

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

Qishloq xo'jaligi vazirligi

TOSHKENT DAVLAT AGRAR UNIVERSITETI



"Amaliy enzimologiya"

**O'quv qo'llanma**

Toshkent 2021

O'quv-uslubiy majmua O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligining 2020 yil 1 martdagi buyrug'i bilan tasdiqlangan o'quv dasturiga muvofiq tayyorlangan.

### **Muallif**

Murodova S.S. Agrobiotexnologiya kafedrası professori, biologiya fanlari doktori

Xalmuminova G.Q.- Agrobiotexnologiya kafedrası katta o'qituvchi, q/x.f.f.d., PhD

Xo'janazarova M.Q.- Agrobiotexnologiya kafedrası assistenti

**Taqrizchilar:** Қишлоқ хўжалигида экологик ҳавфсизлик ва ботаника

**Alimova R.A.** – Toshkent davlat agrar universiteti Qishloq xo'jaligida ekologik havfsizlik va botanika kafedrası dotsenti, t.f.n.

**Kadirova G.X.** – O'zR FA Mikrobiologiya insituti yetakchi ilmiy xodimi, biologiya fanlari doktori.

# **1-MAVZU. AMALIY ENZIMOLOGIYA FANIGA KIRISH, FANNING PREDMETI VA VAZIFASI**

## **Reja:**

1. Amaliy enzimologiyaning maqsadi va vazifalari.
2. Fermentlar haqida umumiy tushuncha, ularning tasnifi
3. Xalq xo'jaligi uchun ularni qo'llash qiymati

Tayanch iboralar: fermentologiya, fermentlar, ferment preparatlari, immobilizatsiya, fermentlarning modifikatsiyasi, fermentativ reaksiyalar.

Fermentlar kimyoviy reaksiyalarni tezlashtirishi mumkin bo'lgan oqsillardir. Tabiatda mavjud bo'lgan 25000 ga yaqin turli xil fermentlarning bugungi kungacha 3000 dan ortiq fermentlarning nomlari tavsiflangan va fermentlardan oz qismi amaliy maqsadlarda ishlatilgan. Ayni paytda fermentlar kimyoviy reaksiyalarni 108 - 1012 marta tezlashtirishga qodir bo'lgan juda samarali katalizatorlardir. Ular katalizlaydigan aksariyat reaksiyalar biologik tizimlarda o'z-o'zidan paydo bo'lishi mumkin emas edi. Fermentlarning yana bir muhim xususiyati ularning bir xil moddaning turli xil moddalariga, kimyoviy bog'lanishlariga va har xil turdagi izomerlariga nisbatan ta'sirchanligi. Ularning ta'siri eritmaning haroratiga, kislotaligiga, ion kuchiga bog'liq. Nafaqat sintez va hayot aylanishi bosqichlarida, balki o'ziga xos aktivatorlar va inhibitorlar yordamida ham qat'iy nazorat qilinadi.

Fermentlarning bo'limi - nazariy enzimologiya biologiya, fizik kimyo va gen muhandisligi chorrahasida jadal rivojlanmoqda. O'tgan asrning boshlarida u sanoatchilarning qiziqishini uyg'otdi va hozirgi vaqtda amaliy enzimologiya biotexnologiyaning etakchi tarmog'iga aylandi. Biotexnologiya sanoati tomonidan ishlab chiqariladigan ferment preparatlarini sotish hajmi yiliga milliardlab dollarga baholanmoqda, ularning ishlab chiqarilishi har yili yiliga 10-15 foizga ko'paymoqda. Ferment preparatlari biotexnologik jarayonlarda, shuningdek zamonaviy sanoatning turli sohalarida, farmatsevtika va tibbiyotda keng qo'llaniladi.

Hozirgi vaqtda fermentlar va biotexnologlar nafaqat yangi fermentlarni izlash va ularning xususiyatlarini o'rganish bilan shug'ullanmoqdalar, balki fermentlar preparatlarining barqarorligini oshirish, ularning davomiyligini ko'paytirish va ishlab chiqarishda yo'qotishlarni kamaytirish uchun yanada ko'proq harakatlar olib borilmoqda. Kimyoviy modifikatsiya qilish, fermentlarni immobilizatsiya qilish, shuningdek ularni genetik muhandislik usullari bilan ishlab chiqarish texnologiyalari faol rivojlanmoqda.

**Ushbu fanning maqsadi** talabalarni nazariy enzimologiyaning asosiy bo'limlari bilan tanishtirish, uning amaliy ma'nosi haqida tushuncha berish, shuningdek, o'quv va amaliy maqsadlar uchun zarur bo'lgan tadqiqot usullarini taqdim etishdir. Albatta, ushbu mavzu doirasida zamonaviy enzimologiyaning barcha jihatlarini keng ko'rib chiqish mumkin emas.

## **Mavzuning vazifalari:**

1. Fermentatik reaksiyalarning asosiy kinetik parametrlarini kiriting.

2. Ferment preparatlaridan turli sohalarida foydalanish haqida ma'lumot bering.
3. Fermentlarning xususiyatlarini o'rganish va ularning faolligini turli biologik muhitda aniqlash usullari bilan tanishish.
4. Bilimlarni nazorat qilish uchun savollar va o'z-o'zini tekshirish uchun testlarni echish.

#### **Test savollari:**

1. Enzimologiya so'zinning ma'nosi nima?
2. Amaliy fermentologiya nimani o'rganadi, uni o'rganish ob'ekti?
3. Amaliy enzimologiyaning qaysi bo'limlarini bilasiz?
4. Amaliy enzimologiyaning boshqa fanlar bilan aloqasi?
5. Amaliy enzimologiyaning rivojlanish bosqichlari?
6. Amaliy enzimologiyada nimalar aniqlangan?
7. Amaliy fermentologiya fani qachon asos solgan?

### **2-MAVZU:ENZIMOLOGIYA ASOSLARI**

#### **REJA:**

1. Fermentlarning tuzilishi va ta'sir mexanizmining tuzulishi
2. Fermentatik reaksiyalar kinetikasi
3. Fermentatik faollik va ularni alohida guruhlariga bo'lish.

**Tayanch iboralar:** amfoterlik, elektroforetik harakatchanlik, apoferment, koenzimlar, poliribonukleotid, ribozim, proteazalar, lipazalar, ribonukleaza, apoenzim, holofermentlar, murakkab oqsillar,

#### **1. Fermentlarning kimyoviy tabiati va tuzilishi**

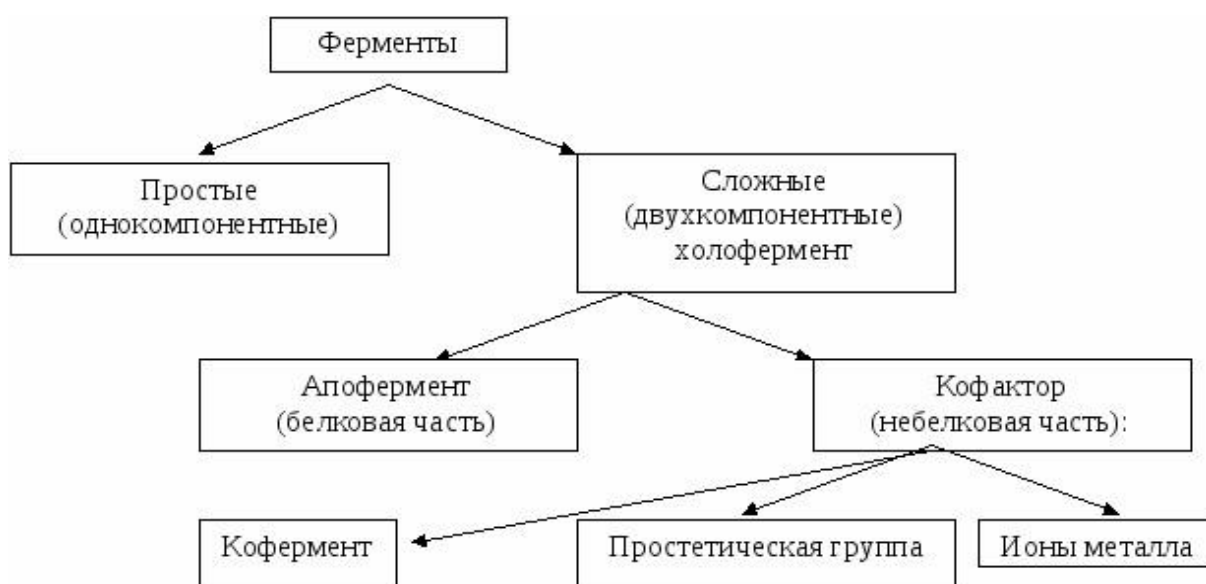
**Fermentlar** - bu barcha tirik organizmlarning to'qimalarida va hujayralarida mavjud bo'lgan va ularida sodir bo'ladigan kimyoviy reaksiyalarni ko'p marta tezlashtirishga qodir bo'lgan moddalar.

