metanol kabi suvda eriydigan organik erituvchilarning aralashmalari ishlatiladi. Ba'zi HPLC usullari suvsiz mobil fazadan foydalanadi (normal fazali suyuqlik xromatografiyasi (NPLC)). Mobil fazaning suvli komponentida kislotalar (formik kislota, fosforik kislota, trifluoroasetik kislota, sirka kislota), tuzlar bo'lishi mumkin. Va mobil fazaning tarkibi tahlil (izokratik elyusiya) yoki o'zgarish (gradient elyusiya) vaqtida doimiy bo'lishi mumkin. Izokratik elyusiya ko'pincha juda boshqacha xususiyatlarga ega bo'lgan molekulalarni ajratish uchun ishlatiladi. Gravitatsion elutsiya jarayonida elutsiya ko'pincha past kuchli tarkibdan yuqori quvvatli tarkibga o'zgaradi. Harakatlanuvchi fazaning elutsiya kuchi uning tahlil qiluvchi moddalarni qanchalik tez harakatlanishini ko'rsatadi (ya'ni, sekinlashuv vaqti qisqa). Teskari fazali suyuqlik xromatografiyasida ishlatiladigan gradientli elyusiyaga misol sifatida 5% suv yoki suvli buferdagi asetonitril eritmasini 5-25 daqiqa ichida 95% gacha oshirish mumkin. Ba'zi gradient elyusiya dasturlarida harakatlanuvchi fazaning tarkibi ma'lum vaqt davomida doimiy bo'lib qolishi mumkin. Misol uchun, 5% li asetonitril eritmasini 1-3 daqiqa davomida infuzion qiling va keyin asta-sekin konsentratsiyani chiziqli funktsiya bilan 95% eritmaga oshiring.

Harakatlanuvchi fazaning tarkibi (**elyuent** deb ham ataladi) tahlil qiluvchi moddalar va statsionar faza o'rtasidagi o'zaro ta'sir kuchiga qarab tanlanadi, chunki tahlil qiluvchi moddalarni ajratish ularning ikki fazaga yaqinligi sababli taqsimlanishiga asoslanadi. Bu jarayon suyuqlik-suyuqlik ekstraksiyasiga o'xshaydi, ammo xromatografiya paytida bu jarayon uzluksizdir. Misoldagi suv/asetonitril gradientini ko'rib chiqaylik, bunda hidrofobik analizatorlar keyin elutsiya (kolonkadan oqib chiqish) sodir bo'ladi, chunki dastlab harakatlanuvchi fazadagi suv miqdori katta bo'ladi, keyin undagi organik erituvchi miqdori ortib borishi bilan hidrofobik analitlar mobil fazada ko'proq eriy boshlaydi.

Ustun to'ldiruvchining tabiatiga va namunadagi tarkibiy qismlarga qarab, mobil fazaga turli xil qo'shimchalar (masalan, kislotalar, tuzlar) qo'shilishi mumkin. Ko'pincha eng yaxshi taqsimotni beradigan vaziyatni aniqlash uchun bir nechta tajribalar o'tkaziladi. Bu jarayon *usul ishlab chiqish* deb ataladi.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyaning ixtiro bo'lish tarixi va rivojlanish

HPLC usuli paydo bo'lishidan oldin olimlar oddiy suyuqlik xromatografiyasidan foydalanganlar. Erituvchilarning tezligi faqat tortishish kuchiga bog'liq bo'lganligi sababli, bunday tizimlarning oqim tezligi juda past edi. Ba'zi topshiriqlar soatlab, ba'zan bir necha kun davom etdi. O'sha paytda gaz xromatografiyasi (GC) suyuq xromatografiyaga (LC) nisbatan kuchliroq usul hisoblangan, ammo yuqori qutbli, yuqori molekulyar og'irlikdagi biopolimerlarni

gaz bilan ajratish mumkin emas edi. GC biokimyogarlari uchun juda samarasiz bo'ldi, chunki ko'plab tahlilchilar yuqori haroratga toqat qilmaydilar. Natijada, yangi usullar taklif qilindi va yuqori samarali suyuqlik xromatografiyaning rivojlanishiga olib keldi.

1941-yilda Martin va Singxning fundamental ishlaridan so'ng, 1960-yillarda Kal Giddins, Jozef Xuber va boshqalar zarrachalar hajmini (zarralar o'sha paytda taxminan 150 mkm edi) va yuqori bosim bilan oqim tezligini kamaytirish orqali LC samaradorligini oshirish mumkinligini taklif qilishdi. 1960-yillarning o'rtalarida boshlangan ushbu farazlarga asoslangan keng ko'lamli tajribalar 1970-yillargacha davom etdi. Dastlabki tadqiqotlar LC qismlarini yaxshilashga intildi, natijada yuqori samarali suyuqlik xromatografiya qurilmalarini ishlab chiqishda katta rol o'ynagan yuqori gözenekli Zipax materiali paydo bo'ldi.

1970-yillarda ko'plab asboblari va qurilmalar ishlab chiqildi. Tadqiqotchilar turli xil nasoslar va injektorlar yordamida yuqori samarali suyuqlik xromatografiya tizimlarining original dizaynlarini ishlab chiqdilar. Ushbu tadqiqotlarda gaz kuchaytirgich nasoslari tez-tez ishlatilgan, chunki ular doimiy bosimni saqlab turishga qodir va muhrlanish va nazorat valflarini talab qilmaydi. Qurilmaning rivojlanishiga eng katta hissa Dupont IPD sanoat polimerlari bo'limi tomonidan qo'shildi. Misol uchun, ular birinchi bo'lib past hajmli gradient qurilmalarini ishlab chiqdilar va septik injektorlarni pastadirlari injektor klapanlari bilan almashtirdilar.

Asboblarni ishlab chiqish juda muhim bo'lsa-da, Yuqori samarali suyuqlik xromatografiya tizimlarining rivojlanishi ko'p jihatdan zarrachalar materiallarini ishlab chiqishga bog'liq. Gözenekli qatlamli zarrachalar paydo bo'lishi bilan, tadqiqotlar asosan mahsuldorlikni oshirish uchun ularning hajmini kamaytirishga qaratilgan. Biroq, xodimlarni qisqartirish ko'proq muammolarni keltirib chiqardi. Buning sababi shundaki, suyuqlik fazasini juda kichik zarrachalar bilan to'ldirilgan ustunlar orqali o'tkazish uchun katta bosim kerak va bunday ustunlarni bir tekisda to'ldirish katta muammo edi. Shuning uchun zarrachalar hajmi kamayganligi sababli u orqali harakatlanuvchi fazani o'tkaza oladigan qurilmani ixtiro qilish kerak edi.

Ushbu muammolar ultra yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasining (UHPLC) rivojlanishiga olib keldi. Ushbu usullarning zarracha hajmi 2 mikrondan kam, bosim esa 1200 atmosferaga yetishi mumkin.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) islash printslari

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) printsiplari yuqori bosimli tizimda statsionar faza va mobil faza yordamida aralashmaning tarkibiy qismlarini ajratishga asoslangan. HPLC yuqori aniqlik va sezgirlikni taklif etadi, bu uni murakkab aralashmalarni tahlil qilish uchun qimmatli texnikaga aylantiradi.

HPLCda ajratish jarayoni statsionar fazani o'z ichiga olgan ajratish ustunida sodir bo'ladi. Statsionar faza odatda donador materialdan tayyorlangan kichik gözenekli zarralardan iborat. Ushbu zarralar namuna komponentlari bilan o'zaro ta'sir qilish uchun katta sirt maydonini ta'minlaydi.

Ko'chma faza, ko'pincha erituvchi yoki erituvchi aralashmasi, yuqori bosim ostida ajratish ustunidan o'tkaziladi. Bunga tizim orqali mobil fazani haydash uchun zarur bosim hosil qiluvchi nasos yordamida erishiladi. Mobil faza namunani ustun orqali o'tkazish uchun mas'ul bo'lib, komponentlarni ajratish imkonini beradi.

Namunani mobil faza oqimiga kiritish uchun inyeksiya tizimi qo'llaniladi. Bu, odatda, zanglamaydigan po'latdan yasalgan kichik quvur yoki kapillyar bo'lgan namunali pastadirga ulangan valfni o'z ichiga oladi. Namuna shprints yordamida mobil faza oqimiga AOK qilinadi, bu ajratish ustuniga kirishdan oldin uni mobil faza bilan aralashtirishga imkon beradi.

Ustun ichiga kirgach, namunaning alohida komponentlari ustun bo'ylab har xil tezlikda o'tadi. Ushbu differentsial migratsiya har bir komponentning statsionar faza bilan turli darajada o'zaro ta'siri tufayli yuzaga keladi. Statsionar faza bilan kuchli o'zaro ta'sirga ega bo'lgan komponentlar uzoqroq saqlanadi va ustun bo'ylab sekinroq o'tadi, zaifroq o'zaro ta'sirga ega bo'lganlar esa ustun bo'ylab tezroq harakatlanadi.

Ajratish ustunidan o'tgandan so'ng, alohida moddalar tegishli detektor tomonidan aniqlanadi. HPLC-da har xil turdagi detektorlardan foydalanish mumkin, jumladan, UV / Ko'rinadigan yorug'lik detektorlari, sinishi indeks detektorlari, floresan detektorlari va massa spektrometrlari. Detektor ajratilgan komponentlarning kontsentratsiyasiga mutanosib signal hosil qiladi.

Keyin detektor signali kompyuterdagi HPLC dasturiga yuboriladi, u erda qayta ishlanadi va tahlil qilinadi. Dasturiy ta'minot xromatogramma hosil qiladi, bu vaqt funksiyasi sifatida detektor signalining grafik tasviri. Xromatogramma ajratilgan komponentlarga mos keladigan cho'qqilarni ko'rsatadi, bu ularni aniqlash va miqdorni aniqlash imkonini beradi.

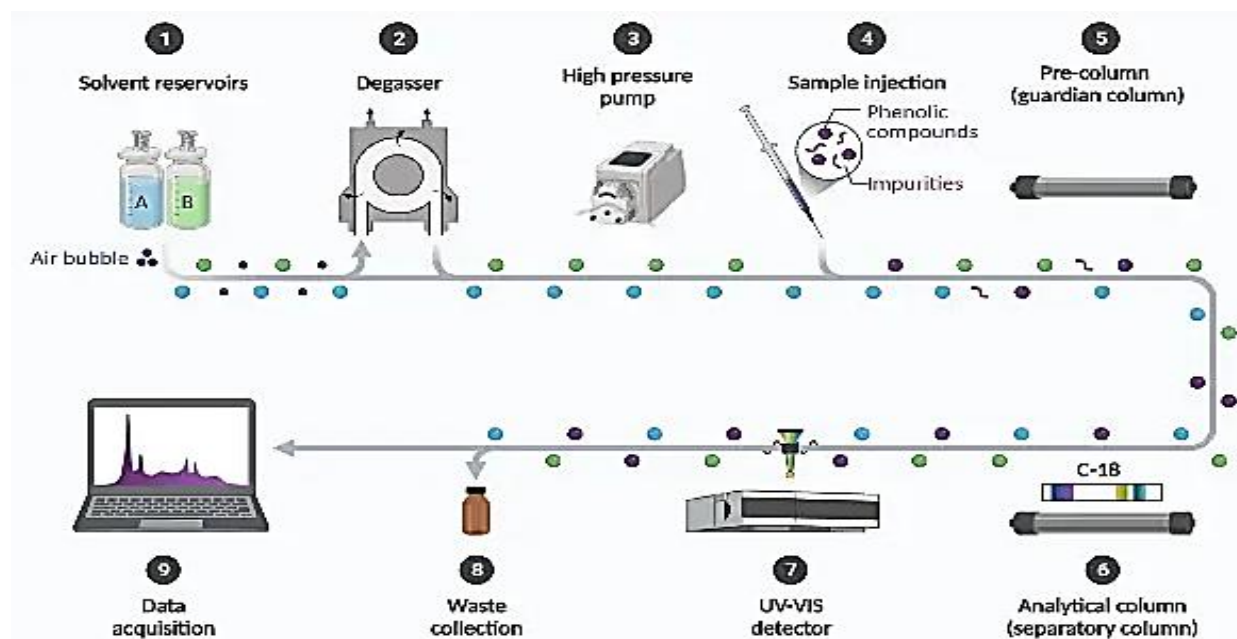
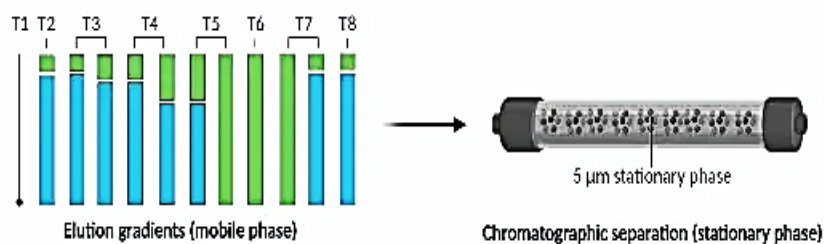
Xromatogrammadagi cho'qqilarni saqlash vaqtlarini ma'lum standartlar yoki mos yozuvlar birikmalari bilan taqqoslash orqali namunadagi alohida moddalarni aniqlash mumkin. Tepalik joylari yoki balandliklar aralashmada mavjud bo'lgan har bir komponentning miqdorini aniqlash uchun ishlatilishi mumkin.

Xulosa qilib aytganda, yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) printsipi yuqori bosimli tizimda statsionar faza va mobil faza yordamida aralashmadagi komponentlarni ajratishni o'z ichiga oladi. Statsionar faza bilan o'zaro ta'sir qilish orqali komponentlar ajratish ustuni orqali har xil tezlikda ko'chib o'tadi. Ajratilgan komponentlar tegishli detektorlar yordamida aniqlanadi va tahlil

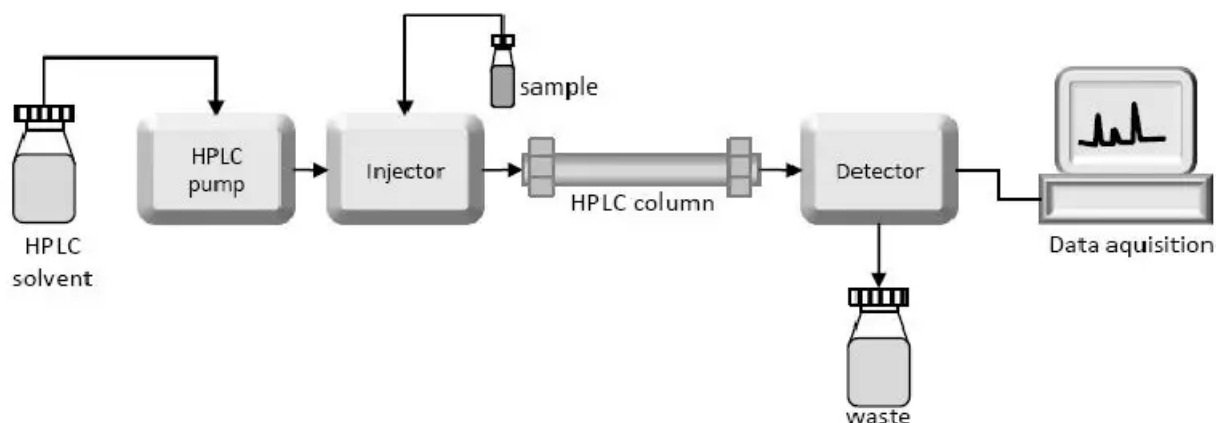
qilinadi va natijada olingan xromatogramma namunada mavjud bo'lgan moddalarni aniqlash va miqdorini aniqlash imkonini beradi.

Gradient elution is a technique that involves a **shift in the composition of solvents (A and B)** during a time course. It is used to improve the detectability of target compounds and reduce the length of the HPLC analysis.

T1 - T8 = elution gradients of solvent A and B at different time points.



Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi tahlilining tarkibiy qismlari va bosqichlari



Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) asboblari

Nasos

Nasos yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) tizimlarining muhim komponenti bo'lib, ajratish jarayonida ishlatiladigan mobil faza yoki erituvchi aralashmasi bo'lgan eluentning izchil va boshqariladigan oqimini yaratish uchun javobgardir.

HPLC ning rivojlanishi bilan nasos tizimining rivojlanishi texnikaning yuqori bosim talablarini qondirish uchun zarur bo'ldi. Nasos odatda suyuq xromatografiya tizimining eng yuqori qismida joylashgan bo'lib, erituvchi rezervuardan elementni tortib oladi va uni tizimga etkazib beradi.

HPLC nasoslarining asosiy talablaridan biri yuqori bosim hosil qilish qobiliyatidir. HPLC bilan bog'liq bosimlar maxsus dastur va ishlatiladigan ustunga qarab 50 dan 400 atmosferaga yoki undan ko'p bo'lishi mumkin. Nasos ushbu yuqori bosimlarni tahlil davomida doimiy ravishda ushlab turishga qodir bo'lishi kerak.

Yuqori bosim hosil qilishdan tashqari, nasos boshqariladigan va takrorlanadigan oqim tezligini ta'minlashi kerak. Oqim tezligi HPLCda muhim parametrdir, chunki u ajratish samaradorligiga va tahlil qilish uchun zarur bo'lgan vaqtga ta'sir qiladi. Nasos aniq va doimiy oqim tezligini ta'minlashga qodir bo'lishi kerak, bu aniq va takrorlanadigan natijalarga erishishga imkon beradi.

Hozirgi HPLC tizimlarida qo'llaniladigan ko'pgina nasoslar eluent oqimini yaratish uchun o'zaro piston mexanizmlarini qo'llaydi. Bu nasoslar eluentni tortib olish va chiqarish uchun motorli pistonning oldinga va orqaga harakatiga tayanadi. Bu o'zaro harakat pulsatsiyalanuvchi oqimga olib keladi, bu erda elyuent diskret impulslarda yuboriladi.

Pistonli nasoslar tomonidan ishlab chiqarilgan pulsatsiyalanuvchi oqim xromatografik ishlashga va detektor signalining barqarorligiga ta'sir qilishi

mumkin. Ushbu ta'sirlarni minimallashtirish uchun turli xil choralar ko'riladi. Misol uchun, nasosning o'zaro harakatidan kelib chiqadigan bosim o'zgarishlarini yumshatish orqali pulsatsiyalanuvchi oqimni kamaytirish uchun pulsatsiya amortizatorlari yoki impulsli amortizatorlardan foydalanish mumkin.

Zamonaviy HPLC nasoslari ko'pincha ish faoliyatini yaxshilash va pulsatsiyani kamaytirish uchun ilg'or texnologiyalar va dizayn xususiyatlarini o'z ichiga oladi. Bular yaxshilangan piston konstruksiyalari, optimallashtirilgan oqim yo'llari va murakkab boshqaruv tizimlarini o'z ichiga olishi mumkin. Ba'zi nasoslar an'anaviy pistonli nasoslarga qaraganda yumshoqroq va uzluksiz oqimlarni ta'minlaydigan ikki porshenli nasoslar yoki shprintsli nasoslar kabi alternativ nasos mexanizmlaridan foydalanishi mumkin.

HPLC tizimidagi nasos odatda xromatografiya dasturi tomonidan boshqariladi, bu oqim tezligini, bosimni va boshqa ish parametrlarini aniq nazorat qilish imkonini beradi. Dasturiy ta'minot ajratish va tahlil qilish uchun maqbul sharoitlarni ta'minlab, maxsus ajratish talablari asosida oqim tezligini o'rnatish va sozlash uchun ishlatilishi mumkin.

Xulosa qilib aytadigan bo'lsak, nasos HPLC tizimining muhim komponenti bo'lib, eluentning yuqori bosimli oqimini yaratish uchun javobgardir. U har qanday sharoitda barqaror bosimni ta'minlashi va boshqariladigan va takrorlanadigan oqim tezligini ta'minlashi kerak. Pistonli nasoslar odatda qo'llanilsa-da, bu nasoslar bilan bog'liq pulsatsiyalanuvchi oqimni minimallashtirishga harakat qilinadi. Nasos texnologiyasini ishlab chiqish va takomillashtirish HPLC ning kuchli tahliliy texnika sifatida rivojlanishi va keng tarqalishida muhim rol o'ynadi.

Injektor

Injektor yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) tizimlarining muhim komponenti bo'lib, nasosga ulashgan. Uning asosiy vazifasi namunani eluent oqimiga kiritish, uni mobil faza bilan aralashtirish va tahlil qilish uchun ajratish ustuniga kirish imkonini beradi.

Namuna in'ektsiyasining eng oddiy va eng ko'p qo'llaniladigan usullaridan biri shprints yordamida qo'lda in'ektsiya qilishdir. Ushbu usulda namunaning kichik hajmi shprintsqa tortiladi, so'ngra u tegishli vaqtda elyuent oqimiga kiritiladi. Qo'lda in'ektsiya ko'pincha bir nechta namunalarni tahlil qilish kerak bo'lganda yoki aniqlik juda muhim bo'lmagan holatlarda qo'llaniladi.

Shu bilan birga, muntazam va yuqori mahsuldorlikni tahlil qilish uchun avtonamuna oluvchi yoki avtomatik injektor tizimi bilan birgalikda namuna olish halqalaridan foydalanish afzalroq usul hisoblanadi. Namuna olish halqasi injektorga ulangan kichik naycha yoki kapillyardir. U namuna uchun rezervuar vazifasini bajaradi va namuna eritmasining aniq hajmi bilan to'ldiriladi.

Avto-namuna oluvchi yoki avtomatik injektor - bu HPLC-da keng tarqalgan bo'lib foydalaniladigan tizim bo'lib, belgilangan vaqt oralig'ida avtomatlashtirilgan va takroriy in'ektsiyalarni amalga oshirish imkonini beradi. Bu qo'lda in'ektsiya bilan solishtirganda yuqori aniqlik, samaradorlik va takror ishlab chiqarish imkonini beradi. Avtonamuna olish tizimi odatda namunali patnis yoki karuseldan iborat bo'lib, u erda bir nechta namuna flakonlari joylashtiriladi va namunalarni olib, ularni injektorga kiritadigan robot qo'l yoki shprints mexanizmi.

Inyeksiya jarayonida avtomatik namuna oluvchi shprints yoki boshqa mexanizm yordamida flakondan namunaning kerakli hajmini aniq aspiratsiya qiladi. Keyin namuna to'g'ridan-to'g'ri yoki namuna olish halqasi orqali elyuent oqimini yo'naltirish orqali elyuent oqimiga kiritiladi. Inyeksiya vaqti va ketma-ketligi HPLC dasturida dasturlashtirilishi mumkin, bu esa to'liq avtomatlashtirilgan va qarovsiz ishlash imkonini beradi.

Autosampler tizimidan foydalanish HPLC tahlilida bir qancha afzalliklarni beradi. Bu qo'lda ishlov berishni kamaytiradi va inson xatosi ehtimolini kamaytiradi, bu esa in'ektsiyalarning yuqori aniqligi va takrorlanishini ta'minlaydi. Bu, shuningdek, yuqori namuna o'tkazish imkonini beradi, chunki bir nechta namunalar doimiy va samarali tarzda in'ektsiya uchun tayyorlanishi va navbatga qo'yilishi mumkin.

Namuna olish davri va avtonamuna olish tizimiga qo'shimcha ravishda, boshqa in'ektsiya usullari maxsus ilovalarda yoki maxsus HPLC tizimlarida qo'llanilishi mumkin. Bular injektorga ehtiyoj sezmasdan namuna to'g'ridan-to'g'ri ustunga kiritiladigan ustunga in'ektsiya kabi usullarni yoki namunani aniq va boshqariladigan kiritish uchun mikrosuyuq kanallar va klapanlardan foydalanadigan mikrosuyuq tizimlarni o'z ichiga olishi mumkin.