Ko'pgina noorganik tabiat katalizatorlaridan farqli o'laroq, fermentlar yuqori samaradorlik va ta'sirning o'ziga xos xususiyatlariga ega. Oqsilsiz katalizatorlar odatda reaksiyalarni 10<sup>1</sup>-10<sup>3</sup> marta tezlashtirsa, fermentlar ta'sirida reaksiyalarning tezlanish tezligi 10<sup>6</sup>-10<sup>12</sup> ga teng.

Asosan, fermentlar o'ziga xos oqsillardir. Biroq, yigirmanchi asrning 80-yillarida T. Chek va S. Altman ribozimlar deb nomlangan (ular fermentlar tasnifiga kiritilmagan) past molekulyar og'irlikdagi poliribonukleotidlarda katalitik xususiyatlarni kashf etdilar va 1989 yilda ushbu kashfiyot Kimyo bo'yicha Nobel mukofoti. Ushbu bo'limda muhokama fermentlarning eng katta guruhi - yuqori darajada ixtisoslashgan oqsil molekulalariga qaratiladi.

Fermentlar, barcha oqsillar singari, bir qator xarakterli xususiyatlarga ega: amfoterlik, elektroforetik harakatchanlik va yarim o'tkazuvchan membranalar orqali dializga qodir emaslik. Fermentlarning katta molekulyar massasi bor: o'n mingdan bir necha million daltongacha. Ular oqsil molekulalarini tarkibiy tashkil etishning barcha xususiyatlariga ega (birlamchi, ikkilamchi, uchinchi va to'rtinchi darajali tashkilot darajalari).

Fermentlar oddiy polipeptid zanjirlaridan qurilgan va faqat aminokislotalarga gidrolizlanganda parchalanadigan oddiy oqsillar bo'lishi mumkin. Oddiy oqsillar - bu koferment bo'lmaganda o'z vazifalarini bajaradigan gidroliz fermentlari (masalan, proteazalar, lipazlar, ribonukleaza). Ko'pgina hollarda fermentlar murakkab oqsillardir. Murakkab oqsillar (holoenzimlar) tarkibida oqsil qismi (apoenzim) bilan birga oqsil bo'lmagan tarkibiy qism (koferment yoki protez guruhi) mavjud (1-rasm).



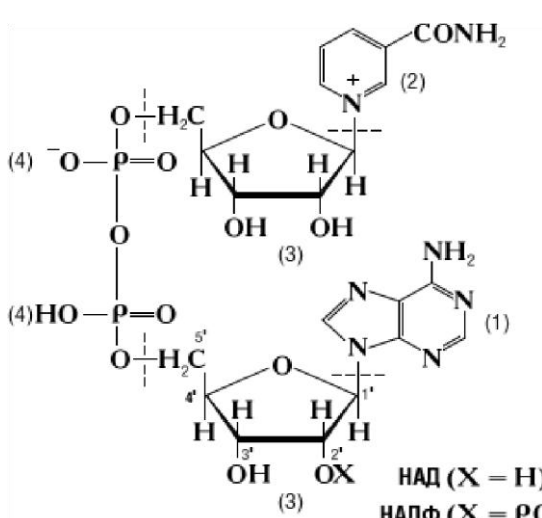
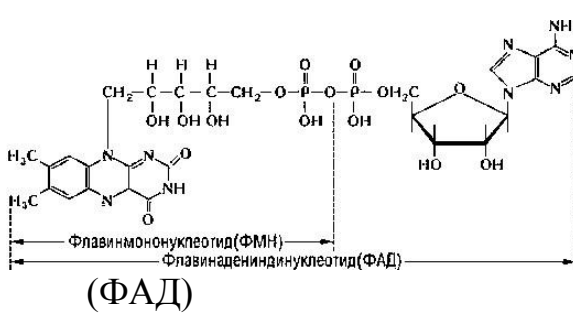
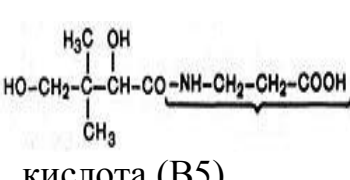
Apoferment ferment ta'sirining o'ziga xosligini ta'minlaydi. Koenzimlar ko'pincha molekulaning oqsil qismi bilan kovalent bo'lmagan o'zaro ta'sirlar orqali bog'lanadi: vodorod, hidrofob yoki ion bog'lanishlari. Apofermentning kofermentga (tetrahidrofolat va biotin) kovalent birikishi kamroq uchraydi. Koenzimlar va boshqa protez guruhlari kataliz jarayonida bevosita ishtirok etadi.

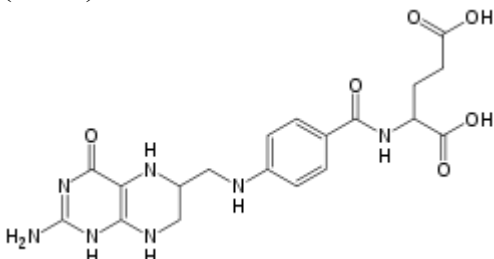
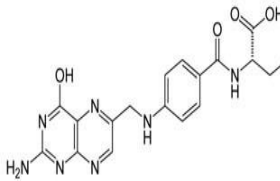
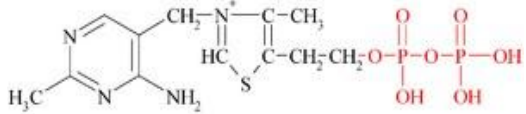
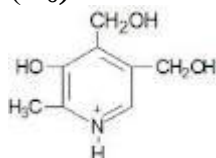
Ikki komponentli fermentlarning o'ziga xos xususiyatlaridan birini ta'kidlash kerak: faqat apoenzim koenzim yoki kofaktor bilan birikganda ular katalitik faollikka ega bo'ladi. Barcha fermentlarning 25% dan ortig'i to'liq katalitik faollik uchun metall ionlarini talab qiladi.

Koenzimlarning aksariyati suvda eriydigan vitaminlardan olinadi (1-jadval).

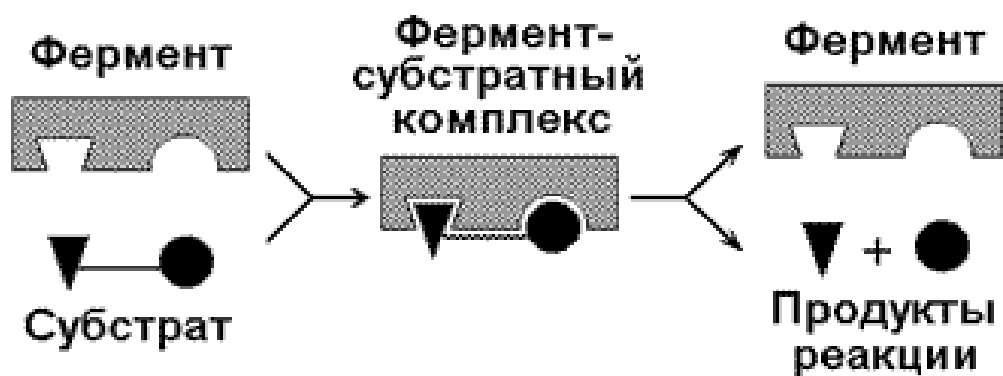
1-jadval.

Kofermentlar va protezli ferment guruhlari

| Наименование                                                                                                                                                            | Витамин                                                                                                                          | Переносимые частицы |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| <p>Никотинамидадениндинуклеотид (НАД), никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ)</p>  | Никотинамид, (РР)                                                                                                                | Электроны и протоны |
| <p>Флавиномононуклеотид (ФМН), флавинадениндинуклеотид (ФАД)</p>                     | Рибофлавин, (В <sub>2</sub> )                                                                                                    | Электроны и протоны |
| Коэнзим А (СоА)                                                                                                                                                         | <p>Пантотеновая кислота (В<sub>5</sub>)</p>  | Ацильные группы     |

|                                                                                                                           |                                                                                                             |                                      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| <p>Тетрагидрофолиевая кислота (ТГФ)</p>  | <p>Фолиевая кислота</p>   | <p>Метильные формильные группы</p>   |
| <p>Тиаминдифосфат (ТДФ)</p>              | <p>Тиамин, (В1)</p>                                                                                         | <p>Оксогруппы</p>                    |
| <p>Пиридоксальфосфат</p>                                                                                                  | <p>Пиридоксин, (В6)</p>  | <p>Амино- и карбоксильные группы</p> |

Kimyoviy o'zgarishi ferment tomonidan katalizlanadigan moddaga substrat deyiladi. Ferment, substrat bilan birlashib, ferment-substrat kompleksini hosil qiladi (2-rasm):

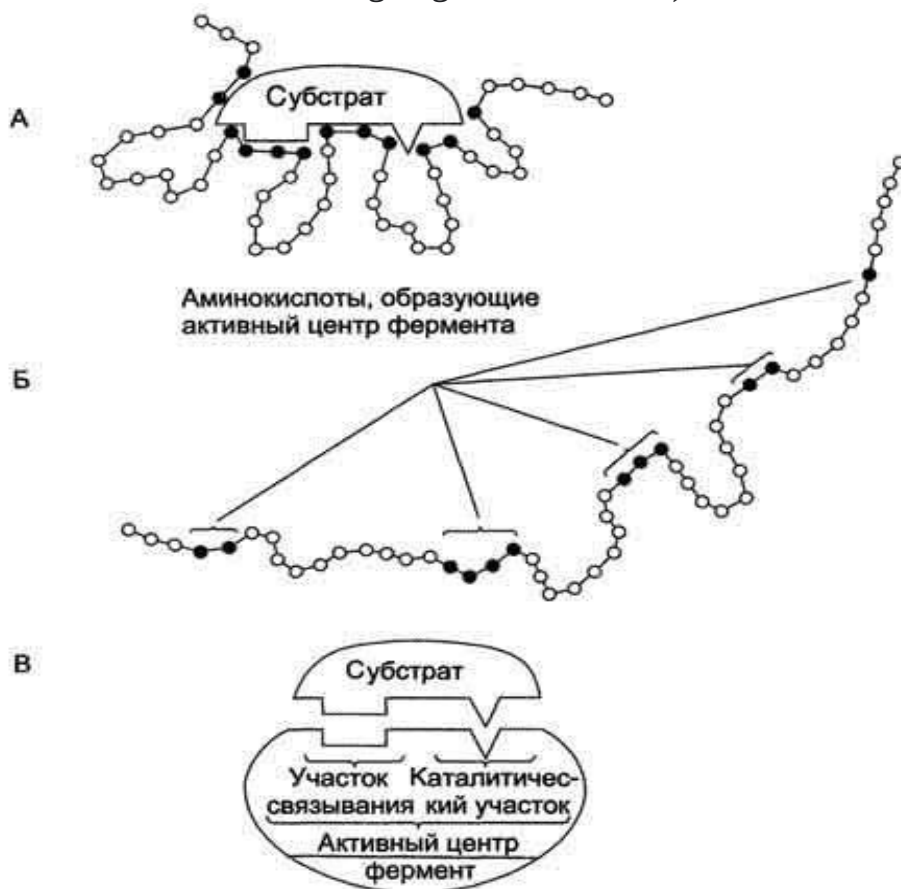


Rasm. 2. Katalizlangan reaksiya davomida ferment-substrat kompleksining hosil bo'lishi.

Fermentatik reaksiyalarda ishtirok etadigan substrat molekullari fermentlar molekullariga nisbatan ko'pincha kichik bo'ladi, shuning uchun ferment-substrat komplekslarini hosil qilish jarayonida peptid zanjirining aminokislota qoldiqlarining cheklangan qismi substrat molekulasini bilan bevosita aloqada bo'ladi degan fikrlar mavjud edi. Shunday qilib, fermentning faol markazi to'g'risida g'oya paydo bo'ldi.

Faol markaz - ferment molekulasidagi aminokislota qoldiqlarining noyob birikmasi bo'lib, u substrat molekulasini bilan bevosita bog'lanishni va kataliz aktida bevosita ishtirok etishni ta'minlaydi. Oqsilning katalitik jihatdan faol bo'lgan aminokislota radikallariga nukleofil guruhlar (histidin imidazol, serin yoki tirozinning oksigrupi,

sisteinning tiol guruhi, lizinning b-amino guruhi, aspartik va glutamik kislotalarning ionlashgan karboksillari va boshqalar) va elektrofil guruhlar kiradi ( histidinning imidazolium ioni, ion bo'lmagan glutamik kislota).



Расм. 3. Ферментning faol markazining tuzilishi.

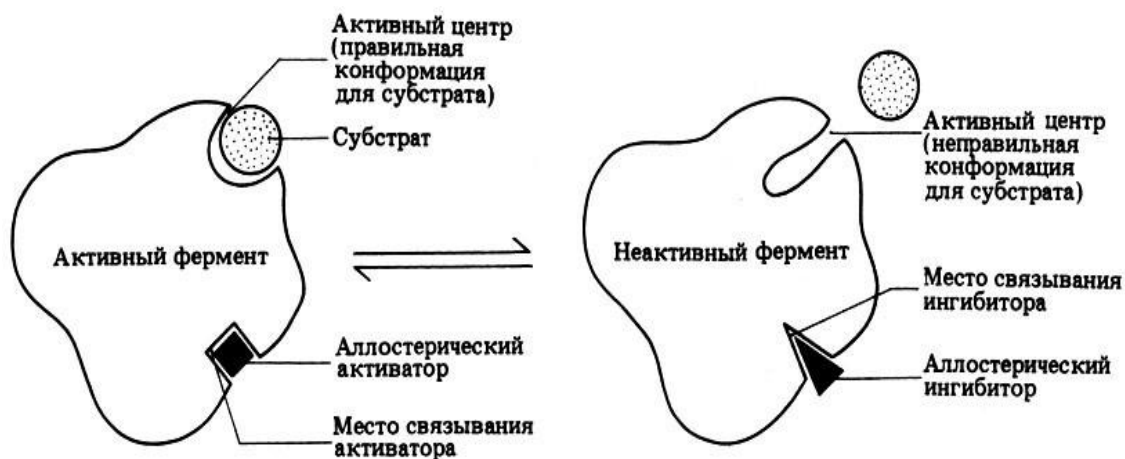
A - faol markazdagi fermentga substrat biriktirilishi; B

- oqsilning birlamchi tuzilishida fermentning faol markazini tashkil etuvchi aminokislota qoldiqlarining holati; B - fermentning faol joyi shartli ravishda bog'lanish joyiga va katalitik maydonga bo'linadi.

Ferment molekulasi birlamchi tuzilishida faol markaz guruhlar odatda bir-biridan uzoqlashadi (3B-rasm). Shu bilan birga, uchinchi darajali tuzilishda katalizda ishtirok etadigan aminokislota qoldiqlari substrat molekulasiga bilan o'zaro ta'siri uchun qulay bo'lgan holatga yo'naltirilgan (3A-rasm). Substratning o'ziga xosligi fazoviy yozishmalarga bog'liq

fermentning faol markazi va uning substrati

Fermentning faol markazida bog'lanish joyi fermentning substrat bilan kompleksini hosil qilishni ta'minlaydi. Katalitik joy substratning kimyoviy konversiyasini ta'minlaydi. Har bir fermentda substrat bog'langan bir yoki bir nechta faol joylar mavjud. Ushbu markazlar juda o'ziga xosdir, ya'ni. Faqat "ularning" substratini yoki bir-biriga yaqin birikmalarini "tanib oling". Allosterik markaz (yoki markazlar) fermentlar molekulasida ham bo'lishi mumkin (yunoncha allos - boshqa, turli xil va steros - fazoviy, strukturaviy). Bu fermentlar molekulasi joyidir, u bilan ma'lum, odatda past molekulyar og'irlikdagi effektor moddalar bog'lanadi: aktivatorlar yoki inhibitorlar (4-rasm).



Расм. 4. Effektorlar ta'sirida fermentning allosterik markazining ta'sir qilish sxemasi (A - faol markazning faollashishi, B - faol markazning inhibatsiyasi)

Effektorning allosterik markazga biriktirilishi fermentlar molekulasining fazoviy tuzilishini va shunga mos ravishda faol markazning konfiguratsiyasini o'zgartiradi va fermentativ faollikning pasayishiga (B) yoki (A) ko'payishiga olib keladi. Katalitik markazning faoliyati allosterik markazga bog'langan allosterik effektorlar ta'sirida o'zgarishi mumkin bo'lgan fermentlarga allosterik fermentlar deyiladi.

Ko'pgina fermentlar bir organizmda mavjud bo'lgan, ammo, odatda, turli hujayralar, to'qimalar yoki organlarda mavjud bo'lgan turli xil shakllarning mavjudligi bilan tavsiflanadi. Ushbu shakllar izofermentlar deb ataladi.