Xulosa qilib aytadigan bo'lsak, HPLC tizimidagi injektor tahlil uchun namunani eluent oqimiga kiritish uchun javobgardir. Shprints yordamida qo'lda in'ektsiya qilish past o'tkazuvchanlik yoki kamroq talab qilinadigan ilovalar uchun javob beradi. Biroq, avtomatik namuna olish tizimi bilan namuna olish halqalaridan foydalanish muntazam tahlil qilish uchun afzal qilingan usul bo'lib, avtomatlashtirilgan va aniq in'ektsiyalarni yuqori samaradorlik va takrorlanuvchanlikni taklif qiladi. Inyeksiya texnikasini tanlash tahlilning o'ziga xos talablariga va avtomatlashtirishning kerakli darajasiga bog'liq.

Ustun (kolonka)

Ustun yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) tizimlarining asosiy komponenti bo'lib, aralashmadagi komponentlarning haqiqiy ajralishi sodir bo'ladi. Ustun statsionar faza bilan differensial o'zaro ta'siri asosida tahlil qiluvchi moddalarni samarali ajratish uchun javobgardir.

Zamonaviy HPLC tizimlarida ustunlar odatda zanglamaydigan po'latdan yasalgan korpusda tayyorlanadi, ular chidamlilik va keng turdagi erituvchilar bilan mos keladi. Zanglamaydigan po'latdan yasalgan korpus mustahkamlik va korroziyaga chidamlilikni ta'minlaydi, bu ustun yuqori bosimlarga va HPLCda ishlatiladigan turli xil erituvchilarga bardosh berishga imkon beradi.

Ustun ichidagi qadoqlash materiallari samarali ajratishga erishish uchun juda muhimdir. An'anaviy ravishda silika asosidagi materiallar HPLC ustunlarida qadoqlash materiali sifatida keng qo'llanilgan. Silika katta sirt maydoni va turli funktsional guruhlarni taklif etadi, bu esa keng ko'lamli tahliliy moddalar uchun ajoyib ajratish imkoniyatlarini ta'minlaydi.

Silika dioksididan tashqari, polimer jellari ham HPLC ustunlarida qadoqlash materiallari sifatida keng qo'llaniladi. Polimer asosidagi materiallar kimyoviy barqarorlik, yuqori mexanik kuch va kengroq erituvchilar bilan moslik kabi afzalliklarga ega. Ular, ayniqsa, oqsillar va nuklein kislotalar kabi yirik biomolekulalarni ajratish uchun foydalidir.

Qadoqlash materialini tanlash maxsus ajratish talablariga va tahlil qiluvchi moddalarning tabiatiga bog'liq. Turli xil qadoqlash materiallari turli xil selektivlik, samaradorlik va barqarorlikni namoyon qilishi mumkin, bu esa turli ilovalarda moslashtirilgan ajratish imkonini beradi.

HPLCda ishlatiladigan eluent yoki mobil faza ajratish maqsadlari va tahlil qiluvchi moddalarning tabiatiga qarab farq qilishi mumkin. Eluentlar kislotalidan asosiy erituvchilargacha bo'lishi mumkin, bu esa turli turdagi birikmalarni ajratishda keng pH diapazoni va ko'p qirrali bo'lishga imkon beradi.

Eluentni tanlash ko'pincha tahlil qiluvchi moddalarning eruvchanligi, barqarorligi va erituvchi tizim bilan mosligiga asoslanadi. Eluent tarkibi kerakli ajratishga erishish va tahlil qiluvchi moddalarning ruxsatini maksimal darajada oshirish uchun ehtiyotkorlik bilan optimallashtirilgan.

Eluent bilan birga ustun HPLCda ajratish samaradorligi va selektivligini aniqlashda hal qiluvchi rol o'ynaydi. Ustun o'lchamlari, zarracha o'lchami va ustun uzunligi kabi turli omillar ajratish samaradorligiga ta'sir qilishi mumkin. Ushbu parametrlar aniq ajratish talablariga, piksellar sonini, tahlil qilish vaqti va tizim bosimi kabi muvozanat omillarini qondirish uchun ehtiyotkorlik bilan tanlanadi.

Detektor

Detektor yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) tizimlarining muhim komponenti bo'lib, ustun ichida sodir bo'ladigan tahliliy moddalarni ajratishni kuzatish va o'lchash uchun javobgardir.

Xromatografik ajratish vaqtida eluent yoki harakatlanuvchi faza ustun bo'ylab oqadi. Analit mavjud bo'lmaganda, eluentning tarkibi barqaror bo'lib qoladi. Biroq, tahlil qiluvchi moddalar ustundan o'tayotganda, ular statsionar faza

bilan o'zaro ta'sir qiladi va differentsial ushlab turish vaqtlarini boshdan kechiradi. Bu o'zaro ta'sirlar eluent tarkibida o'zgarishlarga olib keladi.

Detektorning asosiy vazifasi eluent tarkibidagi bu o'zgarishlarni o'lchash va ularni tahlil qilish va izohlash mumkin bo'lgan elektron signalga aylantirishdir. Detektor ajratilgan tahlil qiluvchi moddalarni yutish, sindirish indeksi, floresans yoki massa kabi noyob xususiyatlariga qarab aniqlaydi va miqdorini belgilaydi.

HPLC uchun har xil turdagi detektorlar mavjud bo'lib, ularning har biri tahlil qiluvchi moddalarni aniqlash va o'lchash uchun turli tamoyillardan foydalanadi. Ko'p ishlatiladigan detektorlardan ba'zilari:

UV / Ko'rinadigan yorug'lik detektori: Bu detektor absorbans spektroskopiyasi printsipli asosida ishlaydi. U detektor xujayrasidan o'tayotganda analitlar tomonidan UV yoki ko'rinadigan yorug'likni yutishini o'lchaydi. Absorbsiya signali analitning konsentratsiyasiga to'g'ridan-to'g'ri proportsionaldir.

Sinishi indeksi detektori: Bu detektor tahlil qiluvchi moddalar mavjudligidan kelib chiqqan eluentning sinishi indeksidagi o'zgarishlarni o'lchaydi. Bu, ayniqsa, kuchli ultrabinafsha nurlanishiga ega bo'lmagan analitlarni aniqlash uchun foydalidir. Sinishi ko'rsatkichi detektori nisbatan universal aniqlashni ta'minlaydi, ammo u boshqa turdagi detektorlarga nisbatan sezgir bo'lmasligi mumkin.

Floresan detektori: Bu detektor floresans xususiyatlarini ko'rsatadigan tahlilchilar tomonidan chiqarilgan floresansni o'lchaydi. U ma'lum bir to'lqin uzunligi bilan tahlil qiluvchi moddalarni nurlantirish va boshqa to'lqin uzunligida chiqarilgan floresansni aniqlash orqali ishlaydi. Floresan detektorlari floresan birikmalar uchun yuqori sezuvchanlik va selektivlikni ta'minlaydi.

Mass spektrometri: Mass-spektrometriya (MS) detektorlari juda sezgir va o'ziga xos bo'lib, ajratilgan analitlar haqida tizimli ma'lumot berishga qodir. Ular tahlil qiluvchi moddalarni ionlashtiradi va hosil bo'lgan ionlarning massa-zaryad nisbatini (m/z) o'lchaydi. Mass-spektrometrlar yuqori aniqlikdagi aniqlashni taklif qiladi va analitlarni identifikatsiyalash va miqdorini aniqlash uchun HPLC bilan birlashtirilishi mumkin.

Bu HPLC da qo'llaniladigan detektorlarning bir nechta misollari. Elektrokimyoviy detektorlar, bug'lanish yorug'lik tarqalishi detektorlari (ELSD) va o'tkazuvchanlik detektorlari kabi boshqa turdagi detektorlar ham mavjud bo'lib, ular maxsus ilovalar yoki analit sinflari uchun mos bo'lishi mumkin.

Detektorni tanlash tahlil qiluvchining xossalari, talab qilinadigan sezuvchanligi, selektivligi va tahlilning tabiati kabi omillarga bog'liq. Murakkab namunalarda tahlil qiluvchi moddalarni aniqlash va tavsiflashni yaxshilash uchun turli detektorlar alohida yoki birgalikda ishlatilishi mumkin.

Yozuvchi

Ma'lumotlar protsessori yoki integrator sifatida ham tanilgan yozuv qurilmasi detektor tomonidan ishlab chiqarilgan elektron signallarni olish, tahlil qilish va taqdim etish uchun mas'ul bo'lgan yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) tizimlarining muhim tarkibiy qismidir.

Detektor tahlil qiluvchi moddalar mavjudligidan kelib chiqqan eluent tarkibidagi o'zgarishlarni aniqlaganda, ajratilgan komponentlar haqida ma'lumot olib yuruvchi elektron signal ishlab chiqaradi. Ushbu signal inson ko'ziga to'g'ridan-to'g'ri ko'rinmaydi va shuning uchun uni tahlil qilish va sharhlash mumkin bo'lgan formatga aylantirish uchun magnitafon yoki ma'lumotlar protsessoridan foydalaniladi.

O'tmishda qalam (qog'oz) - diagramma yozish asboblari keng tarqalgan. Ushbu magnitafonlarda harakatlanuvchi diagramma qog'ozi va detektor signalining grafik tasvirini yaratish uchun qog'oz bo'ylab harakatlanadigan qalam mavjud edi. Chizma qog'ozi vizual tekshirish va tahlil qilish imkonini beruvchi ajratishning doimiy yozuvini ta'minlaydi.

Biroq, texnologiyaning rivojlanishi bilan kompyuterga asoslangan ma'lumotlar protsessorlari yoki integratorlari zamonaviy HPLC tizimlarida ko'proq tarqaldi. Ushbu ma'lumotlar protsessorlari qalam grafik yozuvchilariga qaraganda ko'proq moslashuvchanlik, aniqlik va ilg'or ma'lumotlarni tahlil qilish imkoniyatlarini taklif qiladi.

Kompyuterga asoslangan ma'lumotlar protsessorlari LC tizimlari uchun maxsus ishlab chiqilgan turli xil dasturiy ta'minot variantlari bilan jihozlanishi mumkin. Ushbu dasturiy ta'minot paketlari oddiy ma'lumotlarni yig'ishdan tashqari xususiyatlarni taqdim etadi, masalan, cho'qqiga moslashish, bazaviy tuzatish, avtomatik kontsentratsiyani hisoblash, molekulyar og'irlikni aniqlash va boshqalar. Ular ma'lumotlarni murakkab tahlil qilish imkonini beradi, bu esa detektor signallaridan mazmunli ma'lumotlarni olishni osonlashtiradi.

Bundan tashqari, ma'lumotlar protsessorlari ko'pincha xromatografik ma'lumotlarni samarali boshqarish va olish imkonini beruvchi ma'lumotlarni saqlash imkoniyatlarini taklif qiladi. Yozib olingan ma'lumotlar elektron ko'rinishda saqlanishi mumkin, bu tadqiqotchilar o'rtasida oson kirish va almashish imkonini beradi va ma'lumotlar yaxlitligi va kuzatilishini ta'minlaydi.

Ilg'or dasturiy ta'minot xususiyatlariga qo'shimcha ravishda, ma'lumotlar protsessorlari HPLC tizimining boshqa komponentlari, masalan, nasoslar va injektorlar bilan birlashtirilishi mumkin, bu butun xromatografik jarayonni uzluksiz boshqarish va sinxronlashtirish imkonini beradi.

HPLC tizimlarida ma'lumotlar protsessor yoki integratordan foydalanish bir qancha afzalliklarni beradi. Bu real vaqt rejimida xromatografik ajralishlarni

kuzatish, tahlil qiluvchi moddalarning aniq miqdorini aniqlash va ma'lumotlarni tahlil qilish imkoniyatlarini oshirish imkonini beradi. Dasturiy ta'minotga asoslangan xususiyatlar ma'lumotlarni yanada samarali va ishonchli talqin qilish imkonini beradi va keng qamrovli hisobotlar va natijalarni yaratishni osonlashtiradi.

Xulosa qilib aytganda, magnitafon yoki ma'lumotlar protsessori HPLC tizimlarida detektor tomonidan yaratilgan elektron signallarni ushlaydigan va tahlil qiladigan muhim komponent hisoblanadi. Qalam-chart yozuvchilari ilgari mashhur bo'lgan bo'lsa-da, kompyuterga asoslangan ma'lumotlar protsessorlari zamonaviy HPLC tizimlarida odatiy holga aylandi. Ushbu ma'lumotlar protsessorlari ma'lumotlarni yig'ish, tahlil qilish va sharhlash uchun ilg'or dasturiy ta'minot imkoniyatlarini taklif etadi, bu esa HPLC tahlilida samaradorlikni, aniqlikni va avtomatlashtirishni oshirish imkonini beradi. Ma'lumotlar protsessoridan foydalanish tadqiqotchilarga xromatografik ma'lumotlardan qimmatli tushunchalarni olish imkonini beradi va ma'lumotlarni boshqarish va almashishni osonlashtiradi.

Degazator

Degasser yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) tizimlarining muhim komponenti bo'lib, u xromatografik tahlil paytida barqaror va shovqinsiz asosiy chiziqni ta'minlab, elyuentdan gazlarni olib tashlash uchun ishlatiladi.

HPLCda qo'llaniladigan mobil faza bo'lgan eluent, ba'zida kislorod kabi erigan gazlarni o'z ichiga olishi mumkin. Bu gazlar yalang'och ko'zga ko'rinmaydi, ammo tahlil paytida muammolarga olib kelishi mumkin. Eluentda gaz mavjud bo'lganda, bu havo pufakchalarining paydo bo'lishiga olib kelishi mumkin, bu esa eluent oqimi tezligining o'zgarishiga va xromatogrammada beqaror asosiy chiziqqa olib keladi.

Ushbu muammoni bartaraf etish uchun HPLC tizimida degasser qo'llaniladi. Degasser elimentdan gazlarni samarali olib tashlash uchun mo'ljallangan maxsus polimer membrana trubkasidan foydalanadi. Ushbu membran trubkasi odatda politetrafloroetilen (PTFE) yoki polietereterketon (PEEK) kabi materiallardan tayyorlanadi.

Degasserning membrana trubkasi uning yuzasida ko'plab juda kichik teshiklarni o'z ichiga oladi. Bu teshiklar kislorod kabi gaz molekulalarining o'tishiga imkon beradigan tarzda o'lchamda bo'lib, elyuentning suyuq fazasining teshiklarga kirishiga to'sqinlik qiladi. Eluent degasser orqali oqayotganda, erigan gazlar membrana trubasining teshiklari orqali tarqalib, ularni eliment oqimidan samarali ravishda olib tashlaydi.

Gazlarni olib tashlash orqali degasser havo pufakchalarini yo'q qilishga va eliment oqimini barqarorlashtirishga yordam beradi. Bu yanada izchil elyuent

tarkibiga va xromatogrammada barqaror asosiy chiziqqa olib keladi. Gaz bilan bog'liq shovqinning yo'qligi qiziqqan tahliliy moddalarni aniq aniqlash va miqdorini aniqlash imkonini beradi.

Degasser HPLC tizimining ajralmas qismi bo'lishi mumkin, odatda nasos yoki injektor oldida joylashgan. Ba'zi zamonaviy HPLC tizimlarida hatto xromatografik tahlilni sozlash va ishlashini soddalashtiradigan o'rnatilgan degasserlar ham mavjud.

Xulosa qilib aytganda, degasser erigan gazlarni eluentdan olib tashlash uchun ishlatiladigan HPLC tizimlarida hal qiluvchi komponent hisoblanadi. Kichkina teshiklari bo'lgan maxsus polimer membrana trubkasidan foydalangan holda, degasser kislorod kabi gazlarni eluent oqimidan samarali ravishda yo'q qiladi. Bu eluent oqimini barqarorlashtirishga yordam beradi, havo pufakchalari paydo bo'lishining oldini oladi va xromatografik tahlil paytida shovqinsiz asosiy chiziqni ta'minlaydi. Degasser barqaror va izchil eluent tarkibini ta'minlash orqali HPLC o'lchovlarining aniqligi va ishonchliligini ta'minlashda muhim rol o'ynaydi

Ustunli isitgich

Ustun isitgichi yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) tizimlarining muhim komponenti bo'lib, u xromatografik tahlil paytida ajratish ustunining haroratini nazorat qilish va ushlab turish uchun ishlatiladi.

Xromatografik ajratishning samaradorligi va selektivligida harorat muhim rol o'ynaydi. LC ning ajralishiga ko'pincha analitni ushlab turish, cho'qqi shakli va o'lchamlari kabi omillar ta'sir qiladi, bu esa ustun haroratiga katta ta'sir ko'rsatishi mumkin. Shu sababli, takrorlanadigan va ishonchli natijalarga erishish uchun barqaror va nazorat qilinadigan harorat sharoitlarini saqlash juda muhimdir.

Ustunli pech sifatida ham tanilgan ustunli isitgich, ajratish ustuni uchun boshqariladigan muhitni ta'minlaydi. Bu haroratni aniq tartibga solishni ta'minlashda ustunni yopish va himoya qilish uchun mo'ljallangan. Ustunli isitgich odatda ustunni o'rab turgan termal izolyatsiyalangan bo'linmadir.

HPLC da ustun haroratini nazorat qilish muhimligining bir necha sabablari bor:

Qayta ishlab chiqarish: izchil va takrorlanadigan natijalarni olish uchun tahlil davomida doimiy haroratni saqlash juda muhimdir. Haroratning o'zgarishi analitni ushlab turish vaqtlari va cho'qqi shakllarining o'zgarishiga olib kelishi mumkin, bu tahlilning aniqligi va aniqligiga ta'sir qiladi.

Optimal ruxsat: shakar va organik kislotalarni ajratish kabi ba'zi tahlillar uchun yuqori haroratlar (odatda 50 dan 80 ° C gacha) ruxsat va ajratish samaradorligini oshirishi mumkin. Ustunli isitgich ustunni istalgan haroratga qizdirish imkonini beradi, termal sezgir birikmalarning ajralishini kuchaytiradi.

Samaradorlik va selektivlik: Harorat mobil faza va statsionar faza o'rtasidagi muvozanatga ta'sir qilishi mumkin, bu esa analitni ushlab turishga ta'sir qiladi. Ustun haroratini nazorat qilish orqali ajratishning samaradorligi va selektivligini optimallashtirish mumkin, bu esa eng yuqori piksellar sonini yaxshilashga va ajratishning yaxshi ishlashiga olib keladi.

Ustunli isitish moslamasi haroratni nazorat qilish mexanizmlari bilan jihozlangan, bu esa ustun haroratini aniq tartibga solish imkonini beradi. Bunga isitish elementlarini, masalan, rezistorli isitish batareyalari yoki Peltier elementlarini qo'llash orqali erishish mumkin, ular ustunli pechning ichidagi haroratni aniq nazorat qilishni ta'minlaydi.

Haroratni nazorat qilish tizimi odatda haroratni nazorat qilish moslamasiga yoki dasturlashtiriladigan mantiqiy tekshirgichga (PLC) ulanadi, bu foydalanuvchiga ustun uchun kerakli haroratni o'rnatish va sozlash imkonini beradi. Harorat sozlagichi o'rnatilgan haroratni nazorat qiladi va ushlab turadi, tahlil davomida ustunning belgilangan haroratda qolishini ta'minlaydi.

Xulosa qilib aytganda, ustunli isitgich yoki ustunli pech HPLC tizimlarida ajratish ustuni uchun boshqariladigan muhitni ta'minlaydigan muhim komponent hisoblanadi. Bu haroratni aniq tartibga solish imkonini beradi, xromatografik tahlil paytida izchil va takrorlanadigan harorat sharoitlarini ta'minlaydi. Ustun haroratini nazorat qilish orqali optimal ajratish samaradorligi, selektivlik va ruxsatga erishish mumkin. Ustunli isitgich HPLCning aniq va ishonchli natijalarini olishda, ayniqsa harorat o'zgarishiga sezgir bo'lgan yoki yaxshilangan piksellar sonini oshirish uchun yuqori haroratni talab qiladigan tahlillar uchun muhim rol o'ynaydi.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) turlari

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) har biri alohida ajratish talablari uchun mo'ljallangan turli xil texnikalarni o'z ichiga oladi. HPLC ning keng tarqalgan turlaridan ba'zilari:

Oddiy fazali HPLC: Oddiy fazali HPLCda statsionar faza qutbli bo'lib, odatda silika kabi materiallar bilan o'ralgan. Boshqa tomondan, mobil faza qutbsizdir. Bu usul suvga sezgir birikmalar, geometrik izomerlar, cis-trans izomerlar va chiral birikmalarni ajratish uchun foydalidir.

Teskari fazali HPLC: Teskari fazali HPLC keng tarqalgan bo'lib qo'llaniladi va odatda C18 kabi materiallar bilan to'ldirilgan qutbsiz statsionar fazani o'z ichiga oladi. Mobil faza odatda suv va metanol yoki asetonitril kabi aralashadigan organik erituvchining aralashmasidir. Teskari fazali HPLC ko'p qirrali va qutbli, qutbsiz, ionlashtiriladigan va ionli birikmalarni ajratish uchun ishlatilishi mumkin.

Ion almashinuvi HPLC: Ion almashinuvi HPLC ion guruhlarini o'z ichiga olgan statsionar fazadan foydalanadi. Ko'chma faza bufer eritmasidan iborat bo'lib, anionlar va kationlarni statsionar faza bilan zaryad o'zaro ta'siri asosida ajratish imkonini beradi. Ion almashinuvi HPLC zaryadlangan turlarni tahlil qilish uchun foydalidir va odatda farmatsevtika va atrof-muhit tahlili kabi sohalarda qo'llaniladi.

HPLC hajmini istisno qilish (shuningdek, jel filtrlash yoki jel o'tkazuvchanlik xromatografiyasi sifatida ham tanilgan): Hajmi istisno qilish HPLC molekulalarni o'lchamiga qarab ajratadi. Statsionar fazada g'ovak o'lchamlari turlicha bo'lgan g'ovakli muhit mavjud. Kattaroq molekulalar teshiklarga kira olmaydi va shuning uchun avval elute qilinadi, kichikroq molekulalar esa g'ovaklarga tarqalib, keyinroq elute bo'lishi mumkin. O'lchamni istisno qilish HPLC odatda polimerlar, oqsillar va boshqa makromolekulalarning molekulyar og'irligini yoki hajmini taqsimlash uchun ishlatiladi.

Bular HPLC texnikalarining har xil turlariga bir nechta misollar. Boshqa o'zgarishlarga yaqinlik xromatografiyasi, gidrofil o'zaro ta'sir xromatografiyasi (HILIC) va chiral xromatografiya kiradi, ularning har biri alohida ajratish muammolari uchun noyob imkoniyatlarni taklif qiladi. HPLC texnikasini tanlash tahlil qiluvchi moddalarning tabiatiga, kerakli ajratish mexanizmiga va tahlilning o'ziga xos maqsadlariga bog'liq.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) qo'llaniladigan asosiy sohalari

Yuqori unumdor suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) ko'p qirrali tahliliy texnika bo'lib, keng doiradagi ilovalarni topadi. HPLC keng tarqalgan bo'lib qo'llaniladigan asosiy sohalardan ba'zilari:

Dori vositalarini tahlil qilish: HPLC dori vositalarining identifikatori, tozaligi va kontsentratsiyasini aniqlash uchun farmatsevtik tahlilda keng qo'llaniladi. Bu dori vositalarini ishlab chiqish, sifat nazorati va formulani tahlil qilishda hal qiluvchi rol o'ynaydi.

Sintetik polimerlarni tahlil qilish: HPLC sintetik polimerlarni tavsiflash, jumladan molekulyar og'irlik taqsimotini, polimer tarkibini aniqlash va aralashmalarni aniqlash uchun ishlatiladi. Bu plastmassa, qoplama va to'qimachilik kabi sohalarda muhim ahamiyatga ega.

Atrof-muhit tahlilida ifloslantiruvchi moddalarni tahlil qilish: HPLC atrof-muhit namunalarida, jumladan suv, havo va tuproqdagi ifloslantiruvchi moddalarni aniqlash va miqdorini aniqlash uchun ishlatiladi. Bu pestitsidlar, farmatsevtika va doimiy organik ifloslantiruvchi moddalar kabi ifloslantiruvchi moddalarni kuzatish imkonini beradi.