Izozimlar bir xil katalitik funktsiyani bajaradi, lekin katalitik faollik darajasi, regulyatsiya xususiyatlari yoki boshqa xususiyatlari bilan sezilarli darajada farq qilishi mumkin. Izozimlar aminokislotalar ketma-ketligi va fazoviy konfiguratsiyasi, subbirlik tarkibi va xususiyatlari jihatidan bir oz farq qilishi mumkin.

Izozimlarga ega bo'lgan fermentga amilaza misol bo'lishi mumkin. Pankreatik amilaza (izoenzim P) aminokislotalar ketma-ketligi va xususiyatlari bilan tuprik bezlari (izozim S), ichak va boshqa organlarning amilazasidan farq qiladi.

## 2. Fermentlarning ta'sir qilish mexanizmi

Fermentatik katalizning zaruriy bosqichi E fermentining S substrat bilan bog'lanishidir, natijada ES ferment-substrat kompleksi hosil bo'ladi:



Enzimatik kataliz jarayonini uch bosqichga bo'lish mumkin:

1) substratning fermentga tarqalishi va ferment-substrat kompleksining (ES) hosil bo'lishi;

2) birlamchi kompleksni bir yoki bir nechta faollashtirilgan ferment-substrat komplekslariga aylantirish ( $ES^*$ ,  $ES^{**}$  ...);

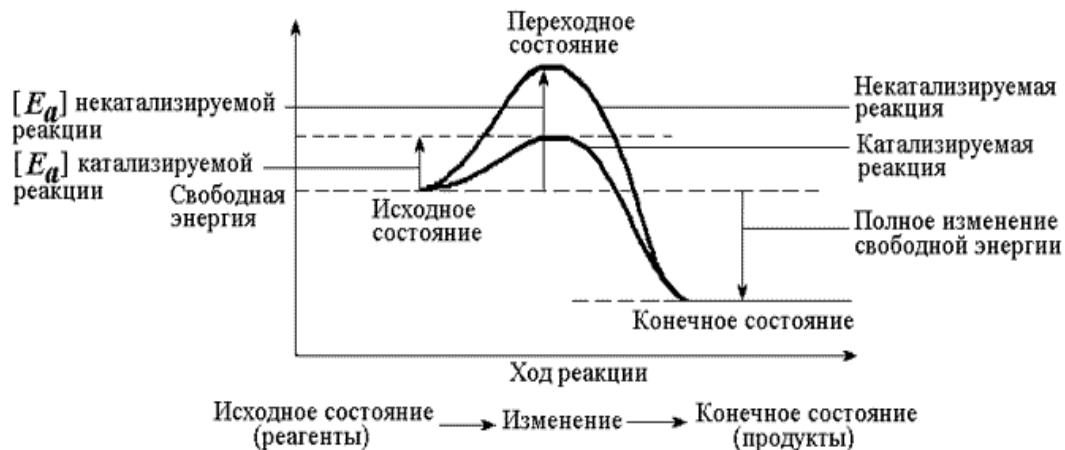
3) reaksiya mahsulotlarini (P) faol markazdan ajratish va uning atrof muhitga tarqalishi.

Birinci bosqich odatda qisqa va muhitdagi substrat kontsentratsiyasiga, shuningdek uning fermentning faol markaziga tarqalishiga bog'liq. Kompleks deyarli bir zumda shakllanadi.

Ikkinchi bosqich eng sekin va umuman butun kataliz tezligini cheklaydi. Uning davomiyligi berilgan kimyoviy reaksiyaning faollanish energiyasiga bog'liq. Ferment-substrat kompleksining hosil bo'lishi substrat molekulasidan o'tish

(faollashtirilgan) holatiga erishish va reaksiyani amalga oshirish uchun  $E_a$  faollashuv energiyasining pasayishiga yordam beradi (5-rasm).

Reaksiya tugagandan so'ng (yakuniy holat) ferment-substrat kompleksi reaksiya mahsuloti (lar) i va fermentga aylanadi. Uchinchi bosqich deyarli bir zumda. U reaksiya mahsulotlarining atrof muhitga tarqalish tezligi bilan belgilanadi. Reaksiya oxirida ferment asl holiga keladi va yangi substrat molekulasi bilan ta'sir o'tkazishi mumkin.



Рasm. 5. Fermentning energiya to'sig'iga ta'siri va reaksiyaning faollanish energiyasi.

Fermentlar tezlashtirilgan reaksiyalarning muvozanat holatiga ta'sir qila olmaydi; shu bilan birga, reaksiyalar jarayonida ular iste'mol qilinmaydi va qaytarib bo'lmaydigan o'zgarishlarga duch kelmaydi. Termodinamik nuqtai nazardan fermentlar, pastroq energiya darajasida reaktiv bo'ladigan, faollashtirilgan molekulalar sonini ko'paytirish orqali faollashuv energiyasini kamaytirish orqali kimyoviy reaksiyalarni tezlashtiradi.

### 3. Fermentatik reaksiyalar kinetikasi asoslari

Fermentatik kinetika o'ziga xos fermentlar tomonidan katalizlanadigan reaksiyalar tezligini, shuningdek ta'sir qiluvchi moddalar tabiatining fermentativ reaksiyalar tezligiga ta'sirining qonuniyatlarini o'rganadi. Fermentatik reaksiyalarning o'ziga xos xususiyati fermentning faol markazining substrat bilan to'yinganligidir.

Fermentatik reaksiyaning tezligi substrat  $[S]$  kontsentratsiyasiga va mavjud bo'lgan ferment miqdoriga  $[E]$  bog'liq. Ko'pgina biokimyoviy reaksiyalarda fermentning kontsentratsiyasi juda past va substrat ortiqcha miqdorda bo'ladi.

Haddan tashqari substrat sharoitida fermentativ reaksiyani o'tkazishda reaksiya tezligi ferment konsentratsiyasiga mutanosib bo'ladi. Bunday reaksiyaning grafik bog'liqligi to'g'ri chiziq shakliga ega (6-rasm):



Рasm. 6. Fermentatik reaksiya tezligining ( $v$ ) ferment kontsentratsiyasiga bog'liqligi.

Fermentning miqdorini ko'pincha mutloq miqdorda aniqlashning iloji yo'q, shuning uchun amalda ferment faolligini tavsiflovchi an'anaviy qiymatlardan foydalaniladi.

Standart ferment birligi - belgilangan sharoitda bir daqiqada ma'lum bir substratning bitta mikromolini (mM) konversiyasini katalizlaydigan fermentning miqdori. Fermentning standart birligi E harfi (birlik) yoki U harfi (birlik) bilan ko'rsatilgan.

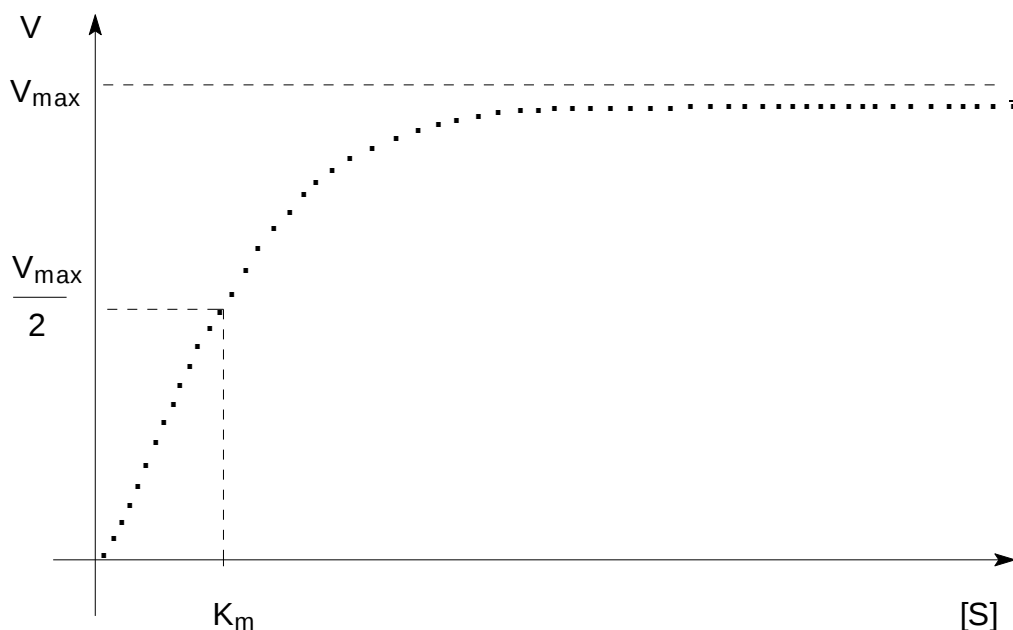
Katalit - bu katalitik faollik, unda fermentativ reaksiya ma'lum bir faollikni o'lchash tizimida sekundiga 1 mol tezlikda amalga oshiriladi. Amaliy qo'llanishda 1 katal (mushuk) tarkibidagi katalitik faollik juda katta bo'lib chiqadi, shuning uchun ko'p hollarda katalitik faollik mikro-katalizatorlarda (mikak), nanokatallarda (nkat) yoki piko-katallarda (pkat) ifodalanadi.

Fermentning standart birligi va katal quyidagi nisbatlarda mavjud:

$$1 \text{ mushuk} = 1 \text{ mol S} / \text{sek} = 60 \text{ mol S} / \text{min} = \\ = 60 \times 10^6 \text{ mkmol} / \text{min} = 6 \times 10^7 \text{ E (U)};$$

$$1 \text{ E (U)} = 1 \text{ mkmol} / \text{min} = 1/60 \text{ mkmol} / \text{s} = 1/60 \text{ mkkat} = 16,67 \text{ nkat}.$$

Substrat konsentratsiyasi  $[S]$  qancha ferment molekulalarining substrat bilan birikib ferment-substrat kompleksini hosil qilishini aniqlaydi  $[ES]$ . Kam  $[S]$  bo'lganida reaksiya tezligi substrat konsentratsiyasiga mutanosib ravishda ko'payadi. Biroq, etarlicha katta o'sish bilan reaksiya tezligi  $[S]$  ga bog'liqlikni to'xtatadi - barcha ferment molekulalarini substrat egallaganida to'yinganlik paydo bo'ladi.



Rasm. 7. Fermentativ reaksiya tezligining substrat konsentratsiyasiga bog'liqligi

Grafikda (7-rasm)  $K_m$  substrat konsentratsiyasiga  $[S]$  teng ekanligi, unda  $v$  fermentativ reaksiya tezligi  $V_{max}$ ning yarmi ekanligi ko'rsatilgan.  $K_m$  mol / L ni tashkil qiladi.

Mayklis konstantasi fermentlarni substratga yaqinlik darajasini tavsiflovchi fermentlarni o'rganishda muhim parametrdir. Mayklis konstantasi son jihatdan fermentlar-substrat kompleksi parchalanadigan reaksiyalarning tezlik konstantalari yig'indisining u hosil bo'lgan reaksiya tezligining konstantasiga nisbatiga teng:

$$K_m = \frac{k_{-1}}{k_1} + \frac{k_2}{k_1}$$

$K_m$  qiymatini aniqlash fermentlarning faolligiga ta'sir qiluvchi ta'sir mexanizmini tushuntirishda muhim ahamiyatga ega.

Klassik Mayklis-Menten tenglamasi quyidagi kinetik reaksiya sxemasidan kelib chiqadi:



ferment substrat ferment substrat kompleks mahsulot

Bu erda  $k_1$ ,  $k_{-1}$ ,  $k_2$  - tegishli reaksiyalarning tezlik konstantalari. Bunday holda, ikkinchi bosqich qaytarilmas deb hisoblanadi va  $V$  fermentativ reaksiya tezligini aniqlaydi:

$$V = k_2 \cdot [ES]$$

Ushbu tenglamada va undan pastda kvadrat qavslar mos keladigan moddaning mol / L yoki mmol / L konsentratsiyasini bildiradi. Yuqori substrat konsentratsiyasida butun ferment substrat bilan kompleksda bo'ladi va reaksiya tezligi maksimal bo'ladi:

$$[ES] = [E]_0 \quad V_{max} = k_2 \cdot [E]_0$$

Bu erda  $[E]_0$  - tizimga kiritilgan fermentning umumiy konsentratsiyasi (erkin va bog'langan). Ushbu nazariya kvazi statsionar holat gipotezasidan foydalanadi, ya'ni.  $[ES] = \text{const}$ , ya'ni qabul qilinadi uning hosil bo'lish tezligi oqim tezligiga teng. Shuning uchun:

$$k_1 \cdot [E] \cdot [S] = k_{-1} \cdot [ES] + k_2 \cdot [ES]$$

$$[E] \cdot [S] \cdot k_1 = k_{-1} + k_2$$

$$= K_m \text{ (Michaelis doimiy)}$$

$$[ES] = \frac{k_1 [E] [S]}{K_m + [S]}$$

Ferment uchun moddiy balans tenglamasini yozamiz:

$$[E]_0 = [E] + [ES]$$

Keling,  $[E]$  ni shu yerdan ifodalaymiz va uni Mayklis konstantasi ifodasiga almashtiramiz, so'ngra hosil bo'lgan tenglamani o'zgartiramiz:

$$K_m + [S]$$

$$V = k_2 * [ES] = k_2 * [E]_0 * \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

Shunday qilib, Mayklis-Menten tenglamasi quyidagicha:

$$[S] \quad \frac{k_{-1} + k_2}{V = V_{\max} \frac{[S]}{K_m + [S]}} \quad \text{gde } K_m = \frac{k_{-1}}{k_1} \quad (\text{Michaelis konstantasi})$$

Bu yuqoridagi rasmda, shakl. 7

Fermentativ reaksiyaning asosiy kinetik parametrlari Mayklis doimiysi va to'yingan substrat kontsentratsiyasidagi maksimal reaksiya tezligi. Bunday holda, tenglamadan kelib chiqadigan bo'lsak,  $K_m$  substratning kontsentratsiyasiga mos keladigan songa teng  $V = V_{\max}/2$

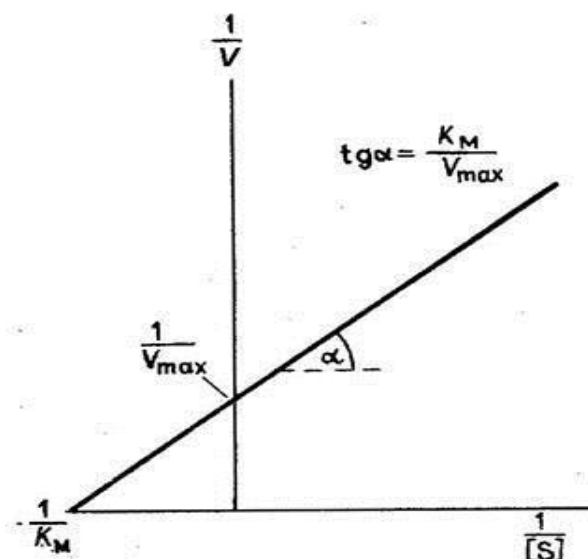
Eksperimental ma'lumotlarning yanada qulayroq grafik taqdimoti uchun G. Lineuver va D. Burke tenglamani har qanday ikki miqdor o'rtasida tenglik mavjud bo'lsa, o'zaro miqdorlar ham teng bo'ladi degan printsipga asoslanib, ikki tomonlama o'zaro ta'sirlar usuli yordamida o'zgartirdilar. Mixailis-Menten tenglamasining teskari tomoni Lineuaver-Burk tenglamasidir:

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}[S]}$$

O'zaro qiymatlarning bog'liqligi chiziqli (Mixailis-Menten tenglamasini lineerizatsiyasi) bo'lib, bu to'g'ri chiziqni koordinata o'qlari bilan kesishmasigacha ekstrapolyatsiya qilish va reaksiyaning kinetik parametrlarini (shuningdek, nishabning teginishini) osonlikcha aniqlashga imkon beradi. to'g'ri chiziq, nisbaga teng:  $K_m / V_{\max}$ :

Ushbu tenglama tufayli bir tajribada Mixaylek doimiysi  $K_m$  va o'rganilayotgan fermentativ reaksiyaning maksimal tezligi  $V_{\max}$  ni aniqlash mumkin.

Grafik versiyada Lineweaver va Burke usuli ikki tomonlama o'zaro ta'sir usuli deb ham ataladi (8-rasm):



Rasm. 8. Lineweaver-Burke fitnasi

Grafani chizishda abscissa o'qida  $1/[S]$  ga teng qiymat, ordinatalar o'qida  $1/V$ : to'g'ri chiziq qiyaligining tangensi  $K_M / V_{max}$  qiymatiga teng bo'ladi; ordinata o'qidan to'g'ri chiziq bilan kesilgan  $1/V_{max}$  (maksimal tezlikning o'zaro nisbati). Agar biz ordinatalar o'qidan tashqariga to'g'ri chiziqni davom ettirsak, u holda Miksisis konstantasi -  $1/K_M$  ning o'zaro ta'siriga mos keladigan qism absitsada kesiladi.