Dori vositalarini biologik matritsalarda aniqlash: HPLC farmakokinetik tadqiqotlarda qon, siydik va to'qimalar kabi biologik namunalardagi dori

konsentratsiyasini o'lchash uchun ishlatiladi. Bu preparatning so'rilishini, tarqalishini, metabolizmini va yo'q qilinishini tushunishga yordam beradi.

Qimmatbaho mahsulotlarni izolyatsiya qilish: HPLC tabiiy mahsulotlar, farmatsevtika oraliq mahsulotlar va biomolekulalar kabi qimmatli birikmalarni ajratish va tozalashda hal qiluvchi rol o'ynaydi. Bu maqsadli birikmalarni murakkab aralashmalardan ajratish imkonini beradi.

Mahsulotning tozaligi va sifatini nazorat qilish: HPLC mahsulotlarning tozaligi va sifatini baholash uchun sanoatda keng qo'llaniladi. Bu sanoat kimyoviy moddalari, nozik kimyoviy moddalar va iste'mol mahsulotlarining belgilangan standartlar va me'yoriy talablarga javob berishini ta'minlaydi.

Biopolimerlarni ajratish va tozalash: HPLC biopolimerlarni, shu jumladan oqsillarni, fermentlarni, nuklein kislotalarni va uglevodlarni ajratish va tozalash uchun ishlatiladi. Bu keyingi tahlil qilish yoki tadqiqot va biotexnologiya dasturlarida foydalanish uchun maxsus biomolekulalarni izolyatsiya qilish imkonini beradi.

Suvni tozalash: HPLC ifloslantiruvchi moddalarni olib tashlash va suv ta'minotini tozalash uchun suvni tozalash jarayonlarida qo'llaniladi. Bu mikroelementlar, organik birikmalar va dezinfektsiya qo'shimcha mahsulotlarini tahlil qilish va miqdorini aniqlash imkonini beradi.

Iz komponentining oldindan konsentratsiyasi: HPLC murakkab namunalardagi iz komponentlarini oldindan konsentratsiyalash uchun ishlatilishi mumkin, bu ularni past konsentratsiyalarda aniqlash va tahlil qilish imkonini beradi. Bu atrof-muhit, sud-tibbiyot va oziq-ovqat tahlilida ayniqsa muhimdir.

Ligand almashinadigan xromatografiya va ion almashinadigan xromatografiya: ligand almashinadigan xromatografiya va ion almashinadigan xromatografiya kabi HPLC usullari oqsillar, uglevodlar va boshqa biomolekulalarni zaryad xususiyatlariga qarab ajratish va tahlil qilish uchun ishlatiladi.

Bular HPLC ning turli xil ilovalariga bir nechta misollar. HPLC ning ko'p qirraliligi, sezgirliги va ishonchliligi uni turli ilmiy fanlar, jumladan kimyo, biokimyo, farmatsiya, atrof-muhit fanlari va boshqa ko'plab fanlarda ajralmas vositaga aylantiradi.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) afzalliklari

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) uni turli sohalarda keng qo'llaniladigan analitik texnikaga aylantiradigan bir qator afzalliklarni taqdim etadi. HPLC ning ba'zi asosiy afzalliklari:

Tezlik: HPLC tezkor tahlil qilish imkonini beradi, bu esa uni yuqori mahsuldorlikka ega ilovalar uchun mos qiladi. Asbob texnologiyasi va ustunlar

dizaynidagi yutuqlar bilan HPLC tez ajratish, tahlil vaqtini qisqartirish va laboratoriya samaradorligini oshirish imkonini beradi.

Samaradorlik: HPLC mukammal ajratish samaradorligini ta'minlaydi, bu yuqori cho'qqilik quvvatiga ega bo'lgan murakkab aralashmalarni ajratish imkonini beradi. Zamonaviy HPLC ustunlarida kichik zarracha o'lchamlaridan foydalanish va optimallashtirilgan ish sharoitlari yaxshilangan cho'qqi shakllariga va yaqindan bog'liq birikmalarning yaxshiroq ajratilishiga olib keladi.

Aniqlik: HPLC kimyoviy komponentlarni aniqlash va miqdorini aniqlashda yuqori aniqlikni taklif etadi. U aniq va ishonchli o'lchovlarni ta'minlaydi, analitik natijalarning aniqligini ta'minlaydi. Bu farmatsevtik tahlil, atrof-muhit monitoringi va sanoat mahsulotlari sifatini nazorat qilish kabi turli xil ilovalarda juda muhimdir.

HPLC namunadagi komponentlar kontsentratsiyasini aniqlashda juda aniq. Bu past darajadagi, hatto murakkab matritsalarda ham maqsadli birikmalarning aniq miqdorini aniqlash imkonini beradi. Bu aniqlik farmatsevtik quvvatni sinash, nopoklik darajasini aniqlash va namunaning tozaligini baholash kabi ilovalar uchun zarurdir.

Ko'pchilik: HPLC ko'p qirrali texnika bo'lib, kichik molekulalar, yirik biomolekulalar, qutbli birikmalar, qutbsiz birikmalar va ionlashtiriladigan birikmalar kabi keng turdagi namunalar uchun qo'llanilishi mumkin. Muayyan analitlar uchun optimal ajratishga erishish uchun tegishli ustunni, statsionar fazani va mobil fazani tanlashda moslashuvchanlikni taklif qiladi.

Selektivlik: HPLC yuqori selektivlikni ta'minlaydi, bu o'xshash kimyoviy xususiyatlarga ega birikmalarni ajratish va tahlil qilish imkonini beradi. Murakkab matritsalarda ham selektiv ajralishlarga erishish uchun turli ustunlar kimyosi, statsionar fazalar va mobil fazali kompozitsiyalardan foydalanish mumkin. Bu selektivlik farmatsevtik tahlil, oziq-ovqat sinovlari va sud-tibbiyot tahlilida ayniqsa muhimdir.

Namuna muvofiqligi: HPLC suyuqliklar, qattiq moddalar, gazlar va murakkab aralashmalarni o'z ichiga olgan keng turdagi namuna matritsalarini sig'dira oladi. U namuna tayyorlash texnikasida moslashuvchanlikni taklif etadi va namunaning tabiatiga qarab to'g'ridan-to'g'ri in'ektsiya yoki ekstraktsiyaga asoslangan namuna tayyorlash usullariga imkon beradi.

Ta'sirchanlik: HPLC past konsentratsiyalarda birikmalarni aniqlash va miqdorini aniqlash imkonini beruvchi yuqori sezuvchanlikka erisha oladi. UV-Vis detektorlari, floresan detektorlari va massa spektrometrlari kabi sezgir detektorlardan foydalanish orqali sezgirlikni oshirish mumkin. Bu izlarni tahlil qilish, farmakokinetik tadqiqotlar va atrof-muhit monitoringi uchun foydalidir.

Avtomatlashtirish va mustahkamlik: HPLC tizimlari avtomatlashtirilgan bo'lishi mumkin, bu esa yuqori aniqlik va takror ishlab chiqarishni ta'minlaydi. Avtomatlashtirilgan namunalarni qayta ishlash, in'ektsiya qilish va ma'lumotlarni yig'ish qo'lda xatolarni kamaytiradi va namunani o'tkazish qobiliyatini oshiradi. HPLC tizimlari mustahkam va keng ko'lamli namunaviy yuklarni va ish sharoitidagi o'zgarishlarni bartaraf eta oladi.

Usulni ishlab chiqish va tasdiqlash: HPLC metodlarni ishlab chiqish va tekshirish uchun keng manbalarga ega yaxshi tashkil etilgan metodologiyani taklif etadi. Usullarni ishlab chiqish bo'yicha o'rnatilgan yo'riqnomalar va protokollar mavjud bo'lib, ishlab chiqilgan usullar ishonchli, takrorlanuvchan va me'yoriy talablarga mos kelishini ta'minlaydi.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) cheklovlari

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) bir qancha afzalliklarga ega bo'lsa-da, hisobga olinishi kerak bo'lgan ma'lum cheklovlar ham mavjud. HPLC ning ba'zi asosiy cheklovlari:

XARAJATLAR: HPLC amalga oshirish va saqlash uchun qimmat texnika bo'lishi mumkin. Buning uchun maxsus uskunalar, jumladan, yuqori bosimli nasoslar, detektorlar va ustunlar kerak. Bundan tashqari, organik erituvchilar va sarf materiallaridan foydalanish HPLC tahlillarini o'tkazishning umumiy narxiga hissa qo'shishi mumkin.

Murakkablik: HPLC murakkab texnika bo'lib, usulni ishlab chiqish, asboblardan foydalanish va ma'lumotlarni sharhlash bo'yicha tajribani talab qiladi. Ajratish shartlarini optimallashtirish, tegishli statsionar fazalar va mobil fazalarni tanlash va yuzaga kelishi mumkin bo'lgan muammolarni bartaraf etish, ayniqsa, murakkab namunalar uchun qiyin va ko'p vaqt talab qilishi mumkin.

Ta'sirchanlik: HPLC ko'p birikmalar uchun yuqori sezuvchanlikka erishishi mumkin bo'lsa-da, ba'zi birikmalarni aniqlashda cheklovlar bo'lishi mumkin. Ba'zi birikmalar tanlangan detektor bilan yomon javob yoki namuna matritsasiidan shovqin tufayli past aniqlanishi mumkin. Buni sezgir detektorlar yoki namuna tayyorlash usullari yordamida engish mumkin.

Qaytarib bo'lmaydigan adsorbsiya: Ba'zi hollarda, ba'zi birikmalar statsionar fazaga yoki ustunli qadoqlash materialiga qaytarilmas tarzda adsorbsiyalanishi mumkin, bu esa yomon tiklanish va aniqlashga olib keladi. Bu to'liq bo'lmagan ajralishlarga yoki qiziqish analitiklarining yo'qolishiga olib kelishi mumkin. Tegishli statsionar fazalarni tanlash va ushbu cheklovni yumshatish uchun usulni optimallashtirishga alohida e'tibor berish kerak.

Uchuvchi moddalar uchun cheklangan qo'llanilishi: HPLC yuqori uchuvchi moddalarni tahlil qilish uchun tanlangan usul emas. Gaz

xromatografiyasi (GC) odatda namunani bug'lash va uni ajratish ustunidan o'tkazish qobiliyati tufayli uchuvchi birikmalarni ajratish va tahlil qilish uchun ko'proq mos keladi.

Uzoq tahlil vaqti: HPLC tahlili ba'zan boshqa xromatografik usullarga nisbatan ko'proq vaqt talab qilishi mumkin. Bu, ayniqsa, murakkab namunalar uchun yoki yaqin elutsiyali cho'qqilarni hal qilishda to'g'ri keladi. Ustun texnologiyasi va asboblarning samaradorligidagi yutuqlar tahlil vaqtlarini qisqartirgan bo'lsa-da, bu hali ham yuqori o'tkazuvchan ilovalar uchun e'tiborga olinishi mumkin.

Namuna matritsasi shovqini: HPLC biologik suyuqliklar yoki atrof-muhit namunalari kabi murakkab namuna matritsalarining shovqinlariga sezgir bo'lishi mumkin. Namuna komponentlarini yoki matritsa effektlarini birgalikda eyish tahlil qiluvchi moddalarni ajratish va aniqlashga ta'sir qilishi mumkin, bu esa noto'g'ri natijalarga olib keladi. Matritsa shovqinini yumshatish uchun namuna tayyorlash usullari yoki qo'shimcha namunani tozalash bosqichlari talab qilinishi mumkin.

IV. AMALIY MASHG'ULOTLAR MAZMUNI

1-mavzu: PZR usulda dori vositalari va ozuqa qo'shimchalarni GMM ga tekshirish.

Asimmetrik multipleks PSR tahlilini o'tkazish

amPSR uchun olingan reaksiyon aralashmalarni, mikrodozator yordamida 0,2 yoki 0,5 sm³ sig'imli toza mikrotsentrifuga probirkalarining har biriga 27 mm³ dan solinadi.

Ajratilgan tahlil qilinuvchi DNK mikrodozator yordamida amPSR uchun reaksiyon aralashmali mikrotsentrifuga probirkasiga 3 mm³ dan solinadi. DNK amplifikatoridan foydalanilganda, reaksiyon aralashmani amPSR suvli fazasida bug'lanishining oldini olish uchun, reaksiyon aralashmali mikrotsentrifuga probirkasining qopqog'ini qizdirmagan holda har biriga GOST 3164 bo'yicha 30 mm dan vazelin moyi solinadi. Bunday hollarda tahlil qilinayotgan DNK moy qatlami ostiga solinib, buning natijasida suvli va moyli faza yuzaga keladi.

Qolgan ikkita mikrotsentrifuga probirkasiga mikrodozator bilan 3 mm dan avval transgenlangan DNK (ijobiy nazorat) va avval transgenlanmagan DNK (salbiy nazorat) eritmasi solinadi.

Tayyorlangan aralashmali va tayyorlangan eritmali barcha mikrotsentrifuga probirkalarini DNK amplifikatoriga joylanadi hamda 2-jadvalda ko'rsatilgan dastur bo'yicha amPSR o'tkaziladi.

Dastur	Harorat °C	Inkubatsiya vaqti	Sikllar soni
1	95	5 min	1
2	95	30 s	37
	62	30 s	
	72	30 s	
3	72	5 min	1

Biologik mikrochipda gibridizatsiyalash

Zarur miqdordagi mikrotsentrifuga probirkalariga mikrodozator bilan tayyorlangan 24 mm gibridizatsiyalovchi bufer solinadi. So'ngra gibridizatsiyalovchi buferga amPSR o'tkazishda olingan PSR-aralashmasining 12 mm³ suvli fazasi qo'shiladi va chayqatuvchi apparatda 20—30 sek.davomida kamida 1500 min aylanish tezligida - gibridizatsiyalovchi aralashma olish uchun aralashtiriladi.

Har bir mikrotsentrifuga probirkalaridan mikrodozator bilan olingan 28 mm gibridizatsiyalovchi aralashma olinadi (har bir biologik mikrochip uchun), hamda barcha aralashmani biologik mikrochip sirtiga plastik qopqoq teshigi orqali joylashtiriladi. Gibridizatsiyalash termostatda [4] 37 °C haroratda 18 soat davomida o'tkaziladi.

Gibridizatsiyalashdan so'ng plastik qopqoqlar olinadi, har bir biologik mikrochipni GOST 6709 bo'yicha distillangan suv bilan 25 °C haroratda uch marta yuviladi va xona haroratida quritiladi.

O'simliklardan olingan genetik modifikatsiyalangan manbalarni identifikatsiyalash usuli sxemasi B ilovasida keltirilgan.

TAHLIL NATIJALARINI QAYTA ISHLASH

Tahlil qilinayotgan namuna uchun biologik mikrochipdagi duragaylash naqshini vizualizatsiya qilish "Chipdetector-03" [2] biologik mikrochiplarning lyuminessensiyasini tahlil qilish uchun apparat-dasturiy kompleks va "Imageware" [1] yoki "Bio-1" [23] kompyuter dasturi yordamida amalga oshiriladi.

(O'zgartirish).

Tahlil qilinayotgan namuna uchun kompyuter yekranida olingan duragaylash sxemasi musbat boshqaruv (transgenik DNK deb ataladi) va salbiy nazorat (transgen bo'lmagan DNK deb ataladi) uchun gibridizatsiya sxemasi bilan taqqoslanadi. Biologik mikrochipning gel hujayralarida amPCR floresan mahsulotlarining gibridlanish naqshining namunasi B ilovada keltirilgan. Immobilizatsiya oligonukleotidlari bo'lgan biologik mikrochipning gel hujayralarida yuqori darajadagi o'ziga xos lyuminessent signal mavjudligi (35S va nos promotorlari, ok terminatori, genlar gus yoki prIII uchun) o tahlil qilingan namunada o'ziga xos xorijiy DNK sekanslarining mavjudligi, ya'ni. O tahlil qilingan DNKning transgenligi. Gibridlanishdan so'ng biologik mikrochipning gel hujayralarida lyuminessent signallarning past darajasi, salbiy nazoratning fon lyuminessensiyasi darajasi bilan taqqoslanadigan, ammo Imageware dasturida belgilangan sezgirlik chegarasidan yuqori bo'lmaganligi, tahlil qilingan namunada

o'ziga xos xorijiy DNK sekanslari yo'qligini, ya'ni tahlil qilingan DNKning transgenligi yo'qligini ko'rsatadi.

Natijalarni taxlil qilish

Immobilizatsiya qilingan oligonukleotidlarni o'z ichiga olgan biologik mikrochipning bir, bir nechta yoki beshta jel hujayralarining Imageware dasturida ko'rsatilgan sezuvchanlik chegarasidan [1] oshib ketadigan yuqori darajadagi lyuminessensiyasi tahlil qilinayotgan mahsulotda genetik jihatdan o'zgartirilgan manbalar (GMO) mavjudligini ko'rsatadi.

Immunizatsiya qilingan oligonukleotidlarni o'z ichiga olgan biologik mikrochipning barcha beshta jel hujayralarining past darajadagi lyuminessensiyasi, bu salbiy boshqaruv yelementlarining fon lyuminesansiyasiga yaqin va Imageware dasturida ko'rsatilgan sezuvchanlik chegarasiga yetib bormaydi, tahlil qilinayotgan mahsulotda genetik jihatdan o'zgartirilgan manbalar (GMO) yo'qligini ko'rsatadi.

Transgen bo'lmagan DNK yordamida gel hujayralarining yuqori darajadagi lyuminessensiyasi noto'g'ri ijobiy natijani ko'rsatadi. Buning sababi GMO reaktivlari va / yoki jihozlarning ifloslanishi bo'lishi mumkin. Bunday holda, laboratoriya stollari va jihozlarning sirtlarini xlorid kislota ($1 \text{ mol} / \text{dm}^3$) yoritmasi bilan ishlov berish, reaktivlarni yangi tayyorlanganlari bilan almashtirish va tahlilni takrorlash zarur. Transgen bo'lmagan DNKdan foydalanganda takroriy tahlil davomida olingan gel hujayralarining past darajadagi lyuminessensiyasi o yakuniy bo'lgan ishonchli natija.

Ma'lum bo'lgan transgenik DNKdan foydalanganda lyuminessent signalning past darajasi (yo'qligi) noto'g'ri salbiy natijani ko'rsatadi. Buning sababi PSR uchun reaksiya aralashmasining tarkibiy qismlaridan birining faolligini yo'qotishi yoki PSR va / yoki biologik mikrochipda gibridizatsiya qilish shartlariga rioya qilmaslik bo'lishi mumkin. Bunday holda, reaktivlarni yangi tayyorlangan moddalar bilan almashtirish va tahlilni takrorlash kerak. Ma'lum transgenik DNKdan foydalanganda takroriy tahlil davomida olingan gel hujayralarining yuqori darajadagi lyuminessensiyasi ishonchli natijani ko'rsatadi, bu yakuniy hisoblanadi.

2-mavzu: Refraktometr yordamida yog'larni to'yinmaganlik darajasini aniqlash.

1. Yog' kislotalar tarkibini aniqlash.
2. Quruq moddalar miqdorini refraktometrda aniqlash.
3. Refraktometr yordamida suyuqlikning sindirish ko'rsatkichini aniqlash.

Ishning maqsadi: Refraktometriya tez aniqlaydigan usul bo'lib, nur sindirish ko'rsatkichini IRF-22-refraktometrida aniqlash va olingan natija asosida o'simlik moyining yod sonini hisoblash

Nazariy qism

Ma'lumki, agar yorug'lik nuri ikkita shaffof muhitning chegaralarini kesib o'tsa nur yunalishi sindirish qonuni buyicha o'zgaradi. Bu qonunga muvofiq tushish burchagi (i_1) va sinish burchagi (i_2) sinuslarining nisbati doimiy kattalikdir.

Tashqi sharoitlarni o'zgarishi moddaning zichligini va sindirish koeffitsientini ham o'zgarishga olib keladi. Odatda bu koeffitsient zichlik ortishi bilan o'sadi va harorat ko'payishi bilan pasayadi. Yog'lar va yog' kislotalarning to'yinmaganlik darajasi ortishi bilan sindirish ko'rsatkichi ko'payadi. Sindirish ko'rsatkichi nurning to'lqin uzunligiga bog'liqdir. nurning to'lqin uzunligi ortishi bilan hamma shaffof va rangsiz moddalarning sindirish koeffitsientlari kamayadi. Intensiv bo'yalgan moddalarni yaqin joylashgan chiziqlarda yutilishi ularni to'lqin uzunligi ko'payishi bilan ortadi. Bunday bog'lanish dispersiya deb ataladi.

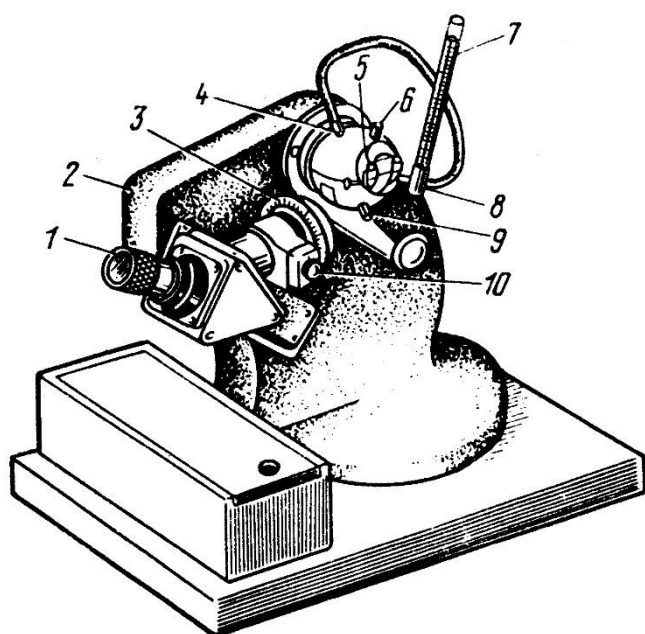
Aniq to'lqin uzunligiga ega bo'lgan nurning sindirish ko'rsatkichi, uni o'lchagan harorat va shu nurning to'lqin uzunligi bilan keltiriladi. Masalan. n_{480}^{25} - bu 480 nm ($4800 \text{ \AA}$) to'lqin uzunligiga ega bo'lgan zangori tushish chizig'i uchun 25°C haroratdagi sindirish ko'rsatkichini bildiradi.

Yog' va moylarni texnologik qayta ishlaganda sindirish ko'rsatkichining o'zgarishi ular sifatining o'zgarganligini ko'rsatadi.

Reaktiv va asboblari: 1- o'simlik moyi yoki qattiq yog'; 2-dietil efiri; 3-paxta; 4-refraktometr (IRF-22); 5-termometr; 6- termostat.

Ishni bajarish tartibi:

O'lchovchi prizma yuzasigaga shisha tayoqcha yordamida prizмага ziyon etkazmagan holda, bir necha tomchi eritilgan salomas yoki o'simlik moyi tomiziladi. Yorituvchi prizma extiyotkorlik bilan tushirilib, moyning prizmalar orasini to'ldirishiga e'tibor beriladi. Yorituvchi oynani shunday qo'yish kerakki, yorug'lik yorituvchi prizмага tushib, ko'rish qismini to'la yoritsin. O'lchovchi prizma atrofidagi o'lchovchi boshcha bo'shlig'iga issiq suv beriladi va termometr 7 bilan harorat nazorat qilinadi.



IRF - 22 refraktometrining umumiy kcrinishi

1-ko'rish trubasi;

2-korpus;

3- shkalali baraban;

7-termometr;

4,6,8,9-shtutserlar;

Refraktometrni chap tomonida joylashgan maxovik aylantirilib, o'lchovchi va yorituvchi prizmalarni bog'lami jildiriladi, ko'rish trubasi 1 dan nazorat qilib, yorug'lik soya chegaralari topiladi. Dispersiya kompensatori moslagichining 10 maxovigini aylantirib, bo'linish chegarasining bo'yalishi yo'qotiladi. So'ngra, refraktometr chap tomonida joylashgan maxovik bilan, bo'limlar chegaralari iplarni kesish nuqtasiga to'g'rilanadi va nur sindirish ko'rsatkichi uskunasi shkalasi bo'yicha aniqlanadi.