Shunday qilib,  $K_M$  qiymatini to'g'ri chiziq qiyaligi ma'lumotlari va ordinat o'qidan kesilgan segment uzunligi yoki manfiy mintaqadagi abstsessa o'qidan kesilgan uzunlik bo'yicha hisoblash mumkin. qiymatlar. Shuni ta'kidlash kerakki, ikki tomonlama o'zaro qiymatlar usuli yordamida  $V_{max}$  qiymatlari, shuningdek  $K_M$  qiymati to'g'ridan-to'g'ri koordinatalarda chizilgan grafikaga qaraganda aniqroq aniqlanishi mumkin (7-rasm). Shuning uchun bu usul fermentlarni tadqiq qilishda keng qo'llanilishini topdi.

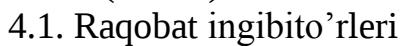
#### 4. Aktivatorlar va inhibitorlarning ferment faolligiga ta'siri

Harorat va pH o'ziga xos bo'lmagan omillardir, chunki ular barcha fermentlarning faolligiga u yoki bu darajada ta'sir qiladi. Bundan tashqari, juda past konsentratsiyalarda fermentlar (aktivatorlar) faolligini oshiradigan yoki aksincha, uni kamaytiradigan (inhibitorlar) moddalar mavjud. Aktivatorlar va inhibitorlar faol markazda yoki ferment molekulasining uzoq, allosterik markazida harakat qilishlari mumkin.

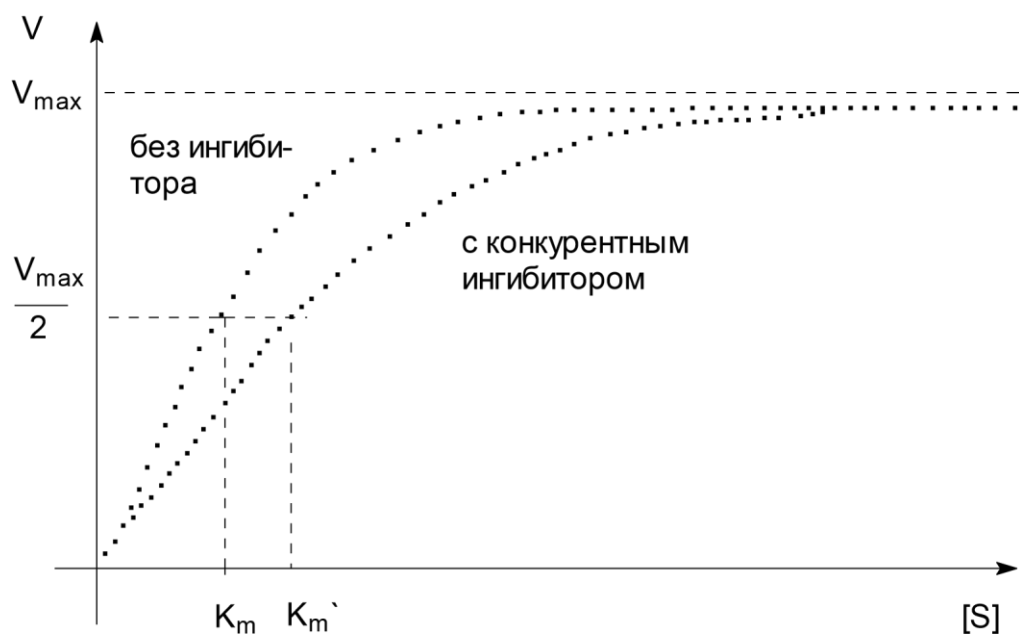
Fermentlarning faolligini oshiradigan moddalarga metall kationlari yoki anionlar va boshqa ba'zi moddalar kiradi. Ko'pincha ferment faollashtiruvchilari  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  va  $Na^+$  kationlari, va anionlardan -  $Cl^-$ . Aktivatorlar ferment-substrat kompleksining shakllanishini osonlashtirishi yoki barqarorlashtirishi mumkin. Tiol ferment faollashtiruvchisi glutation (b-glutamilsisteylglisin tripeptid) fermentning faol markazini oksidlovchilar ta'siridan himoya qiladi va shu bilan uning katalitik faolligini oshiradi. Koenzimlar va kofaktorlardan farqli o'laroq, aktivatorlar katalitik ta'sirni kuchaytiradi, ammo ularning yo'qligi fermentativ reaksiyani davom etishiga to'sqinlik qilmaydi.

Fermentatik reaksiya jarayonini sekinlashtiruvchi ingibitorlar nospetsifik (barcha fermentlarni va umuman barcha oqsillarni inaktiv qiluvchi denatura qiluvchi reagentlar) va

## ИНГИБИТОРЫ

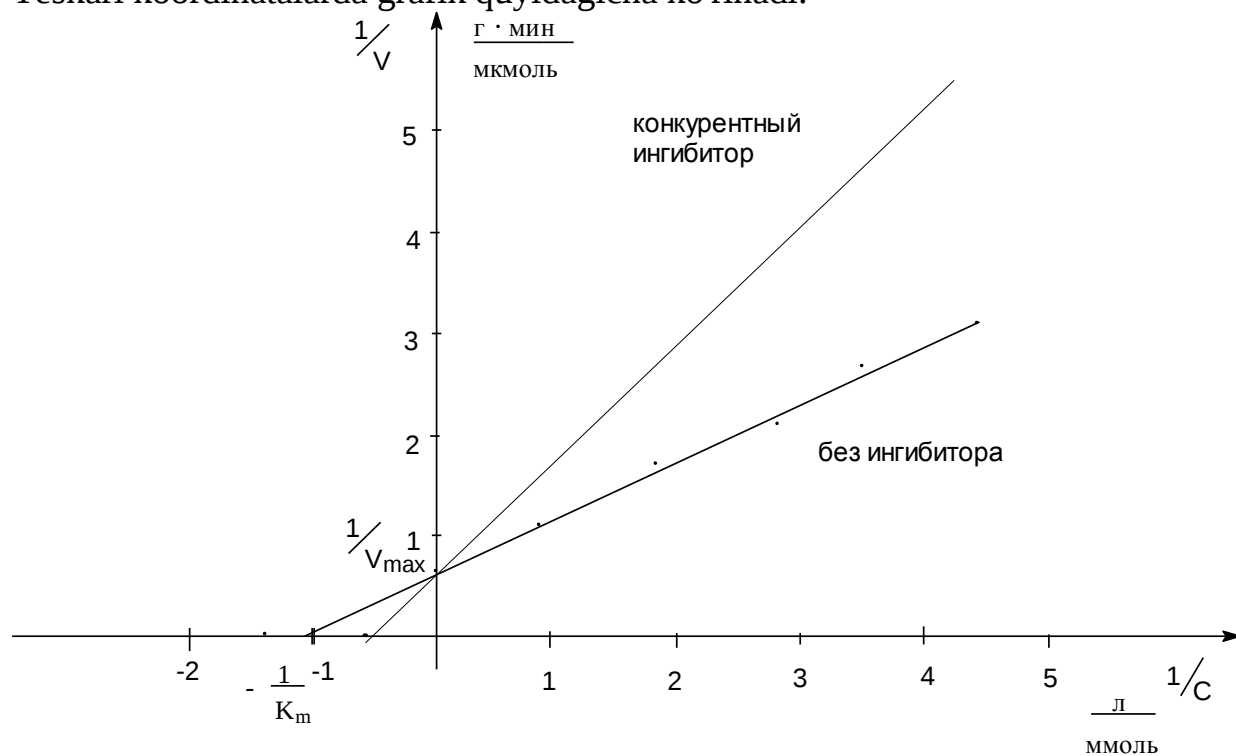

$$\begin{array}{ccc}
 \text{COOH} & + \text{ФАД} & \text{HOOC-CH-COOH} \\
 \text{сукцинат-} & & \diagdown \quad \diagup \\
 \text{CH}_2 & \xrightleftharpoons{\text{дегидрогеназа}} & \text{C} \quad \text{CH}_2 \\
 \text{CH}_2 & & \text{C} \quad \text{COOH} \\
 \text{COOH} & - \text{ФАД} \cdot 2\text{H} & \text{H} \quad \text{COOH} \\
 \text{сукцинат} & & \text{Фумарат}
 \end{array}$$

15



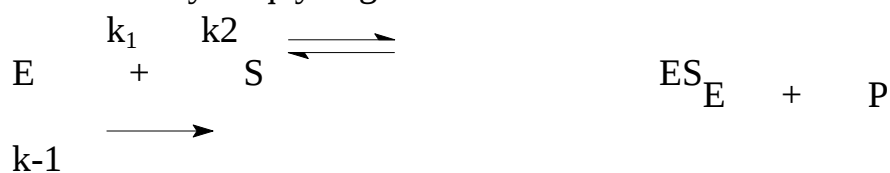
Расм. 9а. Рақобатbardosh ingibitsion.