Tadqiqot harorat o'rnatilgandan so'ng 2-3 marta 0,0002 aniqlikda qaytariladi va o'rtacha qiymat olinadi. Nur sindirish ko'rsatkichi n_D^{0C} bilan ifodalanadi. Aniqlangan sindirish ko'rsatkichidan foydalanib, moy va yog'larning to'yinmaganlik darajasini ko'rsatuvchi yod soni quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$y.s. = (n_D^{60} - 1,4454)100/0,0111$$

QURUQ MODDALAR MIQDORINI REFRAKTOMETRDA ANIQLASH.

Uslubni mohiyati refraktometrni sindirish ko'rsatkichiga qarab, quruq moddalar miqdorini aniqlashdir. Agarda konserva mahsulotlaridagi quruq moddalar miqdorini refraktometr bilan aniqlashga maxsus ko'rsatma bo'lsa qo'llaniladi.

Refraktometrni tayyorlash

Refraktometrda ko'rish maydoni aniq qilib olish uchun to'g'ri burchakli prizma yorig'lik nuri tushadigan tomonga yuboriladi. Tushayotgan yorig'lik nurlari prizma yuzasidan oynani ma'lum hisoblashdan qaytadi. Refraktometrni nuqtasini o'rnatib olish uchun shisha tayoqcha bilan prizmaga bir tomchi distillangan suv tomiziladi. Bunda prizmani temperaturasida 20°C da ushlab turilib, okulyar orqali punktr chiziqli bir-biriga tushishi ko'rib olinadi yoki ko'rish doirasini markazi shkalani nol bo'linmasi kelganligi ko'riladi.

Agar punktr chiziq yoki doira markazi noldan 0,2% gacha to'g'ri kelmasa maxsus kalit orqali nolga keltiriladi. Kompensatorni yo'naltirish yo'li bilan ko'rish maydonining yorug' va qorong'ilik chegarasini aniq ajratib olinadi.

Pastki prizma yuzasini markaziy qismiga shisha tayoqcha bilan tekshirilayotgan suyuqlikdan bir tomchi tomiziladi prizmani yuqori qismini tekshirib, olib uni pastki qismi bilan jips qo'yiladi.

Agar tekshirilayotgan mahsulotni tarkibi qattiqroq bo'lsa, u holda ikki qavat taxlangan dokaga o'rab siqish yo'li bilan ikki uch tomchi shirasi olinadi va shirani bir tomchisini prizmaga tomiziladi.

Prizma yuqori qismini tushirib uni, harakatlantirib pastki qismi bilan jips holga olib kelinadi.

Prizmani mahkam qotirgandan so'ng, okulyar orqali jildirib ko'rish maydonini yorug' va qorong'u chegarasini aniq topib olinadi. Bu chegarani

shunday topinki, u punktr chiziqni ustiga tushsin shundan so'ng shkalani quruq moddalarning foiz miqdori topiladi. Refraktometrni ko'rsatishini aniqlayotganda tajriba o'tkazilayotgandagi haroratni bo'lib olish kerak, chunki shkalani ko'rsatish 20°S da haqiqiy bo'ladi. Agar aniqlash boshqa haroratda o'tkazilgan bo'lsa, tuzatish koeffitsientini kiritiladi.

Qora rangli mahsulotlarning tekshirilayotganda ulardan refraktometr prizmasiga solish uning suyuq qismini ajratib olish qiyin. Bunda quyidagicha qilinadi. Chinni kosalariga tekshirilayotgan mahsulotdan texnik tarozi yordamida 5-10 g olinadi (aniqlik 0,01g) namunaga bir xil miqdorda tozalangan qum solinadi (4 g atrofida) va namuna massasi bilan teng miqdorda distillangan suv qo'yiladi. Aralashmani tez ikki qavat qilib qo'yilgan dokaga solinadi, siqib olingan suyuqlikdan ikki tomchi refraktometr prizmaiga tomiziladi va ko'rsatkichi aniqlanadi.

Parallel olib borilgan tajribalar natijasining xatosi 0,2% dan oshmasligi kerak. Tajribaning so'ngi natijasi deb ikki parallel olib borilgan tajribaning natijalarini arifmetik qiymatini 0,01% aniqlikda hisoblanganligiga aytiladi. Quruq moddalar % miqdorini refraktometrik aniqlashda haroratda tuzatish koeffitsientini PL markali refraktometr uchun 10-30 g gacha berilgan ma'lumot jadvalidan hisoblanadi.

3-mavzu: Fotokolorimetr yordamida suyuqlikning yorug'likni yutilishi ko'rsatkichini aniqlash.

1. Fotometrik o'lchash texnikasi va asboblari.
2. KFK-2M asbobida ishlash tartibi.
3. Yorug'lik filtrini tanlash.
4. Darajalangan grafik metodi.
5. Fotokolometrik usul bilan eritmadagi temir ionlari miqdorini aniqlash

FOTOKOLORIMETR YORDAMIDA SUYUQLIKNING YORUG'LIKNI YUTILISHI KO'RSATKICHINI ANIQLASH.

Ishning maqsadi: Fotokolorimetr yordamida turli suyuqliklarning yorug'liqni yutilishi ko'rsatkichini aniqlash.

Kerakli asboblari:-Fotokolorimetr, turli suyuqliklar: sharob, pivo.

Nazariy qism

Fotometrik o'lchash texnikasi va asboblari.

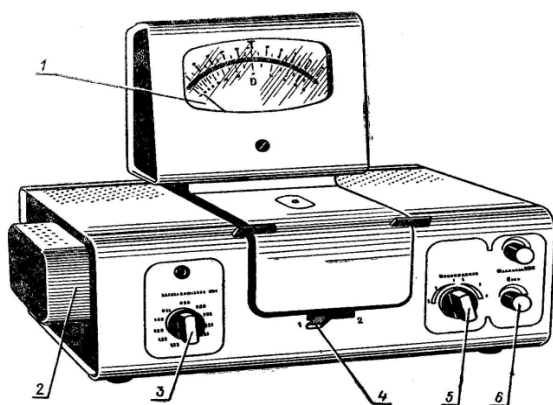
Eritmalar konsentratsiyasini fotometrik aniqlash usullari standart va tekshirilayotgan eritmalarning yorug'liqni yutilishi yoki o'tkazib yuborilishini taqqoslashga asoslangan. Tekshirilayotgan eritmaga yorug'likning yutilish darajasi fotokolorimetrlar va spektrofotometrlar yordamida aniqlanadi. Standart va tekshirilayotkan rangli eritmalarning optik zichligini o'lchash doimo taqqoslash eritmasiga nisbatan olib boriladi. Taqqoslash eritmasi (nol eritma) sifatida tarkibida aniqlanuvchi ion bilan rangli birikma hosil qiluvchi reagentdan tashqari barcha komponentlar bo'ladigan tekshiriluvchi eritmaning bir qismidan foydalanish mumkin.

Agar qo'shiluvchi reagent va taqqoslash eritmasining barcha boshqa komponentlari ham rangsiz bo'lsa va demak, spektrning ko'rinuvchi qismidagi nurlarni yutmaydigan suvdan foydalanish mumkin.

KFK-2M asbobida ishlash tartibi

Asbobda ta'minlash bloki va cho'g'lanish lampasi ulanganidan 15 - 20 minut o'tgach - asbob barq.aror ishlash rejimiga o'tgandan keyin o'lchashni boshlash mumkin. Asbob qiziyotgan vaqtida kyuvetalar bo'linmasi ochiq holda bo'lishi kerak. Bu holatda yorug'lik qabul qilgichlarga tushatgan yorug'lik oqimi parda bilan to'siladi va ular ishdan chiqishining oldi olinadi.

Eritmaning yorug'lik o'tkazishi yoki optik zichligi o'lchanadi. O'lchashda kyuvetaning qopqogining berk bo'ladi. Avvalo asbobning; «elektr nol» holati o'rnatiladi. Buning uchun dasta 4 ni burab (1 - pasmga q.), parda yordamida yorug'lik oqimining yo'li to'siladi.



1 – rasm. Fotokolorimetr KFK – 2M umumiy ko‘rinishi

Eritmadagi modda konsentratsiyasini aniqlash.

Quyidagilarga rioya qilish tavsiya etiladi:

1. Yorug‘lik filtrini tanlash.

Agar tekshirilayotgan eritmaning yutish spektr i noma’lum bo‘lsa, uning taxminiy ko‘rinishi quyidagicha aniqlanadi: Kyuvetani tekshirilayotgan eritma bilan to‘ldirib, uning optik zichligi barcha yorug‘lik filtrlaridan ketma-ket foydalanib o‘lchanadi. Olingan ma’lumotlar asosida $A = f(\lambda)$ bog‘lanish grafigi tuziladi (2-rasm). Spektrning optik zichlik maksimal qiymatga ega bo‘lgan va to‘lqin uzunligi o‘zgarganida kam o‘zgaruvchi sohasi tanlanadi.

Maksimal o‘tkazish sohasi ($\lambda_{\max}$) tekshiriluvchi eritma yutilish spektrining ko‘rsatilgan qismiga mos keluvchi yorug‘lik filtri tanlab olinadi. Agar, bu shartga bir necha yorug‘lik filtri mos kelsa, ulardan fotoelementning sezgirligi yuqori bo‘ladigani tanlanadi. Yorug‘lik filtrini eritmaning o‘lchangan optik zichligining eng katta qiymatiga qarab ham tanlash mumkin.

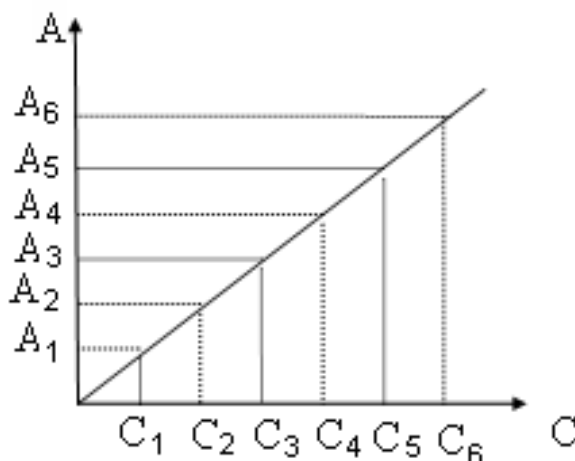
2. **Kyuveta tanlash** o‘lchanuvchi optik zichliklarning optimal diapazoniga bog‘liq. KFK-2M asbobida quyidagi kyuvetalar to‘plami bo‘ladi:

Kyuvetaning ishchi uzunligi, mm	50	30	20	10	5	3	1
Kyuvetaniig hajmi, ml	20	14	9	5	2,3	1,4	0,5

Darajalangan grafik metodi.

Bu metodda konsentratsiyasi ortib boradigan, 5-8 standart eritmada tayyorlanadi. Har bir nuqtaning optik zichligini o‘lchash uchun kamida 3 ta

parallel eritma tayyorlanadi. Eritmalarning optik zichliklari o'lchanib, "darajalangan grafik" deb ataladigan grafik tuziladi.



2-rasm. Darajalash grafigi

Mumkin qadar aniqlanayotgan eritmaning optik zichligi grafikning o'rtasiga tushgani ma'qul. Eritmaning optik zichligi A_x ni ordinata o'qidan, S_x ni esa abssissa o'qidan topib, eritmadagi modda miqdori (mg)ni $q_x = S_x V_{um} : V_1$ formula bilan hisoblanadi.

4-mavzu: Biologik faol kislotalarni faollik darajasini aniqlash.

1. Faol kislotalilikni aniqlash texnikasi.
2. Kraxmal miqdorini aniqlash.
3. Pektinlarni aniqlash

Biologik faol kislotalarni faollik darajasini aniqlash

Oziq-ovqat mahsulotlari aktiv mikroflorasining ahamiyati katta bo'lib, ular mikroflora tarkibi va xayotiga ta'sir etadi.

Faol kislotalilik yuqori bo'lgan mahsulotlarda mog'orli qo'ziqorinlar yoki drojjilar rivojlanishi mumkin holos va ularning buzilish darajasi past.

Substrat eritma sifatida pektin ishlatiladi. U bir kun oldin tayyorlab quyiladi.

Meva sabzavotlar xujayra suyuqliklarining faol kislotaliligi quyidagicha:

Tomatlarning pishgani	4,1-4,6	Nok	4,0-4,7
Tomatlar pishmagani	4,8	Olcha	3,3-4,1
Bodring	5,8-6,9	Olxo'ri	2,8-3,4
Oshqovoq	5,9	Gilos	3,7-3,8
Karam	6,0-6,3	Malina	3,1-3,5

Kartoshka	5,8-6,2	qulupnay	3,4-3,8
Piyoz	5,5-5,9	Uzum	3,0-3,5
Sabzi	5,8-6,3	Limon	2,1-3,2
qizilcha	5,9-6,3	Smorodina	-
Tarvuz	4,6-5,4	(qora)	3,3-3,6
qovun	6,0-6,9	(qizil)	3,0
Olma (shimol)	2,5-3,7	Klyukva	2,4
(janub)	3,6-4,6	Reven	3,1-4,6

25 g tortmani xavonchada maydalab, (200sm³ ga) 50sm³ bufer eritma quyiladi. Aralashmani 30 daqiqa ushlab turib suyuq qismi ajratiladi, qoldiqni 30sm³ bufer qo'yib holodilnikka 15 daqiqa qo'yiladi yana ajratib, qoldiqni distillangan suv bilan yuviladi. Abstrakt aralashmasi va yuvilgan suv 100sm³ kolbaga to'plab HCl bilan rN 4,7 ga tushiradi. Suv bilan kolba o'lchov chizig'iga etkazadi. O'lchov kolbasidan 20sm³ ekstrakti ikkita konik kolbaga solib 10sm³ substrat ko'shadi. Birga 50sm³ etanol qo'shib, qayta sovutgichga qo'yib suv qaynatiladi. Nazorat va tekshirish uchun kolbani 20°C da termostatga qo'yiladi. Inkubatsiya vaqti tugagandan so'ng 50sm³ etanol bilan suv hammomida 10daqiqa qaynatiladi, har bir kolbaga pastidan miqdorini aniqlanadi.

$$X_{v,t} = 100VCM/(1000m)$$

Bu erda:

V – titrlash uchun sarf bo'lgan NaOH miqdori sm³;

S – NaOH molyar konsentratsiyasi, mol/dm³;

M – sharob toshi molyar massasi 188 g/mol;

m – tortma og'irligi.

Faol kislotalilikni aniqlash texnikasi.

Oziq-ovqat mahsulotlarda aktiv kislotalilik GOST – 26-188-84 asosida aniqlanib, bu pH yordamida amalga oshiriladi. Tekshirilayotgan namunaga solinayotgan ikki elektrod potentsiallar farqi bo'yicha topiladi. Potensial aniqlik

va o'zgaras bo'lgan bir elektrod ikkinchisi uchun solishtirish uchun kerak rN tekshirilayotgan eritma pH ga bog'liq.

Jihoz shkalasi pH birligida graduirovka qilingan bo'lib, o'lchanayotgan kattalikni hisoblash imkonini beradi.

Tekshirishni o'tkazishdan oldin pribor elektrodlarini distillangan suvda yuviladi. Tayyorlangan quyuq yoki suyuq mahsulotdan elektrod solsa bo'ladigan qilib, namuna olinadi. Agar mahsulot quyuq bo'lsa uni ikki marta distillangan suv bilan eritiladi. Agar konserva quyuq va suyuq bo'lsa uni suyuq qismida pH ni aniqlashga ruxsat etilgan. Elektrodni tekshirilayotgan namunaga solib, jihaz ko'rsatkichi stabil bo'lgandan so'ng, shkaladan pH hisoblanadi. Tekshirish tugagandan so'ng elektrodni distillangan suvda yuviladi.

KARAXMALNI ANIQLASH

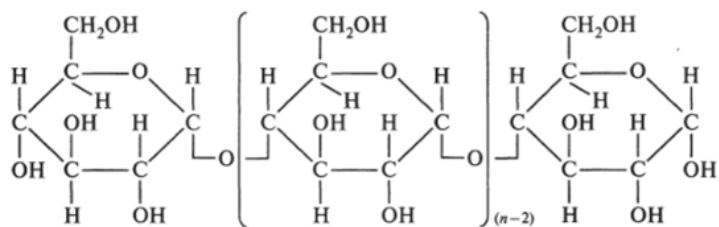
Kraxmal bir xil tuzilishga ega bo'lmagan amilopektin va amilazadan tashkil topgan polisahariddir. Ular o'simlikda donachalar shaklida uchraydi. Turli xil kraxmal turlari tarkibiy tuzilishi, eruvchanligi molekulyar massasi va boshqalari bilan farq kiladi, ammo har ikkisi ham polimerdir.

Kraxmalni fermentlar ta'sirida nordon sharoitlarda qizdirib parchalanadi. Buning uchun albatta amilaza va maltoza fermentlari bo'lishi kerak.

Kraxmalni aniqlanishi juda ko'p usullari mavjud. To'g'ridan-to'g'ri cho'ktirib tortish usuli (sirka, etilspirti) kolorimetrik (yodni bo'yash intensivligi orqali) va boshqalar. Bular kraxmalni glyukozagacha parchalashga asoslangan usullar bo'lib, ularning aniqlik darajasi juda ham yaxshi emas.

Kraxmalni bilvosita aniqlash usuli. Bu usulda mahsulotdagi shakarlarning umumiy miqdori (glyukozaga aylantirilganda) kraxmal gidroksidgacha va undan keyin topiladi. Ularning orasidagi farq gidroliz natijasida hosil bo'lgan glyukoza miqdorini beradi.

Kraxmal gidrolizi quyidagi tenglama bilan topiladi.



Glyukozani kraxmalga aylantirish koeffitsenti 0,9 ga teng.

To‘g‘ridan-to‘g‘ri aniqlash usuli – bu uslubda umumiy shakarlar miqdorini glyukoza, fruktoza, va saharozalarni sovuq suvda eritiladi. Bunday namuna yaxshilab ishlov beriladi. Olingan eritma sovuq suvda erimaydigan komponentlardan filtrlash orqali tozalanadi. Hidroliz yumshoq sharoitda olib boriladi, ya’ni kletchatka o‘zgarishsiz qoladi. Hidroliz qilish uchun foydalaniladigan fermentamilaza kraxmalga spetsifik ta’sir qiladi ammo boshqa poliozalar deyarli o‘zgarmaydi. Ammo amilaza o‘z ta’sirini maltoza va qisman deksterin hosil qilib tugatadi. Maltozani gidroliz qilish kerak bo‘ladi. Kislotalar ishtirokida qizdirib, so‘ngra kraxmal glyukozasini SuO bilan oksidlanadi. Glyukoza miqdori yodomertik uslub bilan eritmada qolgan mis miqdoriga qarab aniqlanadi.

Konservalardan olingan namuna ikki marta maydalangach yaxshilab aralashtirilib zich qopqoqli bankalarga joylanadi.

25 g og‘irlikdagi namuna (undagi kraxmal og‘irligi taxminan 1 gr bo‘lsa) 0,1 gr aniqlikkacha tortib $500\text{-}600\text{sm}^3$ li stakanga joylanadi. Unga aralashtirib turib, 300sm^3 issiq 8-10% li KOH ning spirtli eritmasi solinib qopqoqlabqaynayotgan suv hammomida namunani barcha suvda eriydigan qismi chiqib olguncha 1 soat davomida qizdiriladi (kraxmaldan tashqari) so‘ngra sentrifugalanib yoki filtrlab va kraxmalni filtrdan issiq 80% li etil spirti eritmasi bilan (rezinao‘rnatilgan shisha tayoqcha yordamida) yuvib olinadi. Filtr esa 250sm^3 stakangasolinib uni teshib, 100sm^3 issiq NCl (1mol/dm^3) bilan undan karaxmal stakanini yuvib cho‘kma bilan o‘tkaziladi.

Stakan yopilib va 2,5 soat suv hammomiga solinib qizdiriladi.

Gidrolizat sovutilgach 30% li NaOH yordamida, neytrallanadi va pH metrda nazorat qilinadi rN – 6,5 dan ortiq bo‘lmasligi kerak.

Neytrallagan eritma 100sm^3 kolbaga distillangan suv bilan o'tkaziladi, so'ngra unga oqsillarni cho'ktirish uchun eritmasidan 3 sm^3 solinib, aralashtirilib, yana 3 sm^3 rux oksid solib eritmani kolbaga chizig'igacha to'ldirib taxlangan filtrda filtrlanadi. Filtratni NaOH bilan neytrallab (indikator brommetil ko'ki) undagi glyukoza miqdori aniqlanadi.

Glyukoza mis oksidi bilan oksidlanadi. Segnet tuzi o'rnida kompleks hosil qiluvchi sifatida bitta spirt gruppasi tutuvchi 3 asosli limon kislota, ishqoriy muhit esa

Na_2CO_3 tomonidan hosil qilinadi.

Misning limon kislota bilan hosil qilingan kompleksi ishqoriy muhitda filtr suyuqligiga o'xshab qizdirilganda va reduksiyalanganda shakarlar ishtirokida hosil kilinadi. U esa shakarlarni oksidlaydi (bizni sharoitda glyukoza oksidlanadi).

Kraxmalni miqdorini aniqlash uchun jadval

Tiosulfat eritmasi miqdori sm^3	Kraxmal miqdori mg	Tiosulfat miqdori	Kraxmal miqdori mg	Tiosulfat miqdori	Kraxmal miqdori
1	2,8	6	17,1	11	32,3,
2	5,6	7	20,1	12	35,4
3	8,4	8	23,1	13	38,6
4	11,3	9	26,1	14	41,8
5	14,2	10	29,2	15	45,0

Krakhmalni Si oksidini ortiqcha miqdori yodometrik usulida aniqlandi. Bu reaksiyadagi ajralib chiqqan yod miqdori shakarni oksidlagandan keyin qolgan SiO ga ekvivalentdir.

Neytrallagan eritmaning 25sm^3 da $40\text{-}50\text{m}^2$ glyukoza mavjud bo'ladigan miqdordagisini ma'lum hajmgacha aralashma hosil kiladi. Undan 25 sm^3 olib 100sm^3 li ishiga solib, 25sm^3 mis oksidi hosil qiluvchi A,B,V, reaktivlardan solib uni qizdirib 25 min. davomida kaynashgacha etkaziladi. 10min. qaynatib 22°C gacha sovitib, kolba chizigigacha tuldiriladi undan 25 sm^3 eritma olinib, (yorqin ko'k) unga 30sm^3 yangi 10% li KU va 25sm^3 25%li HCl ($7,71\text{mol/dm}^3$) solinadi.

Reaksiyada ajralib chiqqan yod $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ eritmasi bilan titrlanadi ($0,1\text{mol/dm}^3$). Bir vaqtning uzida 25cm^3 eritma urniga 25cm^3 distillangan suv bilan reaksiya nazorat qilinadi.

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ eritmasini nazorat va tajriba variantlarini titrlash uchun sarfi orasidagi farq glyukozani oksidlanishi uchun ketgan mis oksidi miqdori ekvivalentdir. Farqni 4 ga ko'paytirib, (cho'kmani 100cm^3 eritmadan 25cm^3 olingan) yuqoridagi jadval orqali 25cm^3 gidrolizatdagi kraxmal miqdori topiladi.

Kraxmalni quyidagi formula bilan hisoblab topiladi.

$$X = 100AV_1V_3 / (1000mV_2)$$

Gidrolizni birinchi darajasida barcha uglevodlarni parchalangan mahsulotlari eritmaga o'tkaziladi (kletchatkadar tashqari). Buning uchun 5 gr mahsulot 2%li NSI eritmasida qaytaruvchi holodilnik ulangan kolbada 5 soat gidrolizlangach, asbest yoki shisha filtridan o'tkaziladi. Cho'kma esa distillangan suv bilan yuviladi 50°C da doimiy massagacha quritiladi. Yuqori harorat kletchatkani H_2SO_4 bilan shimdirishga halaqit beradi.

Qurtilgan cho'kma tigel bilan kolbaga qaytarib solingach, 10 hajmi 80% li H_2SO_4 bilan quyib, 2,5 soat xona haroratida saqlanadi, aralashtirib turiladi. 2,5 soat o'tgach unga har bir qism kislotaga 15 qism sovuq distillangan suv quyib 5 soatga qaytarish uchun holodilnik bilan suv hammomiga qo'yiladi. Sovitilgan glyukozali gidrolizat o'lchovli kolbaga filtrlanadi, filtr bir necha marta distillangan suv bilan yuvilgan kolba chizig'igacha to'ldiriladi. Gidrolizat soda yordamida neytrallangan glyukozani aniqlangach, kraxmal kabi kletchatkani miqdori 0,9 ga ko'paytirib topiladi.

5-mavzu: Vitaminlarni aniqlash usullari.

1. C vitaminini aniqlash.
2. B_1 vitaminini aniqlash.
3. B_6 vitaminini aniqlash

C vitaminini aniqlash

Erkin askorbin kislotasi tiklangan-gidroformasi, oksidlangan – degidroformasini namoyon qiladi, bu C vitaminining ikkala formasi biologik

aktivdir. Diaskorbin kislotasi inson organizmida muhim biologik funksiyani bajaradi.

Meva-sabzavotlarni qayta ishlashva saqlashda gidroaskorbin kislotasining oksidlanishi nazorat kilinadi. Bu jarayonning katalizatorlari – fermentlar va og‘ir metal ionlari hisoblanadi.

Askorbin kislotasining miqdorini aniqlashning asosiy metodi birikmasining eritmasidir. Ko‘proq 2,6 – dixlorenol Na tuzining tiklanish reaksiyasi qulaydir (tilmans bo‘yog‘i).

Tahlil o‘tkazish uchun o‘rtacha tekshiruv massada 5-50 (C vitaminining tutishini hisobga olib) texnoximik tarozida tortilgan 0,01 gr og‘irlikdagi tortmani chinni idishga 5-10 gr kvars qum bilan joylashtiriladi va ikki % li HCl da eritib, qo‘shimcha miqdorda 1 gr namunaga 3 sm³ qo‘shiladi.

Gomogen mahsulotni MT – 1 mayda mato yordamida tayyorlanadi. C vitaminni aniqlashda uning oksidlanishini pasaytirish uchun ekstrakti tez tayyorlash juda muhimdir. Idishdagi mahsulotni 50-100 sm³ li o‘lchov kolbasiga o‘tkaziladi, uning o‘lchov chizig‘igacha HCl eritmasi qo‘yiladi, aralashtiriladi va skatchato‘y filtr orqali filtrlanadi, ekstrakt 10 min davomida turishi mumkin. Suyuq mahsulotlarni tekshirishda tortmani tortish o‘rnida aniq hajmdagi pipetkada chegaralanish mumkin.

So‘ngra ekstrakt uzoq tajribaga yo‘naltiriladi. Buning uchun 50 sm³ sig‘imli konus kolbaga 1 dan 10 sm³ gacha ekstrakt (C vitaminining tutishiga karab)joylashtiriladi, 15 sm³ li hajmgacha distillangan suv qo‘shiladi va och binafsha ranggacha Tilmans bo‘yog‘i eritmasi bilan mikrobyuretka orqali titrlanadi. Yo‘qolmaslik vaqti 0,5-1min. titrlashni davom ettirish 2 min. dan oshmasligi kerak. Ekstrakt hajmini shunday hisobga olish kerakki, titrlashda Tilmans bo‘yog‘ining chiqishi 2 sm³ dan oshmasligi kerak.

Agarda tayyorlangan filtrat xira bo‘lsa, unda titrlashdan oldin hajmli kolbaga 20 g vitaminlar bilan to‘ldirilgan mahsulotni solamiz, yana shu joyga 150 sm³ HCl (0,1mol/dm³) shundan so‘ng 40min qaynayotgan suvli hammomda qaynatiladi. Shu vaqtda V₁vitamini bilan bog‘liq bo‘lgan kislotali gidroliz jarayoni bo‘lib o‘tadi. Ammo bu tiamin formasini to‘la biriktira olmaydi. Shuning uchun fermentli gidroliz qo‘shimcha holda o‘tkaziladi.

Fermentli gidroliz ham 250 sm³ sig‘imli o‘lchov kolbasiga 0,1 g amilorizin yoki 0,1gr dan pektin fermentli preparat va amilorizin solib termostatga qo‘yiladi. termostatdagi tempertura 37 °C ushlab turilishi kerak.

Bu tajriba, 12-14 soat davom etadi, so‘ng gidrolizat xona temperataturasida sovitiladi va distillangan suv holatiga olib kelinadi, aralashtirilib filtrlanadi.

Sabzavotlarni go‘sht bilan tayyorlanadigan konservalarni fermentli qayta ishlash boshqacha amalga oshiriladi. Oqsillarni biriktirishi uchun pepsin preparati

(0,1ml) ishlatiladi. Uni 37 °C° da 14soat kolbada ushlab turiladi, kislotali gidroliz kilinadi.

Gidrolizdan so'ng oqsillarni pH 4,2 – 4,7 olib kelinadi, unga (0,1ml) amilorizin solinib, va 37°C 12-16 soat gidroliz qilinadi. So'ng gidrolizat kolonkada kationit bilan KRS – 1p, KRS – 3pt40 yoki KRS – 8p (fraksiya 0,5-1,0mm) tozalanadi. Kationit tahlil qilishdan oldin vodorod formasiga keltiriladi. Buning uchun kolonka orqali 20sm³ kationit o'tkaziladi. Suvning hajmining 30sm³ gacha oshirish mumkin. Bir vaqtning o'zida nazorat reaktiv to'g'riligini tekshirish o'tkaziladi. Buning uchun konik kolbaga 1 sm³ HCl eritmasi ma'lum miqdorda distillangan suv, bir xil hajmda 2,6-dixlorfenomindofenil bilan och binafsha rang hosil bo'lguncha titrlanadi. Tilmans bo'yog'ini konsentratsiyasi- 0,001mol/dm³.

Gidroaskorbin kislotasining tutilishini quyidagi formula asosida hisoblanadi (100gr da mg)

$$X=100V_kCMV_l/1000(V_2m)$$

Bu yerda:

m – tortma og'irligi;

V_k- kationit sarfi

C – NaOH molyar konsentratsiyasi, mol/dm³;

M – Tilmans bo'yog'ini konsentratsiyasi- 0,001mol/dm³.

B₂- titrlashga ketgan 2,6-dixlorfenomindofenil hajmi.

V. KEYSLAR BANKI

«**Keys-stadi**» (**Case-study**) – modellashtirilgan va real vaziyatlarni echish va muxokama qilish uchun taxlillarga asoslangan, o‘qitish tizimi. “Keys-stadi” metodi o‘ziga individual, guxux va kollektiv rivojlanish o‘z ichiga olgan, rivojlanayotgan o‘qitish texnologiyasini integratsiyalaydi, bu esa o‘qitilayotganlarni shaxsiy sifatlarini shakllantiradi.

“Keys-stadi” metodi deganda o‘qitishning aktiv metodi tushuniladi, bunda o‘quvchilar guruxida vazifani muxokama qilishni o‘qituvchi tomonidan tashkillashtirishiga asoslanadi, bu vazifa o‘zida ma’lum yoki noma’lum aniq bir vaziyatni ifodalaydi.

Keysni muxokama va analiz qilishda “aqliy xujum” nomini olgan g‘oyalar ishlab chiqish metodi muxim o‘rin egallaydi. O‘qitish jarayonida “aqliy xujum” metodi ishtirokchilarning ijodiy faolligini rivojlantirishda muxim o‘rin egallaydi. “Aqliy xujum” 3 bosqichni o‘z ichiga oladi.

Birinchi bosqich psixologik tinch xolatga kirish, odatiy xolatni, kulgili va omadsiz ko‘rinishdan qo‘rqishni rad etishni o‘zida aks ettiradi; bunga qulay psixologik sharoit va o‘zaro ishonchni yaratish orqali erishiladi, fikrlar o‘z muallifligini yo‘qatganida, umumiyga aylanadi. Bu bosqichning asosiy vazivasi – tinchlantirish va erkin xolatga o‘tish.

Ikkinchi bosqich – bu xujumni o‘zi; bu bosqichning vazifasi – fikrlar oqimi, ko‘chkisini xosil qilish; bu bosqichda “aqliy xujum” qayidagi prinsiplar asosida amalga oshiriladi:

- fikr bo‘lsa – gapiraman, fikr bo‘lmasa – jim o‘tirmayman;
- istalgan fikr rag‘batlantiriladi, qanchalik kutilmagan fikr bo‘lsa, shuncha yaxshi;
- taklif qilingan fikrlar iloji boricha ko‘p bo‘lishi kerak;
- bildirilgan xamfikrlarni istalgancha birlashtirish, o‘zgartirish va yaxshilashga ruxsat etiladi;

- tanqid qilinmaydi, istalgan fikrni, yomon deb tan olishlaridan qoʻrqmasdan bildirish mumkin, tanqid qiluvchilarga soʻz berilmaydi;
- ishtirokchilarning ijtimoiy xolatining hech qanday ahamiyati boʻlmaydi, bu absolyut demokratiya va bir vaqtning oʻzida fikrlar avtoritarizmidir;
- barcha fikrlar - fikrlar roʻyxati bayonnomasiga yozib boriladi;
- soʻzlash vaqti – 1-2 daqiqadan oshmaydi.

Uchinchi bosqich quyidagi qoidalar boʻyicha, muammoni konstruktiv **yechimi** ni topish uchun fikrlarni ijodiy taxlil qilishni oʻzida aks ettiradi:

- barcha fikrlarni hech birini kamsitishsiz tahlil qilish;
- fikrga tizimdan mos joy topish va fikrga mos tizim topish;
- mohiyatni kerak boʻlmaganda oshirmaslik;
- olingan natijaning goʻzallik va nafisligi buzilmasligi lozim;
- mutlaqo yangi qarash boʻlishi kerak («axlatdagi dur»).

“Keys-stadi” metodi boʻyicha vazifa.

Mavzu: “Case-study – pedagog faoliyatining zamonaviy quroli”

Maqsad: Keys metodini qoʻllash orqali pedagogning professional maxoratini takomillashtirish zaruratiga ishonitirishni dolzarblashtirishga sharoit yaratish.

Vazifalar: 1. Keys-stadi interaktiv metodini pedagogning professional maxoratini takomillashtirishdagi ahamiyatini aniqlash.

2. Oʻrganilayotgan metodni oʻziga xosligi va uni professional oʻqitishni tashkillashtirish shartlarini aniqlash.

3. Pedagogik faoliyatga keys - stadini kiritish jarayonini modellashtirish.

Oʻqitishning samaradorligi:

- ishtirokchilar keys metodining oʻz faoliyatini takomillashtirish uchun interaktiv taʼsiri haqida fikrga ega boʻlishadi;
- kuzatuv, tajriba, oʻylash yoki fikrlardan olingan maʼlumotni tushunish, baxolash, taxlil va sintez qilishga tanqidiy yondashadilar, bu keyingi xarakatlarga asos boʻlib xizmat qiladi.

Muvaffaqiyat me'zonlari:

- pedagogik maxoratni oshirishning zaruratini tushunish;
- boshqarish strategiyasini isloh qilish zarurligida o'ziga ishonchni shakllantirish;
- professional mahoratni oshirish doirasida keys metodi haqida gi ma'lumotga ega bo'lish;
- amaliyotda o'quv jarayonini boshqaruvida ushbu interaktiv metodni qo'llashning muximligini isbotlay olish;
- o'quv-metodik faoliyatni zamonaviy asbobi (instrument) keys-stadi orqali rejalashtirish qobiliyati.

Asosiy g'oya: Case-studyinteraktiv metodining mohiyati. Pedagogning o'zini takomillashtirishi uslubiy xamkorlikni samaradorligini oshirishga imkon beradi.

Resurslar, materiallar va uskunalar : Flipchart, markerlar, stikerlar, qog'oz varaqlar, proektor va "Keys-stadi – interaktiv xamkorlik texnologiyasi" mavzusida taqdimot.

1-CASE Bu case stadi usulida ko'zlangan maqsad – Miqdoriy tahlilning zamonaviy usullarini o'rganish.

Biotexnologik ob'ektlardan ajratib olingan birikmalarni miqdoriy tahlilning zamonaviy usullari moddaning xususiyatlariga ko'ra tasniflanadi.

1. Namuna olish va namuna tayyorlash. Kimyoviy tahlilning muvaffaqiyati hal qiluvchi darajada namuna olish sifatiga bog'liq. Namuna bir qator talablarga javob berishi kerak.

Birinchidan, u tahlil ob'ektining vakili bo'lishi kerak, ya'ni namunaning tarkibi va tahlil ob'ektining butun partiyasi bir xil bo'lishi kerak. Namunani uning tarkibi materialning butun partiyasining tarkibiga mos keladigan tarzda olish kerak.

Ikkinchidan, namunada har qanday ifloslantiruvchi moddalar bo'lmasligi kerak - namuna olish moslamasidan emas, konteyner materiallaridan, havodan emas, saqlovchi reagentdan emas.

Uchinchidan, tahlil o'tkazilgunga qadar namuna barqaror bo'lishi kerak. Buning uchun uni ba'zan maxsus saqlash kerak. Undan hech qanday moddalar ajralib chiqmasligi va hech qanday moddalar namunaga kirmasligi kerak. Mumkin bo'lgan kimyoviy (oksidlanish, qaytarilish) yoki biokimyoviy (bakteriyalarni o'z

ichiga olgan) reaksiyalarni ham oldini olish kerak. Namunani tashish va saqlash jarayoni aniq hujjatlashtirilgan bo'lishi kerak.

To'rtinchidan, namuna tahlil qilish uchun etarli miqdorda taqdim etilishi kerak.

Namuna olish usullari, masalan, namunani qisqartirish, ko'p jihatdan tahlil qilinadigan materialga bog'liq.

Namuna olish tahlilning juda mas'uliyatli va muhim tayyorgarlik operatsiyasidir. Noto'g'ri tanlangan namuna natijalarni butunlay buzishi mumkin, bu holda keyingi tahlil operatsiyalarini bajarish odatda ma'nosizdir.

Oziq-ovqat xom ashyosi va oziq-ovqat mahsulotlarini tahlil qilish uchun namunalar olish oziq-ovqat xom ashyosi va oziq-ovqat mahsulotlarining alohida turlaridan namuna olishni tartibga soluvchi normativ hujjatlarga muvofiq amalga oshiriladi.

2.Tahlil uchun namuna tayyorlash.

Tahlil jarayonining ushbu bosqichi namunalarni o'lchash uchun tayyorlashdan iborat. Namunani tahlil qilish uchun tayyorlashning uchta asosiy bosqichi mavjud:

1) quritish. Quritish namunadan namlikni olib tashlash uchun ishlatiladi. Aniqlanishi kerak bo'lgan komponentning tarkibi odatda ma'lum sharoitlarda quritilgan namuna asosida hisoblanadi. Agar siz dastlab tanlangan materialning tarkibini o'rnatmoqchi bo'lsangiz, quritish paytida yo'qolgan massani aniqlashingiz kerak;

2) namunaning parchalanishi (ochilishi) (ko'pincha namunali eritmaning o'tkazilishi bilan). Namuna tayyorlashning ushbu usullari qattiq namunani eritmaga kiritish uchun ishlatiladi, bu ko'pincha keyingi tahliliy operatsiyalar uchun zarur bo'ladi, shuningdek namunadan ma'lum tarkibiy qismlarni olib tashlash uchun.

Namunalarni parchalash va uning tarkibiy qismlarini eritmaga o'tkazish usulini tanlash ob'ekt asosining (matritsasining) tabiatiga, namunaning kimyoviy tarkibiga va aniqlanayotgan komponentning kimyoviy xossalariga bog'liq. Shunday qilib, masalan, qonda, oziq-ovqat mahsulotlarida yoki qotishmalarda va minerallarda bir xil elementni (masalan, kobalt, sink yoki temir) aniqlashda namunani parchalash usulini tanlash ob'ektning tabiatiga bog'liq.

Parchalanish usullari uzoq vaqtdan beri "quruq" va "ho'l" ga bo'lingan: birinchisiga turli xil moddalar (tuzlar, oksidlar, ishqorlar va ularning aralashmalari) bilan termal parchalanish, sintez va sinterlash kiradi; bu tahlil qilingan namunaning turli erituvchilarda erishi. Namunani hazm qilish uchun erituvchi yoki reagentni tanlashda, keyinchalik qiziqtiradigan komponent(lar) ni aniqlashda AOK qilingan moddalarning aralashish ta'sirini hisobga olish kerak.

Ko'pincha namunani ochishning kombinatsiyalangan usullarini qo'llash

kerak: birinchi navbatda, olingan namunani kislota bilan ishlov berish qizdirilganda amalga oshiriladi, so'ngra erimagan qoldiq mos eritma bilan eritiladi;

3) aralashuvchi komponentlarning ta'sirini bartaraf etish. Tahlil qilinayotgan namunada, qoida tariqasida, aniqlanishi kerak bo'lgan komponent bilan bir qatorda, qiziqish elementini bevosita aniqlashni qiyinlashtiradigan begona yoki aralashuvchi moddalar mavjud.

Interferensiya qiluvchi komponentlarni yo'q qilishning ikki yo'li mavjud. Ulardan biri maskalashdir. Bu aralashuvchi komponentlarni endi aralashuvchi ta'sirga ega bo'lmagan shaklga tarjima qilishdir.

Belgilangan komponent kompleks hosil qilmaydi yoki uning barqarorligi juda past. Operatsiya to'g'ridan-to'g'ri tahlil qilinadigan tizimda amalga oshirilishi mumkin va aralashadigan komponentlar bir xil tizimda, masalan, bir xil eritmada qoladi.

Maskalash har doim ham mumkin emas, ayniqsa ko'p komponentli aralashmalarni tahlil qilishda. Bunda boshqa usul - moddalarni ajratish (yoki konsentratsiya) qo'llaniladi. Ajratish usuli aniqlanayotgan birikmaning fizik-kimyoviy xossalriga va aralashuvchi elementlarga qarab tanlanadi.

3. Miqdoriy o'lchov.

Miqdoriy o'lchovda analitik signalning intensivligi aniqlanadi, ya'ni tahlil qilinadigan komponentning miqdori yoki tarkibi bilan bog'liq bo'lgan xususiyatning raqamli qiymati. namuna munosabatlar tenglamasi yordamida hisoblanadi.

4. O'lchov natijalarini qayta ishlash.

Bu tahlilning yakuniy bosqichidir. O'lchangan signal qiymatlarini qayta ishlash va ularni analitik ma'lumotlarga aylantirish - moddaning tabiati va miqdori, uning kimyoviy tuzilishi yoki namunadagi fazoviy taqsimoti - tahlil jarayonining muhim qismidir. Natijalarni hisoblash oddiy formulalardan foydalanishga asoslangan va odatda fundamental qiyinchiliklarga olib kelmaydi. Analitik va kompyuter texnologiyalari o'rtasidagi to'g'ridan-to'g'ri interfeys tufayli, bu ishlarning aksariyati hozirda kompyuter tomonidan amalga oshiriladi. Biroq, bu qadam jiddiy e'tibor talab qiladi, chunki hisoblashdagi xato noto'g'ri natijaga olib keladi, ya'ni tahlil natijalarining to'g'riligini tekshirish va ularni analitik kimyogar tomonidan statistik usullar bilan baholash zarur bo'ladi.

Tahlilning haqiqiy natijasini hisoblashdan tashqari, olingan qiymatning xatosini hisoblash va keltirish kerak, chunki har qanday o'lchov natijasi, agar uning xatosi ma'lum bo'lsa, haqiqiy qiymatga ega bo'ladi.

Tahlilning barcha bosqichlari o'zaro bog'liqdir. Shunday qilib, sinchkovlik bilan o'lchangan analitik signal, agar namunani tanlash yoki tahlil qilish uchun tayyorlash to'g'ri bajarilmasa, aniqlangan komponentning mazmuni haqida to'g'ri

ma'lumot bermaydi. Aksariyat hollarda kimyoviy tahlil uchun namunalar aniqlaydi olingan natijalarning ishonchliligi va sifati, shuningdek, tahliliy tsiklning murakkabligi va davomiyligi.

Oziq-ovqat mahsulotlari ko'p komponentli tizimlar bo'lib, tadqiqot uchun juda murakkab ob'ekt hisoblanadi.

Oziq-ovqat mahsulotlarida mavjud bo'lgan barcha birikmalarni uch guruhga bo'lish mumkin. Birinchi guruh moddalar organizmning eng muhim funktsiyalarida ishtirok etadigan biologik kelib chiqishi organik va noorganik birikmalarning turli sinflari bilan ifodalanadi, bu moddalar oziq-ovqatning qimmatli tarkibiy qismidir. Oziq-ovqatning bir qismi bo'lgan va uning hayotiy faoliyatini ta'minlash uchun organizm tomonidan ishlatiladigan organik va noorganik moddalar oziq-ovqat deb ataladi.

Moddalar yoki oziq moddalar. Bularga makro- (oqsillar, yog'lar, uglevodlar, mineral tuzlar) va mikroelementlar (mikroelementlar, suvda va yog'da eriydigan vitaminlar) kiradi. Oziq-ovqat tarkibidagi oqsillar, yog'lar, uglevodlar, minerallar

Moddalar, shuningdek, boshqa biologik faol birikmalar oziq-ovqat mahsulotlarining ozuqaviy qiymatini belgilaydi.

Lekin unutmangki, oziq-ovqat har doim aralashmalarning ikkinchi guruhini ifodalovchi ifloslantiruvchi moddalarni (ifloslantiruvchi moddalar) o'z ichiga oladi. Kontaminantlar - bu texnologiyaning buzilishi tufayli atrof-muhitdan oziq-ovqatga tushadigan zaharli moddalar, parvarish qilish (oziqlantirish - hayvonlar uchun), oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarish yoki saqlash yoki boshqa sabablar. Ba'zida barcha zaharli moddalarga nisbatan "ksenobiotiklar" atamasi qo'llaniladi. Aslida ksenobiotiklar begona moddalardir.

Inson tanasi uchun (yunoncha lénos - begona va bios - hayot) va unda odatiy holatda topilmaydi. Ushbu moddalar nisbatan yuqori miqdorda salbiy ta'sirga olib kelishi mumkin. Bularga biologik yoki kimyoviy (antropogen) xarakterdagi ifloslantiruvchi moddalar kiradi. Biologik kelib chiqishi tabiiy ifloslantiruvchilar mikroorganizmlar, masalan, bakteriyalar va ularning toksinlari, mikotoksinlar, gelmintlar, viruslar va boshqalar. Texnogen kelib chiqadigan ifloslantiruvchi moddalarga zaharli metallar, radionuklidlar, pestitsidlar va ularning kiradi. metabolidlar, nitratlar, nitritlar va N-nitrozo birikmalar, polisiklik aromatik birikmalar, ftor birikmalari, qishloq xo'jaligi hayvonlarining o'sish stimulyatorlari (gormonlar, antibiotiklar), shuningdek, qadoqlash materiallaridan oziq-ovqat mahsulotlariga o'tadigan organik va noorganik birikmalar.

Va nihoyat, aralashmalarning uchinchi guruhi - bu juda ko'p miqdordagi oziq-ovqat qo'shimchalari. Oziq-ovqat qo'shimchalari - bu ma'lum texnologik effektlarga erishish uchun oziq-ovqat mahsulotlariga maxsus qo'shiladigan moddalar

1. Namuna olish va o'rtacha olish, mumkinmi? Agar mumkin bu jarayon qanday amalga oshadi?
2. Tahlil uchun namuna tayyorlash amalga oshadimi? Agar qanday amalga oshadi.
3. Miqdoriy o'lchov qanday o'lchanadimi? Agar o'chansa bu qanday amalga oshiriladi?
4. O'lchov natijalarini qayta ishlashda farqi nimada? Farqini ko'rsating

2-CASE

Bu case stadi usulida ko'zlangan maqsad – Biologik faol birikmalarni tahlil qilish xaqida ma'lumot berishdir.