Тeskari koordinatalarda grafik quyidagicha ko'rinadi:



Расм. 9b. Тeskari koordinatalarda raqobatbardosh ingibitsion.

Рақобат inhibatsiyasi quyidagi kinetik sxema bilan tavsiflanishi mumkin:



+ фермент-  
субстратный  
I комплекс

продукт



$$\frac{[E][I]}{[EI]} = K_I$$

EI

[EI]

фермент-ингибиторный комплекс

константа ингибирования

Ferment uchun moddiy balans tenglamasini yozamiz, yilda bu holda uchta shart bo'ladi:

$$[E]_0 = [E] + [ES] + [EI] = [E] * \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) + [ES]$$

$$[E]_0 * [I] K_I = [E] + [ES] * [I] K_I$$

Keling, [E] ni shu erda ifodalaymiz va ifoda Mayklis doimiyligini almashtiramiz:

$$([E]_0 * [I] K_I - [ES] * [I] K_I) * [S] = K_m [ES]$$

$$[S] * [ES] * [I] + K_I = K_m + [S] * [I] + K_I$$

Endi [ES] ni shu yerdan ifodalaymiz va ifodani Mayklis-Menten tenglamasiga o'xshash shaklga o'tkazamiz:

$$[ES] = \frac{[E]_0 * [I] + K_I * K_m}{K_I * [I] + K_I + S}$$

[S]

$$[ES] = \frac{[E]_0 * K_m * [I] K_I + [S]}{[I] K_I + K_I + [S]}$$

[S]

$$V = V_{max} * K_m * [I] K_I + [S]$$

$$' = \frac{[I] + K_I * K_m}{K_I}$$

$$K_I = K_m * ' - K_m * [I]$$

Demak,  $V_{max}$  raqobatbardosh ingibitsion paytida o'zgarmaydi,  $K_m$  qiymati esa ortadi. Uni o'zgartirib, siz  $K_{Ii}$  hisoblashingiz mumkin.

#### 4.2. Raqobatdosh bo'lmagan inhibitorlar

Raqobatdosh bo'lmagan inhibitorlar fermentning faol markaziga emas, balki ferment-substrat kompleksiga ta'sir qiladi va u bilan faol bo'lmagan ferment-substrat inhibitori kompleksini hosil qiladi va uni quyidagi kinetik sxema bilan tavsiflash mumkin:



$k_{-1}$   
+

$$K_I = \frac{I [ES][I]}{[ESI]}$$

ingibitsion sobit

Keling, ferment uchun moddiy balans tenglamasini yozamiz, unda bu holda uchta atama bo'ladi:

$$[E]_0 = [E] + [ES] + [EIS] = [E] + [ES] * \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$$

$K_I$

$$[E]_0 = [E] + [ES] * K_I * [I]$$

$K_I$

Keling,  $[E]$  ni shu erda ifodalaymiz va ifoda Mayklis doimiyligini almashtiramiz:

$$K_m = \frac{([E]_0 - [ES] * \frac{[I]}{K_I}) [S]}{\frac{K_m + [I]}{K_I} * [ES]} =$$

$$[E]_0 - \frac{[I]}{K_I} [ES]$$

$$[S] * [ES] = K_m + [S] * \frac{[I]}{K_I} K_I$$

Endi  $[ES]$  ni shu yerdan ifodalaymiz va ifodani Mayklis-Menten tenglamasiga o'xshash shaklga o'tkazamiz:

$[S]$

$$[ES] = \frac{[E]_0 * K_m + [S] * \frac{K_m}{K_I} * [I]}{K_m + [S] * \frac{[I]}{K_I} + [S]}$$

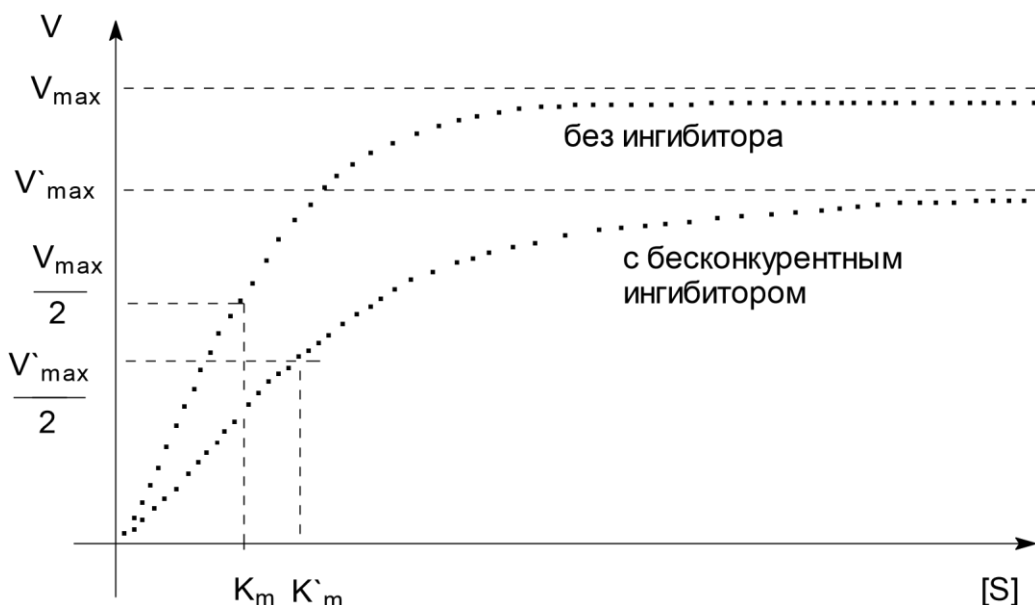
$$[ES] = \frac{[E]_0 * K_m + [S] * \frac{K_m}{K_I} * [I]}{K_m + [S] * \frac{[I]}{K_I} + [S]}$$

$$V = V_{max} \frac{[S]}{K_m + [S] * \frac{[I]}{K_I} + [S]}$$

$$\frac{V}{V_{max}} = \frac{KI}{[I] + KI} * V_{max}$$

$$KI = K_m - K_m' = V_{max} - V_{max}'$$

Bu holda V ning oldinga va teskari koordinatalardagi [S] ga bog'liqlik grafiklari quyidagicha ko'rinadi:



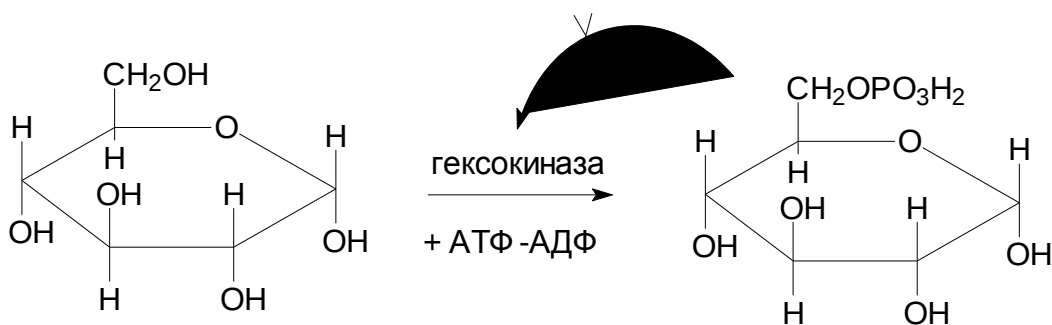
Rasm. 10a.

Ushbu grafada Lineweaver-Burke chiziqlari parallel ravishda harakatlanadi, chunki ikkala maksimal tezlik ham, Mixailis doimiysi ham o'zgaradi va ikkala parametr ham mutanosib ravishda kamayadi va natijada to'g'ri chiziqning qiyaligi o'zgarmaydi.  $K_m$  ning pasayishi fermentning substratga yaqinligi oshganligini ko'rsatadi, ammo bu faol bo'lmagan ESI kompleksi bilan samarasiz bog'lanish tufayli yuzaga keladi va natijada tezlik pasayadi.