Proteinlar yoki oqsillar (yunoncha prōtos - birinchi, eng muhim) molekulalari a-aminodan tuzilgan yuqori molekulyar (molekulyar og'irligi 5-10 mingdan 1 million yoki undan ko'pgacha o'zgaradi) tabiiy polimerlar deb ataladi. kislota qoldiqlari. Protein molekulasida aminokislotalar bir-biriga peptid bog'lari orqali bog'langan.

Proteinlar oziq-ovqatning eng qimmatli tarkibiy qismidir. Ular hujayralar va to'qimalarning hayotida katta rol o'ynaydi, barcha tirik mavjudotlarning eng muhim tarkibiy qismidir. Proteinlar tirik hujayraning tuzilishini yaratadigan asosiy materialdir.

Proteinlarning asosiy qiymati ularning boshqa oziq moddalar bilan ajralmasligidadir. Oqsillar tarkibiga (%) kiradi: uglerod (50,6-54,5), kislorod (21,5-23,5), azot (15,0-17,6, o'rtacha 16), vodorod (6,5 -7,3), oltingugurt (0,3-2,5), fosfor (0,5-0,6).

Proteinlarning tasnifi

Oqsillarning klassifikatsiyasi va nomenklaturasi ularning juda xilma-xilligi, fizik, kimyoviy xossalari va biologik funktsiyalaridagi farq tufayli to'liq ishlab chiqilmagan. Oqsillarni fizik-kimyoviy xossalari, biologik xossalari, kimyoviy va tuzilish xususiyatlariga ko'ra tasniflashga urinishlar bo'lgan. Biroq, ular muvaffaqiyatga erisha olmadilar, chunki bunday bir tomonlama yondashuvlar u yoki bu oqsillar guruhining to'liq tavsifini bera olmadi.

Bugungi kunga kelib, eng muvaffaqiyatli tasniflash oqsillarning xarakterli fizik-kimyoviy xususiyatlarining ma'lum kombinatsiyasi bilan tuzilish xususiyatlariga ko'ra ko'rib chiqilishi kerak. Ushbu yondashuvga asoslanib, barcha protein moddalari odatda bo'linadi oddiy (oqsillar) va murakkab (oqsillar).

Oddiy oqsillar tarkibiga faqat polipeptid zanjirlarini o'z ichiga olgan oqsillar kiradi, ya'ni ularning gidrolizlanishi jarayonida faqat aminokislotalar hosil bo'ladi. Oqsillar, o'z navbatida, o'ziga xos erituvchilarda eruvchanligi va ba'zi kimyoviy xususiyatlariga ko'ra bir qancha kichik guruhlarga bo'linadi.

Shunday qilib, oddiy oqsillarga quyidagilar kiradi:

1) albuminlar - nisbatan kichik molekulyar og'irligi (15 000-70 000) bo'lgan oqsillar, suvda va zaif tuz eritmalarida yaxshi eriydi, glutamik kislotaning yuqori miqdori tufayli kislotali xususiyatlarga ega. Ular barcha hayvonlar va o'simliklarda uchraydi. Albominlar kichik guruhining tipik vakili tovuq tuxumi oqsili - ovalbumin;

2) globulinlar - molekulyar og'irligi albuminlarnikidan katta bo'lgan oqsillar (100 000 dan ortiq). Albominlardan farqli o'laroq, ular distillangan suvda erimaydi, faqat suvli tuz eritmalarida eriydi. Globulinlar zaif kislotali yoki neytral oqsillar bo'lib, ular albuminlarga qaraganda kamroq kislotali aminokislotalarni o'z ichiga oladi. Bu mushak tolalari, qon, sutning bir qismi bo'lgan juda keng tarqalgan oqsillar bo'lib, ular dukkakli va moyli urug'larning ko'p qismini tashkil qiladi. Sut laktoglobulini hayvonlardan olingan globulinlarning vakili. O'simlik va hayvon hujayralarida bu oqsillar doimo albuminlar bilan birga bo'ladi;

3) prolaminlar - suvda, shuningdek, tuzlar, kislotalar va ishqorlar eritmalarida erimaydi, etil spirtining 60-80% eritmasida eriydi. Prolaminlarning bunday yomon eruvchanligi ularda ko'p miqdorda qutbsiz aminokislota prolin mavjudligi bilan bog'liq. Prolaminlar donli urug'larning kleykovinasida joylashgan o'simlik oqsillari guruhidir. Prolaminlar o'z nomini chiqarilish manbasidan oldi: bug'doy va javdardan gliadin, makkajo'xoridan zein, sulidan avenin, arpadan hordein va boshqalar;

4) glutelinlar - prolaminlar kabi faqat o'simliklarda, ayniqsa don urug'larida joylashgan zahira (zaxira) oqsillardir. Ular suvda, tuz eritmalarida va etanolda erimaydi, lekin ishqorlar eritmalarida yaxshi eriydi.

Eng ko'p o'rganilgan bug'doy kleykovina, guruch oryzinin;

5) protaminlar - argininning yuqori miqdori tufayli asosiy xususiyatlarga ega bo'lgan past molekulyar og'irlikdagi oqsillar (nisbiy molekulyar og'irligi 4000-12000). Argininga qo'shimcha ravishda protaminlar oz miqdorni o'z ichiga oladi. Monoaminokislotalar va prolin. Ko'p miqdorda protaminlar sut va baliq ikralarida mavjud. Selyodka glupeini va losos lososlari eng batafsil o'rganilgan;

6) gistonlar - protaminlarnikiga qaraganda bir oz past asosli va nisbiy molekulyar og'irligi (11000-24000) yuqori bo'lgan hayvon organizmlarining to'qima oqsillari. Gistonlar ammiak bilan eritmalaridan cho'ktiriladi. Gistonlar somatik hujayralar yadrolarida joylashgan bo'lib, ular DNK bilan elektrostatik kuchlar bilan bog'langan. Ko'p gistonlar buqoqda, eritrotsitlarda uchraydi, gistonlar ham o'simlik to'qimalaridan ajratiladi;

7) proteoidlar - hayvonlarning tayanch to'qimalarida joylashgan fibrillyar oqsillarning kichik guruhi. Protenoidlar suvda erimaydi, tuz eritmalarida ham, suyultirilgan kislotalar va ishqorlarda ham erimaydi. Ularning o'ziga xos tarkibiy

tuzilishi tufayli, ular ovqat hazm qilish fermentlari tomonidan deyarli gidrolizlanmaydi va shuning uchun oziq-ovqat mahsuloti sifatida ishlatilmaydi. Eng mashhur, yaxshi o'rganilgan protenoidlar biriktiruvchi to'qima kollagen, soch keratin, jun, patlar, tuyoqlar, paylar va ligamentlarning elastini, fibroin ipak.

Murakkab oqsillar - oqsil molekulasini bilan bir qatorda protez guruhi deb ataladigan oqsil bo'lmagan qismi ham mavjud bo'lgan birikmalar. Protez guruhi odatda o'ziga xos shovqinlar orqali oqsil bo'lagi bilan bog'lanadi. Protez guruhining rolini ham organik, ham noorganik birikmalar bajarishi mumkin: nuklein kislotalar, uglevodlar, lipidlar, pigmentlar, fosfor kislotasi, metallar va boshqalar. Murakkab oqsillarga quyidagilar kiradi:

1) glikoproteinlar murakkab oqsillar bo'lib, ularning prostetik guruhi oqsil molekulasining asparagin va treonin qoldiqlari bilan kovalent bog'langan uglevodlar hosilalari bilan ifodalanadi. Glikoproteinlarga misol sifatida loviya urug'ining saqlash oqsili, visillin;

2) lipoproteinlar oqsilning lipidlar (neytral yog'lar, erkin yog' kislotalari, fosfolipidlar, xolesterin va uning hosilalari) bilan birikmasidir. Lipoproteinlarda lipidlar va oqsil o'rtasidagi bog'lanish turli tabiatdagi o'zaro ta'sirlar tufayli amalga oshiriladi: adsorbsion, hidrofobik, ion. -dipol. Lipoproteinlar o'simlik hujayrasining plastidlarida, shuningdek protoplazmada ko'p miqdorda bo'ladi;

3) fosfoproteinlar - tarkibida fosfor kislotasi mavjud bo'lgan murakkab oqsillar. Fosfor kislotasi qoldiqlari oqsil molekulasini bilan ester bog'i bilan bog'langan. Bu guruh vakillari sut kazeini, vitellin - tuxum sarig'idan ajratilgan oqsil, ichthulin - baliq ikra oqsili;

4) xromoproteinlar - oqsil bo'lmagan qismi rangli birikmalar bilan ifodalangan oqsillar. Odatiy vakillar qon gemoglobin, mushak to'qimasi miyoglobin va o'simlik xlorofill;

5) nukleoproteinlar - organizm hayotida asosiy rol o'ynaydigan murakkab oqsillarning juda muhim guruhi. Ular tananing barcha hujayralariga kirib, asosiy hayotiy funktsiyalarni bajaradilar - ular genetik ma'lumotni tashuvchisi va oqsil biosintezida ishtirok etadilar. protein qismi nukleoproteinlar asosan protaminlar va gistonlar, oqsil bo'lmagan - ribo- va dezoksiribonuklein kislotalar bo'lib, kuchsiz molekulalararo yoki kuchli kovalent o'zaro ta'sirlar bilan bog'lanishi mumkin.

1. Proteinlar polimeraza reaksiyalarni katalizlaydimi? Uning qanday xususiyatlari bor?

2. Oddiy oqsillarga qanday oqsillar kiradi? Agar oddiy oqsil bo'lsa sababalarini aytnig.

3. Albuminlar qanday oqsillarga kiradi? Qanday xom ashyolarda bo'lishi mumkin?

4. Murakkab oqsillar necha turlarga bo'linadi? Mumkin bo'lsa ketma ketlikda sanab bering.

3-CASE

Bu case stadi usulida ko'zlangan maqsad – Oqsillarning odam organizmida rolini o'rganish. Inson tanasida oziq-ovqat oqsillari aminokislotalarga bo'linadi, ularning ba'zilari (asosiy bo'lmagan, masalan, alanin, aspartik kislota, glitsin, glutamik kislota, prolin, serin, tirozin, sistin, sistein) qurilish materialidir hisoblanadi. Yangi aminokislotalar sintezlash. Biroq, kattalar tanasida hosil bo'lmagan sakkizta aminokislotalar (asosiy, muhim) mavjud bo'lib, ular oziq-ovqat bilan ta'minlanishi kerak (valin, leysin, izolösin, treonin, metionin, lizin, fenilalanin, triptofan). Ba'zida ular bolaning tanasida sintez qilinmaydigan histidin va argininni o'z ichiga oladi. Agar oziq-ovqatda bu aminokislotalarning miqdori etarli bo'lmasa, inson tanasining normal rivojlanishi va faoliyati buziladi.

Oqsillarning ozuqaviy qiymati oqsilni tashkil etuvchi alohida aminokislotalarning sifat va miqdoriy nisbati bilan belgilanadi.

Oqsillarning biologik qiymati aminokislotalar tarkibining muvozanati va oqsillarning ovqat hazm qilish trakti fermentlari tomonidan ta'sirchanligi, boshqacha aytganda hazm bo'lishi bilan aniqlanadi. Oqsilning aminokislotalar tarkibi bo'yicha biologik qiymatini uni aminokislotalar tarkibi bilan taqqoslash orqali baholash mumkin. aminokislotalar tarkibi muvozanatlashgan va har bir muhim aminokislota (NAC) ga inson tanasining ehtiyojlariga ideal tarzda mos keladigan mos yozuvlar oqsilining aminokislota tarkibi. Voyaga etganlar uchun VPO/VOZ qo'mitasining aminokislotalar shkalasi "mos yozuvlar" oqsili sifatida ishlatiladi.

1973 yilda Jahon sog'liqni saqlash tashkiloti (VOZ yoki WFO) va Jahon oziq-ovqat tashkiloti (VPO yoki FAO) qarori bilan oziq-ovqat oqsillarining biologik qiymatining ko'rsatkichi - aminokislotalar reytingi (AKR) joriy etildi.

Aminokislota tezligi [dan. Ingliz ball - ball (o'yindagi ball)] - oqsilning biologik qiymatining ko'rsatkichi, bu testdagi bunday aminokislotalarning umumiy tarkibidagi ma'lum bir muhim aminokislotalarning ulushi.

Ushbu nisbatning standart (tavsiya etilgan) qiymatiga protein. AKS formula (Si, %) bo'yicha hisoblanadi:

$$C_i = \frac{A_i}{A_{i,3}} \cdot 100, \quad (1)$$

bu erda A_i - o'rganilayotgan oqsilning 1 g tarkibidagi muhim i-chi aminokislota miqdori, mg/g; $A_{i,3}$ - 1 g "e'lon" oqsilidagi muhim i-chi aminokislota miqdori, mg/g.

AKS ni hisoblashda ma'lum bir oqsildagi NAC ning miqdori uning standartdagi tarkibiga nisbatan foizda ifodalanadi. AKS eng past qiymatga ega (100% dan kam) aminokislota birinchi chegaralovchi kislota deb ataladi. Ushbu aminokislota ma'lum bir oqsildan qay darajada foydalanilishini aniqlaydi.

Proteinning biologik qiymatini analitik hisoblash birinchi cheklovchi aminokislotalarning dominant ta'siri haqidagi gipotezaga asoslanadi. Shuni ta'kidlash kerakki, oqsillar bir nechta cheklovchi aminokislotalarga ega bo'lishi mumkin.

Plastik ehtiyojlar uchun ishlatilmaydigan muhim aminokislotalarning ortiqcha miqdori aminokislotalar stavkalaridagi farq koeffitsienti (AKSFK, %) bilan belgilanadi:

$$KPAC = \frac{\sum_{i=1}^n (C_i - 100)}{n}, \quad (2)$$

bu erda C_i - i-chi muhim aminokislotalarning AKS, %;

n - muhim aminokislotalar soni.

Proteinli mahsulotning biologik qiymati (BC, %) CRAS qiymati bilan baholanadi:

Agar ushbu oqsilda barcha muhim aminokislotalar kerakli nisbatda bo'lsa, unda bunday oqsilning biologik qiymati 100. Agar oqsil past biologik faollik bilan tavsiflangan bo'lsa (asosiy aminokislotalarning to'liq bo'lmagan to'plami mavjud bo'lsa), u holda u bo'lishi kerak. Minimal miqdordagi protein tarkibidagi muhim aminokislotalarga fiziologik ehtiyojni qondirish uchun dietada ko'p miqdorda mavjud. Shu bilan birga, aminokislotalarning qolgan qismi tanaga ehtiyojdan oshib ketadigan ortiqcha miqdorda etkazib beriladi. Ortiqcha aminokislotalar jigarda deaminatsiyalanadi va glikogen yog'iga aylanadi.

Muhim aminokislotalarning fiziologik zarur normaga (standart) nisbatan balansi aminokislotalar tarkibining ratsionallik koeffitsienti (RC, birliklarning fraktsiyalari) bilan tavsiflanadi. $C_{min} < 1$ bo'lsa, ratsionallik koeffitsienti formula bo'yicha hisoblanadi

$$R_c = \frac{\sum_{i=1}^k (A_i \cdot k_i)}{\sum_{i=1}^n A_i}, \quad (4)$$

bu yerda A_i - o'rganilayotgan oqsilning 1 g tarkibidagi muhim i-chi aminokislota miqdori, mg/g; k_i - cheklovchi aminokislotalarning i-nchi NACk ning foydalilik koeffitsienti, birliklar ulushi.

Foydalilik (foydalanish) koeffitsienti - standartga nisbatan MAK balansini

aks ettiruvchi raqamli xarakteristikasi. Hisoblash formula bo'yicha amalga oshiriladi

$$k_i = \frac{C_{\min}}{C_i}, \quad (5)$$

bu erda $C_{\min}$ - baholangan oqsilning mos yozuvlar oqsiliga, birliklarning fraktsiyalariga nisbatan minimal NAC balli; C_i - baholangan oqsilning i - NAC uchun mos yozuvlar, birliklarning fraktsiyalariga nisbatan ko'rsatkichi.

Baholanayotgan mahsulot oqsilidagi muhim aminokislotalarning umumiy miqdori, standart bo'yicha o'zaro nomutanosiblik tufayli organizm tomonidan foydalanilmaydi, muhim aminokislotalar tarkibi balansini baholashga xizmat qiladi. "taqqoslash mumkin bo'lgan ortiqcha" Bu ko'rsatkich anabolik ehtiyojlar uchun ishlatilmaydigan muhim aminokislotalarning umumiy massasini tavsiflaydi, baholangan mahsulot miqdori bo'yicha potentsial foydalanish mumkin bo'lgan miqdori bo'yicha 1 g referent oqsilga teng. NAC tarkibining qiyosiy ortiqchligi ko'rsatkichini hisoblash (s, mg/g etalon oqsil) formula bo'yicha amalga oshiriladi.

1. Oqsillarning ozuqaviy qiymati oqsilni tashkil etuvchi alohida aminokislotalarning sifat va miqdoriy nisbati bilan belgilanadi? Uning qanday aminokislotalarning sifat va miqdoriga bog'liq?

2. Proteinning biologik qiymatini analitik hisoblash birinchi cheklovchi aminokislotalarning dominant ta'siri haqidagi gipotezasi? Aminokislotalarning dominant ta'siri haqida aytning.

3. Muhim aminokislotalarning fiziologik zarur normaga? Qanday bo'lishi mumkin?

4. Baholanayotgan mahsulot oqsilidagi muhim aminokislotalarning umumiy miqdori? Mumkin bo'lsa ketma ketlikda sanab bering.

4-CASE

Bu case stadi usulida ko'zlangan maqsad – Oqsillarni miqdoriy aniqlash usullarini o'rganish.

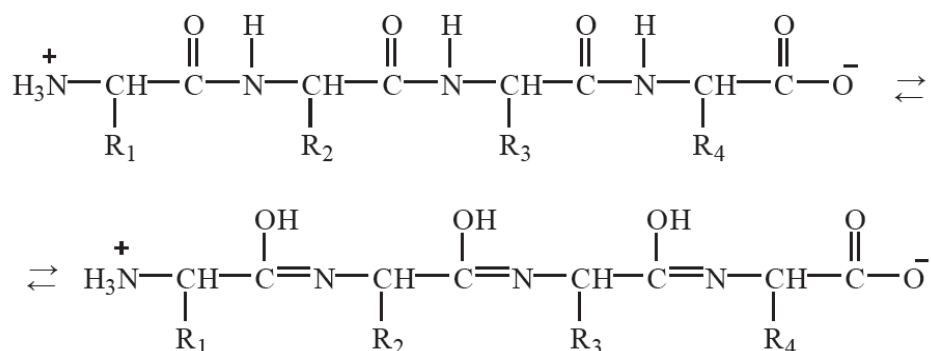
Oqsillarni miqdoriy aniqlash usullari xilma-xildir. Fizik usullardan eng oddiyi sof oqsilni tortishdir. Biroq, oqsillar juda gigroskopik bo'lib, ularning tarkibidan suvni butunlay olib tashlash juda qiyin, shuning uchun oqsillarni miqdoriy aniqlashning bu usuli juda kam qo'llaniladi. Bundan tashqari, barchasini tanlang o'rganilayotgan ob'ektdan oqsil deyarli mumkin emas.

Eng oddiy kimyoviy usul - bu umumiy yoki oqsilni miqdoriy aniqlash (oqsilni cho'ktirish va uni eruvchan azot o'z ichiga olgan moddalardan ajratishdan keyin), azot, chunki uning turli xil oqsillardagi tarkibi juda cheklangan chegaralarda o'zgarib turadi, bu esa hukm qilish imkonini beradi. biologik

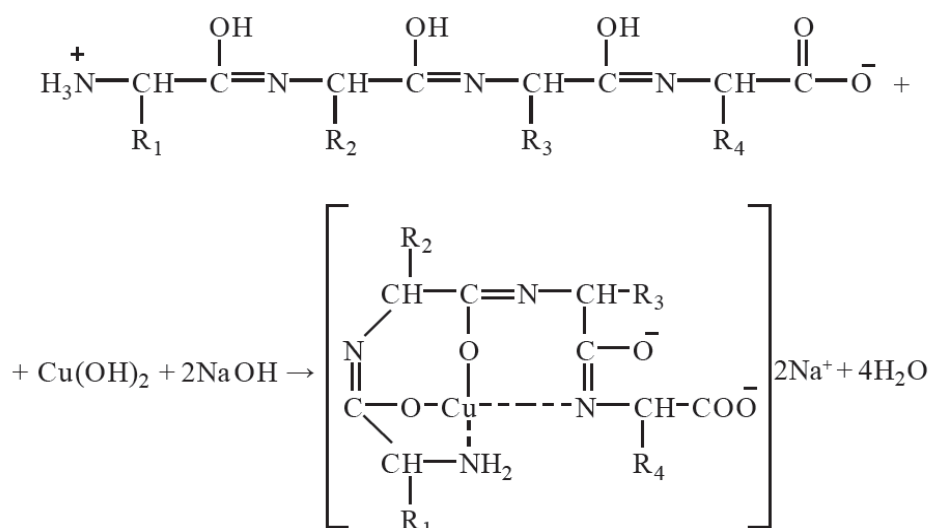
ob'ektdagi oqsil miqdori azot miqdori bilan. Umumiy azot miqdorini aniqlash uchun oziq-ovqat mahsulotlarini tahlil qilishda katalizator ishtirokida oqsilli namunani sulfat kislota bilan minerallashtirishga asoslangan Kjeldahl usuli keng qo'llaniladi. Minerallanish natijasida organik mahsulot karbonat angidrid va suvga parchalanadi; azot ammiakga aylanadi va sulfat kislota bilan birlashadi. Reaksiya muhitida hosil bo'lgan ammoniy sulfat konsentrlangan ishqor eritmasi bilan yo'q qilinadi. Bir vaqtning o'zida ajralib turish ammiak bug 'bilan distillangan va sulfat yoki borik kislota eritmasi bilan miqdoriy so'riladi. Sulfat kislota eritmasiga distillangandan keyin ammiakning miqdori natriy gidroksid eritmasi bilan qayta kislota-asos titrlash orqali aniqlanadi.

To'g'ridan-to'g'ri atsidimetrik titrlash usuli tahlil qilinayotgan namunaning minerallashuvi natijasida hosil bo'lgan va borik kislotasi eritmasi bilan so'rilgan ammiakni miqdoriy aniqlash uchun ishlatiladi. Ekvivalentlik nuqtasi metil qizil, bromokrezol yashil yoki Tashiro aralash kislota-ishqor indikator (metil qizil va metilen ko'k aralashmasi), shuningdek fizik-kimyoviy usullar yordamida vizual tarzda aniqlanadi. Natijalarga ko'ra titrlash sinov namunasidagi azotning massa ulushini hisoblash. Protein azotining miqdori koeffitsientlar yordamida oqsil tarkibiga aylanadi. 6,25 universal protein omili o'rtacha tarkibga asoslangan holda qabul qilindi.

Aksariyat oqsillarda azotning kamayishi 16% ni tashkil qiladi. Ba'zi ob'ektlar uchun tozalangan protein koeffitsientlari.



Mis (II) kationlari polipeptidning enol shakli bilan reaksiyaga kirishib, gidroksi guruhlarining vodorodini almashtirib, azot bilan koordinatsion aloqa hosil qiladi:



Olingan biuret kompleksining rang intensivligi peptid zanjirining uzunligiga bog'liq va ko'k-binafshadan qizil-binafsha va qizil ranggacha o'zgaradi. Maksimal aniqlash sezgirligiga mos keladigan to'lqin uzunligi 540-640 nm oralig'ida. Usulning afzalliklari uning begona moddalarga nisbatan past sezuvchanligini (oqsil bo'lmagan moddalar bilan nojo'ya reaksiyalarni bermaydi), past xatoni o'z ichiga oladi. Usulning sezgirligi 2-10 mg/ sm³ ni tashkil qiladi.

Bu usul biokimyoviy laboratoriya amaliyotida kam qo'llaniladi (oqsil uchun tibbiy tahlillar bundan mustasno), chunki u 1951-yilda taklif qilingan Louri usuliga qaraganda kamroq sezgir.

Louri usuli bilan oqsilni aniqlash oqsil eritmasi rangining intensivligini o'lchashga asoslangan bo'lib, unda ikkita rang reaksiyasi amalga oshiriladi: biuret reaksiyasi (amid bog'lari bilan mis (II) ionlarining rangli kompleksini hosil qilish) va Folin-Ciocalteu reaktivining aromatik aminokislotalar bilan o'zaro ta'sir qilish reaksiyasi. Folin-Ciocalteu reaktividan foydalanish biuret usuliga nisbatan Lowry usulining sezgirligini deyarli 100 barobar oshiradi.

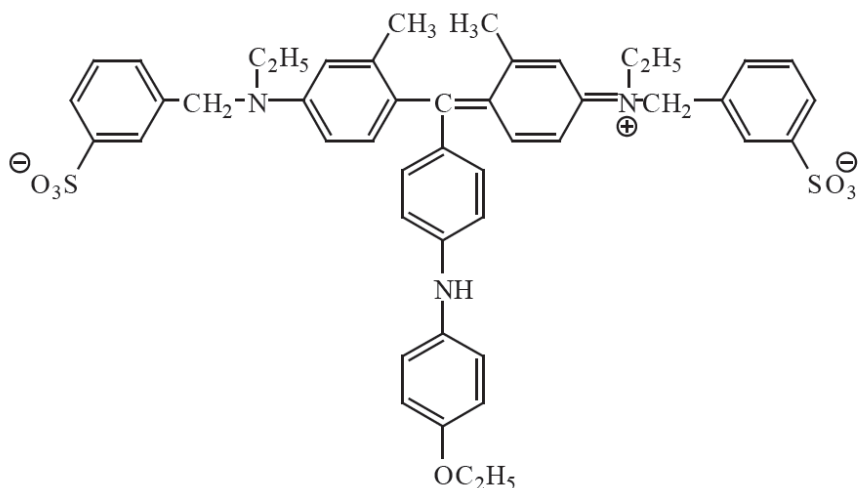
Folin-Ciocalteu reaktivi natriy volfram va natriy molibdat eritmalari aralashmasi bo'lib, unga fosforik, xlorid kislotalar va qaynatilgandan keyin litiy sulfat, shuningdek, bir necha tomchi brom suvi qo'shiladi.

Reaksiya natijasida fosfotungstik va fosfomolibdik kislotalar 750 nm da maksimal yutilishga ega bo'lgan ko'k rangli kompleks birikma hosil bo'lishi bilan kamayadi. Reaksiya oqsil mis (II) sulfatning gidroksidi eritmasi bilan o'zaro ta'sirlashganda paydo bo'ladigan murakkab mis birikmalari tomonidan boshlanadi. Rangning intensivligi asosan sinov namunasidagi tirozin va triptofan tarkibiga bog'liq.

Bu usul yordamida tekshiriluvchi probirkadagi oqsilning mutlaq miqdorini aniqlash mumkin, agar konsentratsiyasi aniqlanayotgan bir xil oqsil uchun kalibrlash egri chizig'i qurilgan bo'lsagina. Usulning oqsilga sezgirligi 10-100 mkg / sm³ ni tashkil qiladi.

Usul juda sezgir bo'lishiga qaramay (tahlil uchun juda suyultirilgan eritmalar qo'llaniladi), uning bir qator kamchiliklari mavjud. Usul bo'yicha ishlatiladigan Folin-Ciocalteu reaktivi boshqalarga ijobiy reaksiya beradi moddalar, masalan, fenolik tabiatga ega bo'lib, bu tahlilni qiyinlashtiradi, ayniqsa o'simlik kelib chiqishi ob'ektlari.

1976 yilda taklif qilingan Bredford usuli Coomassie Brilliant Blue G-250, I) kislotali bo'yoqning oqsil bilan bog'lanishiga asoslangan bo'yoqning sulfonil guruhlari aminokislotalar qoldiqlari, asosan arginin va kamroq elektrostatik o'zaro ta'siri tufayli. darajada, histidin, tirozin, triptofan va fenilalanin qoldiqlari bilan.



Coomassie Brilliant Blue G-250 (I)1

Bog'langan shakl ko'k rangda, maksimal yutilish 595 nm, dastlabki kislotali bo'yoq eritmasi esa 465 nm.

Bu usulning asosiy afzalligi sezuvchanlikdir. Usul 10 dan 100 mkg/sm³ gacha proteinni ishonchli aniqlash imkonini beradi. Umuman olganda, usulning sezgirligi aniqlanayotgan oqsil va bo'yoq konsentratsiyasining nisbatiga bog'liq: bo'yoq qanchalik ko'p bo'lsa, usul shunchalik sezgir. Ko'rib chiqilgan usul Lowry usuli bilan solishtirganda kamroq "injiq".

Proteinlar bo'yoqlarni bog'lash qobiliyatiga ko'ra farq qilganligi sababli, kalibrlash egri chizig'ini qurish uchun oqsilni standart oqsil sifatida ishlatish maqsadga muvofiqdir, uning konsentratsiyasi kelajakda aniqlanishi kerak.

Bredford usulida qo'llaniladigan reaktivlar albuminlarga, Louri usulida - globulinlarga yuqori yaqinlikka ega.

Bu yerda 1 va pastda rim raqami moddaning strukturaviy formulasini bildiradi, matnda ko'rsatilgan.

VI. MUSTAQIL TA'LIM MAVZULARI

Mustaqil ta'limni tashkil etishning shakli va mazmuni

Mustaqil ta'lim tegishli o'quv moduli bo'yicha ishlab chiqilgan topshiriqlar asosida tashkil etiladi va uning natijasida tinglovchilar bitiruv ishi (loyiha ishi) ni tayyorlaydi.

Bitiruv ishi (loyiha ishi) doirasida har bir tinglovchi o'zi dars berayotgan fani bo'yicha elektron o'quv modullarining taqdimotini tayyorlaydi. Elektron o'quv modullarining taqdimoti quyidagi tarkibiy qismlardan iborat bo'ladi: Sillabus; Keyslar banki; Mavzular bo'yicha taqdimotlar; Boshqa materiallar (fanni o'zlashtirishga yordam beruvchi qo'shimcha materiallar: elektron ta'lim resurslari, ma'ruza matni, glossariy, test, krossvord va boshq.) Elektron o'quv modullarini tayyorlashda quyidagilarga alohida e'tibor beriladi:

- tavsiya qilingan adabiyotlarni o'rganish va tahlil etish;
- soha taraqqiyotining ustivor yo'nalishlari va vazifalarini yoritish;
- mutaxassislik fanlaridagi innovatsiyalardan hamda ilg'or xorijiy tajribalardan foydalanish.

Shuningdek, mustaqil ta'lim jarayonida tinglovchi kasbiy faoliyati natijalarini va talabalar uchun yaratilgan o'quv-metodik resurslarini "Elektron potrfolio" tizimiga kiritib borishi lozim.

Mustaqil ta'lim mavzulari

1. Oziq-ovqat xom ashyosi va mahsulotlarining sifati hamda xavfsizligini zamonoviy kompleks fizik-kimyoviy tahlillari.
2. Biotexnologik ob'ektlardan ajratib olingan protein va aminokislotalarning tarkibini aniqlash tezkor tahlil qilishda xromatografiyaning o'rni.
3. Fotoelektrokolorimetrik tezlashtirilgan usulda oziq-ovqat mahsulotlarida umumiy shakarning massa ulushini aniqlash.
4. Oziq-ovqat mahsulotlarining xususiyatlarini o'rganishning instrumental usullari
5. Biotexnologik ob'ektlardan birikmalarni ajratib olishda ustunli suyuqlik xromatografiyasi uchun uskunalarning o'rni.
6. Biologik faol birikmalarni tahlil qilishda xromatografik ajratish va tahlil usullarining tasnifi.

7. Biotexnologik ob'ektlardan yog'ning massa ulushini refraktometrik usulda tezkor aniqlash.
8. Biotexnologik ob'ektlarda yog'larning biologik qiymatini belgilovchi ommilar.
9. Gaz xromatografiyasi uchun uskunalar umumiy xususiyatlari.
10. Gaz xromatografiyasida harakatlanadigan va statsionar fazalarning tasnifi.
11. Biotexnologik ob'ektlarni tahlil qilishda qo'llaniladigan ustunli suyuq xromatografiyaning tasnifi va turlari.
12. Ion almashinish xromatografiyasida qo'llaniladigan adsorbentlar va harakatlanadigan fazalarning klisifikatsiyasi.
13. Ustunli suyuq xromatografiyada suyuqlikni taqsimlashiga ta'sit etuvchi omillar.
14. Biotexnologik ob'ektlarni tahlil qilishda qo'llaniladigan affin xromatografiyaning afzaliklari va kamchiliklari.
15. Biotexnologik ob'ektlaridan olinadigan xom ashyos tarkibidagi uglevodlarni tahlil qilishning zamonoviy usullari
16. Biotexnologik ob'ektlardagi vitaminlarni tahlil qilishda qo'llaniladigan yupqa qatlamli xromatografiya.
17. Biotexnologik ob'ektlarnidagi yog'da eriydigan vitaminlarga elyuent tanlash va ajratish mexanizmlari.
18. Biotexnologik ob'ektlardan suvda eriydigan vitaminlarni aniqlash usullari va ularga sorbentlar tanlash.
19. Biotexnologik ob'ektlardan vitaminga o'xshash moddalarni ajratish va tahlil qilish usullari.
20. Biotexnologik ob'ektlaridan minerallarni tahlil qilishda qo'llaniladigan usullar.

VII. BITIRUV MALAKAVIY ISHI MAVZULARI

1. Viochilik sanoatida uzum qoldiq mahsulotidan yiliga 100 kg tabiiy bo'yog'ini olish texnologiyasi
2. Sabzavot xomashyosidan yiliga 5 tonna tabiiy sok olish texnologiyasi
3. Steviyani kompleks qayta ishlash va oyiga 10 000 dona salqin ichimliklar ishlab chiqarish texnologiyasi.
4. O'simlik xomashyosi steviyadan oyiga 15 kg tabiiy shirinlashtiruvchi olish texnologiyasi.
5. Topinambur o'simligi tarkibidan yiliga 20 kg inulin ajratib olish texnologiyasi.
6. Kashtan mevasi tarkibidan yiliga 100 kg oqsil ajratib olish texnologiyasi.
7. O'simlik xom ashyosidan yiliga 12 kg tabiiy shirinlashtiruvchi olish texnologiyasi.
8. Steviya tarkibidan yiliga 100 kg stevol glikozidlar ajratib olish texnologiyasi.
9. Kashtan mevasi tarkibidan oziq-ovqat sanoati uchun oyiga 25 kg biologik faol qo'shimchalar olish texnologiyasi.
10. Vino ishlab chiqarish korxonalari qolldiq mahsulotlaridan yiliga 210 kg biologik faol qo'shimchalar olish texnologiyasi.
11. Anor po'stidan oziq-ovqat sanoati uchun oyiga 30 kg biologik faol qo'shimchalar olish texnologiyasi.
12. Pavloniya daraxtida oyiga 2 tonna selluloza ajratib olish texnologiyasi.
13. Sut mahsulotlari tarkibidan yiliga 2 tonna kazeinni ajratib olish texnologiyasi.
14. Oqsil bilan to'yntirilgan qandolat mahsulotlarini oyiga 10 tonna ishlab chiqarish texnologiyasi.
15. Alkogolsiz ichimliklar ishlab chiqarish uchun oyiga 100 kg o'simlik xomashyosidan yarim tayyor mahsulotlar olish texnologiyasi.
16. O'simlik xomashyosidan foydalanib oyiga 1000 kg oziqa tolalar olish texnologiyasi.
17. Biotexnologik yo'l bilan oziq-ovqat mahsulotlariga qo'shish uchun oyiga 50 kg antioksidant - askorbin kislotasini olish texnologiyasi.
18. Oziq-ovqat sanoatida foydalanish uchun oyiga 100 litr konservant – sirka kislotasini biotexnologik yo'l bilan olish texnologiyasi.

VIII. GLOSSARIY

TERMINLAR	UZBEKCHA	Terminlar	INGLIZCHA
Agaroza	dengiz suvo‘tlaridan olinadigan polisaxarid; elektroforez va xromatografiyada gelli muhit sifatida foydalaniladi.	Agarose	Polysaccharides which receive from algae; It is used as a gel medium in electrophoresis and chromatography
Agregatsiya-	ayrim organizm yoki hujayralarning to‘planishi, g‘uj bo‘lib qolishi.	Aggregation	Education in a pile of some organisms and cells
Adaptatsiya-	moslashish-organizmlarning evolyusiya jarayonida yuzaga kelgan yashash sharoitiga moslashuvi	Adaptation	the adaptation of organisms to a habitable environment in the process of evolution
Azotobakter-	erkin holda yashab, havodan azot to‘plovchi bakteriyalar turi.	Azotobacter	a type of bacteria that live freely and gain nitrogen from the air
Anaerobioz- -	Organizmlarning erkin kislorod bo‘lmagan muhitda hayot kechirishi	Anaerobiosis	Vital activity of organisms in the environment where there is no free oxygen
Antagonist	raqib-mikroorganizmlar hayotini to‘xtatuvchi yoki butunlay barbod qiluvchi boshqa bir mikroorganizm.	Antagonist	Rival – microorganisms which stop vital functions or kill other microorganisms
Antigenlar	immun tizimda antitelalar hosil bo‘lishini indutsirlovchi, antitela paydo bo‘lishiga ta’sir etuvchi spetsifik hamkorlik qiluvchi	Antigens	specific proteins that induce and influence the formation of antibodies in the immune system

	oqsillar.		
Adsorbsiya	qattiq birikma – adsorbent bilan suyuqlik yoki gaz komponentlarning yutilish jarayonidir	Adsorption	Absorption process liquid and gas components into a solid compound - adsorbent
Bazal	asosiy, asosga tegishli; asosida yoki uning tagida joylashgan-bazal tanachalar-eukariotik jonivorlar (oddiy jonivorlar, suvo‘tlar) xivchinlarini sitoplazmaning tashqi qavatiga yopishib turishiga yordam beradigan tuzilma.	Basal	Main; basal calves that help keep the flagella of eukaryotic animals (simple animals, algae) on the outer layer of cytoplasm
Bazipetal transport	o‘simlikdagi moddalarning ildizning apikal meristemasiga transporti.	Basipetal transport	Transport of plant substances to the root apical meristem
Bakteriofaglar	bakteriyalarni infeksiyalovchi viruslar.	Bacteriophage	Viruses that infect bacteria
Binar-	ikki qismdan iborat; binarli nomenklatura-mikroorganizmlarda avlod va tur nomi bilan atalishi; binarli bo‘linish-hujayralarning ko‘payish vaqtida ikkiga bo‘linishi.	Binary	consisting of two parts; binary nomenclature - the name of the micro-organisms with the name of generation and type; binary fission - the fission of cells during multiplication
Biogenez	tirik organizmlar tomonidan organik birikmalarning hosil bo‘lishi.	Biogenesis	release of organic substances from living organisms
Biomassa-	mikroorganizmlarni	Biomass	Biomass is organic

	o‘stirilganida hujayralari massasi yoki tirik organizm massasi; faol biomassa-biologik faollik ko‘rsatuvchi massa; quruq biomassa-organizmlarning quruq biomassasi. U ho‘l biomassaning 15-30% ini tashkil etadi; ho‘l biomassa-suzish yoki aylantirish, cho‘ktirish natijasida suyuq ozuqa muhitidan ajratib olingan hujayra massasi.		matter derived from living, or recently living organisms. Biomass can be used as a source of energy and it most often refers to plants or plant-based materials which are not used for food or feed, and are specifically called lignocellulosic biomass. As an energy source, biomass can either be used directly via combustion to produce heat, or indirectly after converting it to various forms of biofuel. Conversion of biomass to biofuel can be achieved by different methods which are broadly classified into: thermal, chemical, and biochemical methods.
Biofiltr	oqava suvlarni biologik jihatdan tozalaydigan inshoot	Trickling filter	Biological wastewater treatment
Bioreaktor-	biologik reaksiyalarni amalga oshirishga mo‘ljallangan sig‘im. Bu atama aerob va anaerob organizm hujayralarini o‘stirish uchun zarur bo‘lgan sig‘imlarda hamda hujayra va fermentlarni to‘plashda foydalanadigan naychalarga nisbatan ishlatiladi.	Bioreactor	A bioreactor may refer to any manufactured or engineered device or system that supports a biologically active environment. In one case, a bioreactor is a vessel in which a chemical process is carried out which involves organisms or biochemically active substances derived from such organisms. This process can either be aerobic or anaerobic. These bioreactors are commonly cylindrical, ranging in size from litres to

			cubic metres, and are often made of stainless steel.
Biosintez-	fermentlar ta'sirida tirik organizmlarda oddiy birikmalardan murakkab organik moddalarning hosil bo'lishi.	Biosynthesis	Biosynthesis (also called biogenesis or anabolism) is a multi-step, enzyme-catalyzed process where substrates are converted into more complex products in living organisms. In biosynthesis, simple compounds are modified, converted into other compounds, or joined together to form macromolecules. This process often consists of metabolic pathways.
Biorekultivatsia	qazilma boyliklar olinganidan so'ng joylarni tekislab o'simlik o'stirish	Reclamation	Plant cultivation after the excavation of minerals
Biotexnologiya	tirik organizmlar yoki biologik qonuniyat va xususiyatlarning sanoat miqyosida ishlatilishi haqidagi fan yo'nalishi.	Biotechnology	Biotechnology is the use of living systems and organisms to develop or make products
Vektor	genlarni klonlashda foydalaniladigan replikon. Tabiiy vektorlar-kichik plazmidalar, viruslar va bakteriofaglar. Sun'iy vektorlar esa DNK-ligaza yordamida har xil manbalardan olingan DNKni birlashtirish asosida	Vector	In molecular cloning, a vector is a DNA molecule used as a vehicle to artificially carry foreign genetic material into another cell, where it can be replicated and/or expressed. A vector containing foreign DNA is termed recombinant DNA. The four major types of

	tuziladi; o‘rnini olish vektori-klonlashtiruvchi vektor; o‘simliklarda klonlash vektori-o‘simlik hujayrasiga begona DNKni o‘tkazish va joylashtirish bilan shug‘ullanadigan gen muhandisligida ishlatiladigan vektor; plazmida vektori-begona, yot DNKdagi gen yoki bir necha genlarni bu xildagi genlari bo‘lmagan organizmga o‘tkazib qo‘yishida qatnashadigan plazmida.		vectors are plasmids, viral vectors, cosmids, and artificial chromosomes. Of these, the most commonly used vectors are plasmids. Common to all engineered vectors are an origin of replication, a multicloning site, and a selectable marker.
Genoterapiya-	retsipient genomiga begona genlarni kiritish yoki biologik ob’ekt to‘qimalarida genetik sog‘lom somatik hujayralarni olish yordamida nasliy kasalliklarini davolash.	Gene therapy	Gene therapy is the therapeutic delivery of nucleic acid polymers into a patient's cells as a drug to treat disease.
Genotip-	asos genlarining to‘plami. Irsiy asos–organizmlarning genetik (irsiy) konstitutsiyasining va uning barcha genlarining majmui.	Genotype	The genotype is the part (DNA sequence) of the genetic make up of a cell, and therefore of an organism or individual, which determines a specific characteristic (phenotype) of that cell/organism/ individual.

Genofond-	organizm turlari yoki populyasiyasidagi har xil genlar turlarining soni va tarixi.	The gene pool	The gene pool is the set of all genes, or genetic information, in any population, usually of a particular species.
Geterozis –	bir-biridan qator xususiyatlar va belgilari bilan farqlanuvchi boshlang‘ich shakllarni chatishtirish natijasida paydo bo‘lgan birinchi avlod duragaylarining yashash qobiliyatining oshishi.	Heterosis	Heterosis, hybrid vigor, or outbreeding enhancement, is the improved or increased function of any biological quality in a hybrid offspring. The adjective derived from heterosis is heterotic.
Gibrid-	duragay-genetik jihatdan har xil bo‘lgan turlarni chatishtirish natijasida hosil bo‘lgan geterozigota jinsi. Ota-ona irsiy belgilarini o‘zida mujassamlashtirgan organizm.	Hybrid	In biology a hybrid, also known as cross breed, is the result of mixing, through sexual reproduction, two animals or plants of different breeds, varieties, species or genera.[1] Using genetic terminology, it may be defined as follows.
Ginogenez –	murtak xaltasi hujayralaridan o‘simlik paydo bo‘lish jarayoni.	Gynogenesis	Offspring are produced by the same mechanism as in parthenogenesis, but with the requirement that the egg merely be stimulated by the presence of sperm in order to develop.
Giflar-	ipchalar-zamburug‘ tanasini tashkil etuvchi bir yoki bir necha hujayradan hosil bo‘lgan, mikroskopda arang ko‘rish mumkin bo‘lgan iplar.	Gifral	A threads – of molds

Gormon retseptor kompleks-	gormon va oqsil retseptorining birikishi, gormon ta'siri amalga oshirishining birinchi bosqichi.	Hormone receptor complex	Connect hormone and protein receptors, the first degree of the influence of the hormone
Gormon statusi	– ontogenezda o'simlik va hayvon gormon tizimining umumiy holati,	Hormone status	The general condition of the animal and plant structure in ontogenesis
Destruksiya –	moddalarning parchalanish orqali fiziologik faolligini yo'qotishi.	Destruction	Loss of physical activity by splitting substances
Didifferensiya -	ixtisoslashgan, bo'linmaydigan hujayralarning differensiyalanmasdan bo'linayotgan kallus hujayralariga aylanish.	Differ	
Diploid –	mazkur turga xos sonlarni ko'rsatuvchi gomologik xromosomalarning ikkita to'plami bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra va organizm.	Diploid	Diploid cells have two homologous copies of each chromosome, usually one from the mother and one from the father.
Differensiyalash	asosiy va yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida, shuningdek yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida farq yuzaga keltiruvchi jarayonlar kompleksi.		
DNK –	dezoksiribonuklein kislotalar molekulasi, nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, timin),	DNA	Deoxyribonucleic acid is a molecule that carries most of the genetic instructions used in the development,

	dezoksiriboza va fosfor kislota qoldiqlaridan tashkil topgan.		functioning and reproduction of all known living organisms and many viruses.
DNK replikatsiyasi –	fermentlar to‘plami (DNK polimeraza, ligaza va boshqalar) yordamida DNK nusxasini hosil qilish orqali uning molekulalarini ikkilanishi (ikki marta ko‘payishi).	DNA replication	Cell division is essential for an organism to grow, but, when a cell divides, it must replicate the DNA in its genome so that the two daughter cells have the same genetic information as their parent.
YOpiq tizim –	tashqi muhit bilan faqat energiya orqali almashinuvchi tizim.	Closed system	A closed system is a physical system that does not allow certain types of transfers (such as transfer of mass) in or out of the system.
YOpihqoq uchlar -	komplementlar holdagi DNK molekulasining bitta ipli uchi bo‘lib, endonukleazalar yordamida kesib olinadi.	sticky ends	DNA end or sticky end refers to the properties of the end of a molecule of DNA or a recombinant DNA molecule.
Identifikatsiya -	aynan o‘xshatish, tenglashtirish-modda yoki mikroorganizmlar turi va xillarini aniqlashga qaratilgan tadqiqotlar turi.	Identification	Identification in biology is the process of assigning a pre-existing taxon name to an individual organism.
Immobilizatsiya –	membranalarda hujayra, fermentlarni to‘plashda foydalaniladigan fizik va kimyoviy jarayon.	immobilization	An immobilized enzyme is an enzyme that is attached to an inert, insoluble material such as calcium alginate
Ingibitor-	to‘xtatuvchi-fermentlar, faolligini to‘xtatuvchi tabiiy yoki sintetik	Inhibitor	Enzyme inhibitor, a substance that binds to an enzyme and decreases the enzyme's

	modda (sun'iy olingan).		activity
Induktor-	nofaol holatga o'tkazadigan past molekulali modda.	Inductor	inactive state of low molecular weight substances.
Induksiya-	ferment sintezi, faglar rivojlanishi va mutatsiyaga o'xshagan biologik jarayonni harakatga tushirish.	Induction	Enzyme induction is a process in which a molecule induces the expression of an enzyme.
Initsiatsiya-	molekulyar biologiyadagi translyasiya jarayonining birinchi bosqichi.	Initiation	The initial stage of the translation process in molecular biology
Inkubatsiya-	o'stirish-ma'lum sharoitda, haroratda mikroblarni ushlab turish, o'stirish.	Incubation	Cultivation. microbial exposure at a specific temperature
Inokulyat-	ko'paytirish usuli-tirik organizmlar, masalan, mikroorganizmlar suspenziyasi ozuqa muhitga o'tkazilgandan keyin yangi avlod beradi.	The inoculum	method of reproduction of organisms, microorganisms
Intron –	genning transkripsiyalanayotgan “sukunat saqlovchi” protsessing jarayonida RNK molekulalari ajralib chiqayotgan va kodonlar mavjud bo'lmagan qismi.	Intron	An intron is any nucleotide sequence within a gene that is removed by RNA splicing during maturation of the final RNA product.
Issiqlik shoki oqsillari (ISHO) -	haroratning normadan oshishiga organizm tomonidan hosil bo'ladigan oqsillar.	Thermal shock proteins	

Kompetensiya –	hujayra, to‘qima, organ va organizmning indutsirlovchi ta’sirlarni qabul qilishi va unga rivojlanishini o‘zgartirish orqali spetsifik ta’sirlanish.	Competence	In microbiology, genetics, cell biology, and molecular biology, competence is the ability of a cell to take up extracellular DNA from its environment.
Komplementar zanjir –	RNK va unga hamkorlik uchun mos keladigan nukleotidlarni sintezlan uchun foydalaniladigan DNK zanjirlaridan biri.	complementary chain	The two base-pair complementary chains of the DNA molecule allow for replication of the genetic instructions.
Kataliz-	ozonlangan havo tarkibida ishtirok etadigan kislorodning oksidlovchilik hususiyatini oshirish	Catalysis	Catalysis is the increase in the rate of a chemical reaction due to the participation of an additional substance called a catalyst
Ligaza-DNK	zanjiridagi uzilgan qismni fosfodiefirbog‘ hosil qilish yordamida birlashtiruvchi ferment.	DNA ligase	DNA ligase is a specific type of enzyme, a ligase, that facilitates the joining of DNA strands together by catalyzing the formation of a phosphodiester bond.
Ligirlash –	DNKning bir zanjirdagi uzilish orqali ajralgan asoslar orasidagi fosfodiefir bog‘larining hosil bo‘lishi. Bu ibora to‘mtiq uchlarni biriktirish hollarida va RNK bog‘lar hosil bo‘lishida ham qo‘llaniladi.	Ligation	the covalent linking of two ends of DNA or RNA molecules, most commonly done using DNA ligase, RNA ligase (ATP) or other enzymes.
Lizis-	erib ketish, parchalanish-fermentlar, kislotalar va ishqorlar ta’sirida	Lysis	Lysis refers to the breaking down of the membrane of a cell, often by viral, enzymic,

	hujayralarning parchalanishi; bakteriya hujayrasida bakteriofaglarning ko'payishi natijasida uning erib ketishi.		or osmotic mechanisms that compromise its integrity.
Marker (DNK) —	elektroforez gelida fragmentlar o'lchamini aniqlashda foydalaniladigan ma'lum o'lchamdagi DNK fragmenti.	Marker (DNA)	Genetic marker, a DNA sequence with a known location associated with a particular gene or trait
Marker gen —	joylashgan joyi aniqlangan va aniq fenotipik ko'rinishga ega gen.	Marker gene	A marker gene is a gene used in nuclear biology and molecular biology to determine if a nucleic acid sequence has been successfully inserted into an organism's DNA.
Matritsa.	1) ma'lum bir tana (shakl) bo'lib, unga qarab yangi shaklning hosil bo'lishi; 2) (molekulali biologiyada) DNK va RNK iplarini komplementlar sintezlanishi uchun asos sifatida xizmat qiladigan va nuklein kislotalardagi azot asoslarining ketligi.	Matrix	Matrix, the material or tissue between cells in which more specialized structures are embedded
Metabolizm-	oraliq almashinish, ya'ni moddalarning hujayra ichiga tushgan vaqtdan oxirgi mahsulotlar hosil	Metabolism	Metabolism is the set of life-sustaining chemical transformations within the cells of living organisms.

	bo'lgunga qadar aylanishi; katabolizm va anabolizm jarayoni yig'indisi; qorong'ulikda kechadigan metabolizm-mikroorganizmlarning (qirmizi bakteriyalar Rhodospirillum) qorong'ida aerob holda o'sish xususiyati. Bu xususiyat bakteriyalarda nafas olish zanjirining kerakli qismlari borligidan dalolat beradi.		
Metabolitlar-	metabolizm jarayonida hosil bo'ladigan moddalar.	Metabolites	Metabolites are the intermediates and products of metabolism.
Mikroorganizmlar uyushmasi-	har doim birga uchraydigan va bir-biri bilan bog'liq holda yashaydigan mikroorganizmlar birlashmasi.	microbial colony	A microbial colony is defined as a visible cluster of microorganisms growing on the surface of or within a solid medium, presumably cultured from a single cell.
Mikroflora-	har xil turdagi mikroorganizmlarning ma'lum yashash muhitidagi to'plami; avtohton mikroflorasi; suv mikroflorasi; havo mikroflorasi; balchiq mikroflorasi; odatdagi mikroflora; organizm mikroflorasi; qo'shimcha mikroflora; tuproq mikroflorasi;	Microorganisms	a collection of different species of microorganisms living environment; avtoxonon mikroflora; mikroflora; mikroflora; mud mikroflora; normal mikroflora; microorganism; mikroflora; soil mikroflora; rizosfera mikroflora.

	rizosfera mikroflorasi.		
Mitselliy-	zamburug‘ tana- zamburug‘, jumladan sho‘‘lasimon zamburug‘larning o‘sadigan tanasi bo‘lib, bir va ko‘p hujayrali ipchalar (gif)dan iborat.	Mycelium	Mycelium is the vegetative part of a fungus, consisting of a mass of branching, thread- like hyphae.
Modifikatsiya-	mikroorganizmlarning fenotipik o‘zgarishi, ya’ni hujayraning genetik apparatlariga aloqador bo‘lmagan o‘zgarishlar.	Modification	A modification is a change in the physical appearance of an organism (phenotype) caused by environmental factors.
Morfogenez –	organ (organogenez), to‘qima(gistogenez) va hujayralarning (sitogenez yoki hujayralarning differensiyalanishi) shakllanish jarayoni. Organizmlarning rivojlanishi jarayonida tizimlarning tabaqalanishi.	Morphogenesis is	Morphogenesis is the biological process that causes an organism to develop its shape.
Mutagenez-	mutagenez o‘zgarishning (mutagenezning) ro‘y berishi-organizmda irsiy o‘zgarishlar- mutatsiyalarning vujudga kelish jarayoni. Bu jarayon asosida irsiy axborotni saqllovchi va naslga o‘tkazuvchi nuklein kislotalar	Mutagenesis	Mutagenesis is a process by which the genetic information of an organism is changed in a stable manner, resulting in a mutation.

	molekulasining o'zgarishi yotadi.		
Mutagenlar	DNK molekulasida mutatsiyalarning paydo bo'lish chastotalarini oshiruvchi omil. Irsiyatni o'zgartiruvchilar-mutatsiyalar hosil qiluvchi fizikaviy va kimyoviy omillar;	Mutagens	A mutagen is a physical or chemical agent that changes the genetic material, usually DNA, of an organism and thus increases the frequency of mutations above the natural background level.
Mutatsiya	gen, xromosomadagi nukleotid izchillik, genomning birorta belgining o'zgarishiga va ularning avlodlarda saqlanishiga olib keluvchi spontan va indutsirlangan o'zgarishi.	Mutation	A mutation is a permanent alteration of the nucleotide sequence of the genome of an organism, virus, or extrachromosomal DNA or other genetic elements.
Nishon - hujayra	u yoki bu fitogarmon retseptorini tutuvchi va fitogarmonning konsentratsiyasi o'zgarganda metabolizmni o'zgartiruvchi hujayra.	Target cell	target cells are red blood cells that have the appearance of a shooting target with a bullseye.
Nuklein kislotalar	turli nukleotidlar qoldiqlaridan tashkil topgan yuqori molekulyar tabiiy birikmalar (polimerlar). Hujayra mag'zining asosini tashkil qiladi. Nuklein kislotalarning ikki turi: RNK, DNK hujayralarning doimiy komponentlaridir.	Nucleic acids	Nucleic acids are biopolymers, or large biomolecules, essential for all known forms of life. Nucleic acids, which include DNA (deoxyribonucleic acid) and RNA (ribonucleic acid), are made from monomers known as nucleotides.

Noosfera	biosferani tabiat qonunlari asosida boshqarish, inson ongining yuqori taraqqiy etishi	Noosphere	The noosphere is the sphere of human thought
Organogenez	uyushmasdan oʻsayotgan kallus hujayralarida organlar (ildiz, boshlangʻich barglar va nihollar) hosil boʻlish jarayoni.	Organogenesis	In animal development, organogenesis is the process by which the ectoderm, endoderm, and mesoderm develop into the internal organs of the organism.
Ochiq tizim	tashqi muhit bilan energiya va moddalar bilan almashinadigan tizim.	Open systems	the external environment and the energy and material exchange with the system.
Oziq zanjiri-	moddalarning aylanma harakati	food chain	A food chain is a linear network of links in a food web starting from producer organisms and ending at apex predator species, detritivores, or decomposer species.
Ozonoliz-	Ozonning ikkilamchi va birlamchi uglerod bogʻlariga fiksatsiya jarayoni	Oxonolysis	The process of fixing the first and second carbon ozone connection
Partenogenez	asosning faqat ona hujayra genlari ishtirokida rivojlanishi.	Parthenogenesis	Parthenogenesis is a natural form of asexual reproduction in which growth and development of embryos occur without fertilization.
Plazmida	avtonom replikatsiyalanishga qodir, tarkibida retsipientlarning begona genlarini va boshqa DNK	Plasmid	A plasmid is a small DNA molecule within a cell that is physically separated from a chromosomal DNA and can replicate independently.

	izchilligini tutish va genomga kiritish xususiyatiga ega, ikki zanjirli halqasimon DNK plazmid vektori asosi.		
Poliadenillash	poliadenil kislota izchilligining eukariot RNK 3-uchiga uning sintezi tugaganidan so'ng birikishi.	Polyadenylation	Polyadenylation is the addition of a poly(A) tail to a messenger RNA.
Poliploidiya	organizm gaploid xromosomalar yig'indisining karrali ortishi bilan bog'liq bo'lgan irsiy o'zgaruvchanlik.	Polyploid	Polyploid cells and organisms are those containing more than two paired (homologous) sets of chromosomes.
Proliferatsiya	hujayra va to'qimalarning ko'payish yo'li bilan hosil bo'lishi.	Proliferation	The term cell growth is used in the contexts of cell development and cell division (reproduction).
Promotor	genning transkripsiyasi boshlanishi uchun javobgar qismi	promoter	In genetics, a promoter is a region of DNA that initiates transcription of a particular gene.
Pronukleus	urug'langan tuxum hujayra yadrosi.	Pronucleus	A pronucleus is the nucleus of a sperm or an egg cell during the process of fertilization, after the sperm enters the ovum, but before they fuse.
Proton pompasi	maxsus oqsillar yordamida protonlarning hujayra membranasi orqali o'tish jarayoni.	Proton pump	A proton pump is an integral membrane protein that is capable of moving protons across a biological membrane.
Protoplast	mexanik yo'l bilan yoki fermentlar yordamida hujayralar qobig'idan	Protoplast	Protoplast, initially referred to the first human[citation needed] or, more generally, to

	mahrum qilingan, membrana yordamida shaklini ushlab turuvchi o'simlik hujayrasi.		the first organized body of a species. In modern biology.
Profag	bakteriya xromosomasiga o'rnatilgan fag genomi. Lizogen bakteriyalardan yashiringan, yuqmaydigan shakldagi mo'tadil bakteriofag.	Prophage	A prophage is a bacteriophage genome inserted and integrated into the circular bacterial DNA chromosome or existing as an extrachromosomal plasmid.
Protsessing	etilish jarayoni	Processing	maturation
Regeneratsiya-	hujayralar tiklanishi.	Regeneration	cell recovery
Rekombinant gen –	turli genlar komponentlaridan tarkib topgan gen.	Chimeric gene	Chimeric genes form through the combination of portions of one or more coding sequences to produce new genes. These mutations are distinct from fusion genes which merge whole gene sequences into a single reading frame and often retain their original functions.
Rekombinant DNK-	turli manbalardan olingan DNK qismlaridan iborat DNK.	Recombinant DNA	Recombinant DNA (rDNA) molecules are DNA molecules formed by laboratory methods of genetic recombination to bring together genetic material from multiple sources, creating sequences that would not otherwise be found in the genome.
Rekombinatsiya	krossingover natijasida ota-onalar genlarining	Recombination	

	qayta guruhlanishi(tabaqalani shi).		
Reparatsiya-	DNKning sintezi vaqtida hamda har xil fizik va kimyoviy omillar ta'sirida DNK molekulasi uzilib qolgan yoki shikastlangan molekulalarni tuzatishga bo'lgan hujayralarning maxsus vazifasi.	Repair	DNA repair is a collection of processes by which a cell identifies and corrects damage to the DNA molecules that encode its genome.
Repressiya-	gen ekspressiyasini va yoxud o'shanga taalluqli ferment sintezini to'xtatish mexanizmi.	Repression	Expression of the gene and the mechanism of recovery of enzymatic synthesis
Repressor-	ma'lum operonda RNK sintezini to'xtatadigan boshqaruvchi oqsil.	Repressor	A repressor is a DNA- or RNA-binding protein that inhibits the expression of one or more genes by binding to the operator or associated silencers.
Restriktazalar -	kesuvchi fermentlar, restriksiya fermentlari, DNKni ma'lum bir nukleotidlar qatorida kesadigan fermentlar. Gen muhandisligida qo'llaniladigan vosita.	Restriction enzymes	A restriction enzyme or restriction endonuc lease is an enzyme that cuts DNA at or near specific recognition nucleotide sequences known as restriction sites.
Sayt-	o'rin, joylanish-genlar xaritasidagi nuqtali mutatsiya o'rni.	Site-	Location, location of a point mutation in the gene map
Segment-	karj, bo'lak.	Segment-	snippet
Seleksiya-	tanlash-hayvon,	Selection-	new strains of

	o'simlik va mikroorganizmlarning yangi zotlari, navlari va shtammlarini yaratish usuli.		microorganisms
Skrining-	bitta hujayradan klon olish yo'li bilan mikroorganizmlarning aralash populyasiyasidan keragini ajratish.	Screening	Before switching on the contents of a clone of the candidate chart smeshannye population of microorganisms po points.
Substrat-	ozuqa muhit-mikroorganizmlarning o'sishi uchun kerak bo'lgan ozuqa muhiti.	Substrat-	Pitatlnaya consistently dlya microorganisms kultivirovanie
Termodinamik tizim	qayta hosil qilish, to'plash va foydalanish xususiyatiga ega o'zaro bog'liq elementlar kompleksi.	thermodynamic system	I Properties sobratat complex elementnye
Transduksiya-	bakteriofaglar yordamida genetik materialni donor hujayradan retsipient hujayraga olib o'tish.	Transduksiya-	Perevesti retsipientnyx candidate trace donornyx candidate s pomoshchyu bacteriophage
Ultrafiltratsiya -	kolloid zarrachalarni ajratish jarayonidir	Ultrafiltratsiya	The process of selection of the colloidal particles
Faglar-	viruslar	Fag-	virus
Fenotip-	organizmlarning rivojlanishi jarayonida yuzaga kelgan hamma belgi va xususiyatlar yig'indisi.	Phenotype	Sum Properties signs during development of the organism processes
Fermenter-	ayrim xomashyolarni mikroorganizmlar yordamida bijg'itish uchun ishlatiladigan hamma tomoni berk	Fermenter-	Apparatus for fermentation of certain raw materials using microorganisms

	asbob.		
Fermentlar-	Biologik katalizator	Enzymes	biocatalyst
Fitoaleksinlar –	genotipik va real komponentlari.	phytoalexins	Genotype and the actual components
Fotosintez-	yorug‘lik energiyasi ishtirokida o‘simliklar, suvo‘tlari va ayrim bakteriyalar hujayralarida SO ₂ dan organik moddalar hosil bo‘lish jarayoni.		Identification of the organic substances CO ₂ in bacteria, some algae with light energy
Fragmentlar	parchalar, qismlar.	Fragments	Part
Xemosintez	ayrim mikroorganizmlarga xos bo‘lgan oziqlanish turi.	xemosintez	Class pitaniya spetsificheskimi dlya microorganisms opredelennyyx
Xromosomalar	DNK va oqsillardan iborat hujayra yadrosini genetik struktura hosilasi	Chromosome s	The genetic structure of the core protein and DNA
Sentrifuga-	ajratkich, analitik (laboratoriya) ajratkich; tebranuvchi ajratkich; gorizontaal ajratkich; bug‘lantiruvchi ajratkich; cho‘ktiruvchi ajratkich; tindiruvchi ajratkich; preparativ ajratkich; o‘z-o‘zini bo‘shatadigan ajratkich; suzish yo‘li bilan ishlaydigan ajratkich; ko‘p bo‘limli ajratkich; o‘ta tez aylanadigan ajratkich; tabaqalashtiruvchi, tafovutli ajratkich.	Tsentrifuga-	Separator, analytical (laboratory) Separator; vibration Separator; horizontal Separator; and evaporating Separator; Mazur Separator; Stir Separator; Preparation Separator; self-released Separator; swimming, working through the Separator; Separator for the most part; very quickly turn into Separator; differentiated divergent Separator.

IX. ADABIYOTLAR RO'YXATI

O'zbekiston Respublikasi Prezidentining asarlari

1. Mirziyoev SH.M. Buyuk kelajagimizni mard va olijanob xalqimiz bilan birga quramiz. – T.: “O'zbekiston”, 2017. – 488 b.
2. Mirziyoev SH.M. Milliy taraqqiyot yo'limizni qat'iyat bilan davom ettirib, yangi bosqichga ko'taramiz. 1-jild. – T.: “O'zbekiston”, 2017. – 592 b.
3. Mirziyoev SH.M. Xalqimizning roziligi bizning faoliyatimizga berilgan eng oliy bahodir. 2-jild. T.: “O'zbekiston”, 2018. – 507 b.
4. Mirziyoev SH.M. Niyati ulug' xalqning ishi ham ulug', hayoti yorug' va kelajagi farovon bo'ladi. 3-jild.– T.: “O'zbekiston”, 2019. – 400 b.
5. Mirziyoev SH.M. Milliy tiklanishdan – milliy yuksalish sari. 4-jild.– T.: “O'zbekiston”, 2020. – 400 b.

Normativ-huquqiy hujjatlar

6. O'zbekiston Respublikasining Konstitutsiyasi. – T.: O'zbekiston, 2018.
7. O'zbekiston Respublikasining 2020 yil 23 sentyabrda qabul qilingan “Ta'lim to'g'risida”gi O'RQ-637-sonli Qonuni.
8. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2015 yil 12 iyun “Oliy ta'lim muassasalarining rahbar va pedagog kadrlarini qayta tayyorlash va malakasini oshirish tizimini yanada takomillashtirish chora-tadbirlari to'g'risida”gi PF-4732-sonli Farmoni.
9. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevral “O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasi to'g'risida”gi 4947-sonli Farmoni.
10. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 20 aprel "Oliy ta'lim tizimini yanada rivojlantirish chora-tadbirlari to'g'risida”gi PQ-2909-sonli Qarori.
11. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2018 yil 21 sentyabr “2019-2021 yillarda O'zbekiston Respublikasini innovatsion rivojlantirish strategiyasini tasdiqlash to'g'risida”gi PF-5544-sonli Farmoni.
12. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 27 may “O'zbekiston Respublikasida korrupsiyaga qarshi kurashish tizimini yanada takomillashtirish chora-tadbirlari to'g'risida”gi PF-5729-son Farmoni.
13. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 17 iyun “2019-2023 yillarda Mirzo Ulug'bek nomidagi O'zbekiston Milliy universitetida talab yuqori bo'lgan malakali kadrlar tayyorlash tizimini tubdan takomillashtirish va ilmiy salohiyatini rivojlantiri chora-tadbirlari to'g'risida”gi PQ-4358-sonli Qarori.
14. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 27 avgust “Oliy ta'lim muassasalari rahbar va pedagog kadrlarining uzluksiz malakasini

oshirish tizimini joriy etish to'g'risida"gi PF-5789-sonli Farmoni.

15. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 8 oktyabr "O'zbekiston Respublikasi oliy ta'lim tizimini 2030 yilgacha rivojlantirish konsepsiyasini tasdiqlash to'g'risida"gi PF-5847-sonli Farmoni.

16. O'zbekiston Respublikasi Prezidenti SHavkat Mirziyoevning 2020 yil 25 yanvardagi Oliy Majlisga Murojaatnomasi.

17. O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining 2019 yil 23 sentyabr "Oliy ta'lim muassasalari rahbar va pedagog kadrlarining malakasini oshirish tizimini yanada takomillashtirish bo'yicha qo'shimcha chora-tadbirlar to'g'risida"gi 797-sonli Qarori.

Maxsus adabiyotlar

18. Пругло Г.Ф., Фёдорова О.Б., Смит Р.А. Хроматографические методы анализа: учебное пособие / ВШТЭ СПбГУПТД. - СПб., 2017. - 85 с.

19. Лебухов В.И., Окара А.И., Павлюченкова Л.П. Физико-химические методы исследования: учеб. - СПб.: Лань, 2012. - 480 с.
<http://e.lanbook.com>

20. Henry Richard A. "The Early Days of HPLC at Dupont". Chromatography Online. Avanstar Communications Inc. 1 February 2009.

21. Гиндуллина Т.М., Дубова Н.М. Хроматографические методы анализа: учебно-методическое пособие. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2010. – 80 с.

22. Жебентяев А.И. Аналитическая химия. Хроматографические методы анализа. Учебное пособие. – Витебск: ВГМУ, 2011. – 220 с.

23. Лебухов В.И., Окара А.И., Павлюченкова Л.П. Физико-химические методы исследования: учебник. - СПб.: Лань, 2012. - 480 с.
<http://e.lanbook.com>

24. Пищевая технология: науч.-техн. журн. Мин-во образования и науки Рос. Федерации. - Краснодар: Изд-во Кубан. гос. техн. ун-та, 2018. 249 с.

25. O'simliklardan olingan genetik modifikatsiyalangan manbalarni (gmm) biologik mikrochipdan foydalangan holda identifikatsiyalash usuli. Uslubiy qo'llanma. Toshkent-2023

Internet saytlar

26. <http://edu.uz> – O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi.

27. <http://lex.uz> – O'zbekiston Respublikasi Qonun hujjatlari

ma'lumotlari milliy bazasi.

28. <http://bimm.uz> – Oliy ta'lim tizimi pedagog va rahbar kadrlarini qayta tayyorlash va ularning malakasini oshirishni tashkil etish bosh ilmiy-metodik markazi.