Raqobatdosh bo'lmagan allosterik inhibitsion keng tarqalgan, ya'ni. faol markaz bilan bog'liq bo'lmagan va ko'pincha undan uzoq bo'lgan fermentning regulyativ allosterik markaziga ta'siri bilan bog'liq, ammo inhibitor qo'shilishi fermentlar molekulasini shakli o'zgarishiga va fazoviy holatning yomonlashishiga olib keladi substrat molekulasini bilan yozishmalar. Ko'pincha fermentlarni inhibatsiyasi fermentativ reaksiyalar natijasida hosil bo'ladi, bu ortiqcha mahsulotning sinteziga to'sqinlik qiladi (teskari aloqa regulyatsiyasi):



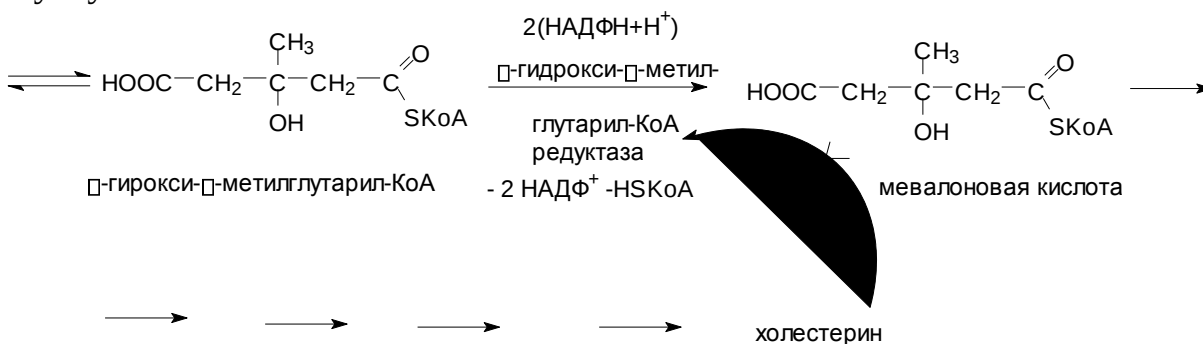
Bunday holda, inhibitor rolini ushbu fermentning mahsuloti bajarishi shart emas, masalan, masalan, glyukoza-6-fosfat geksokinazlar:



## ГЛЮКОЗА

## GLUCOSE GLUCOSE-6-FOSFAT

Barcha transformatsiyalar zanjirining yakuniy mahsuloti zanjirdagi birinchi fermentning faolligini bostirishi yoki  $v$  jarayonining tezlikni cheklovchi (eng sekin), ko'pincha qaytarilmas bosqichini katalizatori qilishi mumkin, masalan, b-gidrokxi-b-metilglutaril koenzim A reduktaza xolesterin bilan inhibe qilinadi, uning sintezida cheklovchi rol o'ynaydi:



Shuni

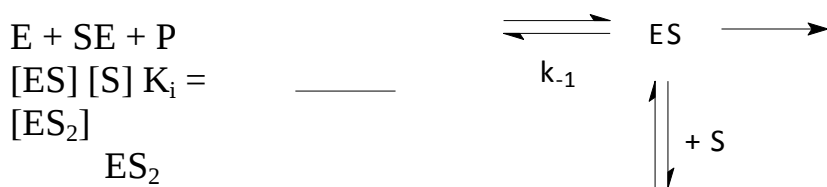
ta'kidlash kerakki, kinetik tadqiqotlar mahsulot tomonidan qaytarilish yoki ingibitsion ta'sirini istisno qilish uchun substratni mahsulotga minimal konvertatsiya qilish darajasini nazarda tutadi va Lineyever-Burke uchastkasining ko'rinishi faqat ushbu holat bo'lsa, chiziqlilikdan chetga chiqadi. qondirilmaydi va mahsulotning katta miqdori aralashmada to'planadi.

Shuni ta'kidlash kerakki, kinetik tadqiqotlar mahsulot tomonidan qaytarilish yoki ingibitsion ta'sirini istisno qilish uchun substratni mahsulotga minimal konvertatsiya qilish darajasini nazarda tutadi va Lineyever-Burke uchastkasining ko'rinishi faqat ushbu holat bo'lsa, chiziqlilikdan chetga chiqadi. qondirilmaydi va mahsulotning katta miqdori aralashmada to'planadi.

Ba'zan substrat tomonidan ingibitsion kuzatilishi mumkin. Bunday holda, tezlikning yuqori konsentratsiyalar mintaqasidagi substrat kontsentratsiyasiga bog'liqligi grafasida tezlikning pasayishi sodir bo'ladi va grafada maksimal ko'rsatkich kuzatiladi.

Substratni inhibe qilish (substratning ortiqcha miqdorini inhibe qilish) raqobatdosh bo'lmagan ingibitsionning alohida holati sifatida qaralishi mumkin. Umuman olganda muhit xossalarining o'zgarishiga qo'shimcha ravishda  $[S]$ , bu hodisaning sababi ES2 substratining ikkita molekulasi bilan harakatsiz kompleks hosil bo'lishi bo'lishi mumkin, keyin esa substrat aslida raqobatdosh bo'lmagan inhibitor rolini o'ynaydi, va kinetik sxema ko'rib chiqilgan sxemaga juda o'xshash:

$k_1$   $k_2$



Bu erda  $K_i$  substrat tomonidan tormozlanish doimiysi, ya'ni er-xotin ferment-substrat kompleksining dissotsilanish doimiysi. Mayklis-Menten tenglamasini mana shu ish uchun chiqaramiz:

$$V = k_2[ES]$$

$$V_{max} = k_2[E]_0$$

$$k_1[E][S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

$$\frac{[E][S]k_1}{k_{-1} + k_2} = \frac{[ES]k_2}{k_1} = K_m$$

Keling, ferment uchun moddiy balans tenglamasini yozamiz, unda bu holda uchta atama bo'ladi:

$$[E]_0 = [E] + [ES] + [ES_2] = [E] + [ES] \left( 1 + \frac{[S]}{K_i} \right)$$

$K_i$

Keling,  $[E]$  ni shu erda ifodalaymiz va ifoda Mayklis doimiyligini almashtiramiz:

$$([E]_0 - [ES] \frac{K_i}{K_i + [S]}) [S] = K_m$$

$$[ES]$$

$$[E]_0 \frac{K_i + [S]}{[S] * [ES]} = K_m + [S] * \frac{K_i}{K_i + [S]}$$

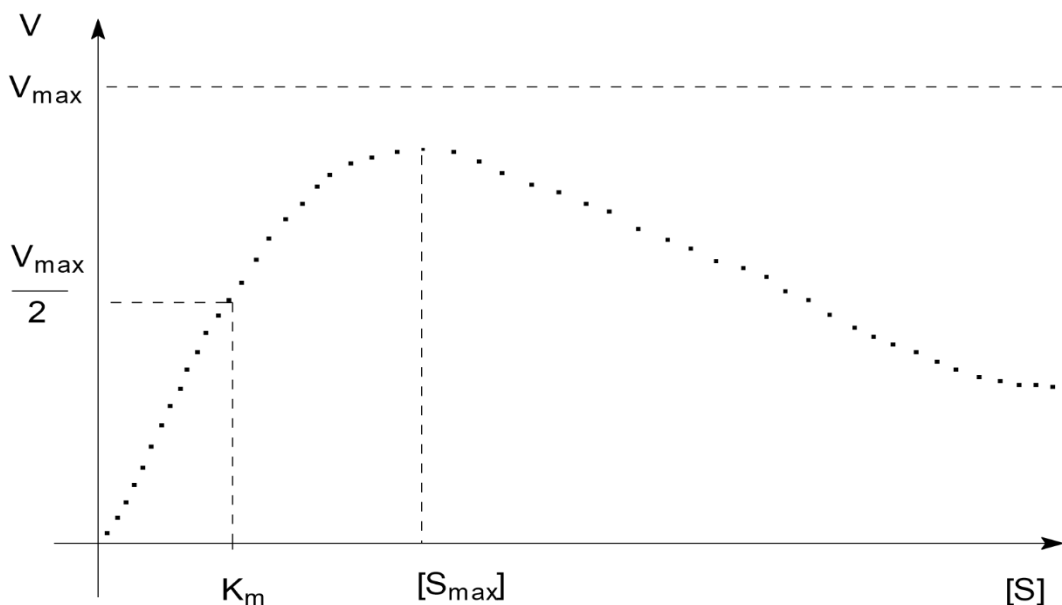
Endi  $[ES]$  ni shu yerdan ifodalaymiz va ifodani Mayklis-Menten tenglamasiga o'xshash shaklga o'tkazamiz:

$$[S]$$

$$[ES] = [E]_0 * \frac{[S]}{K_m + [S] * (1 + K_i)}$$

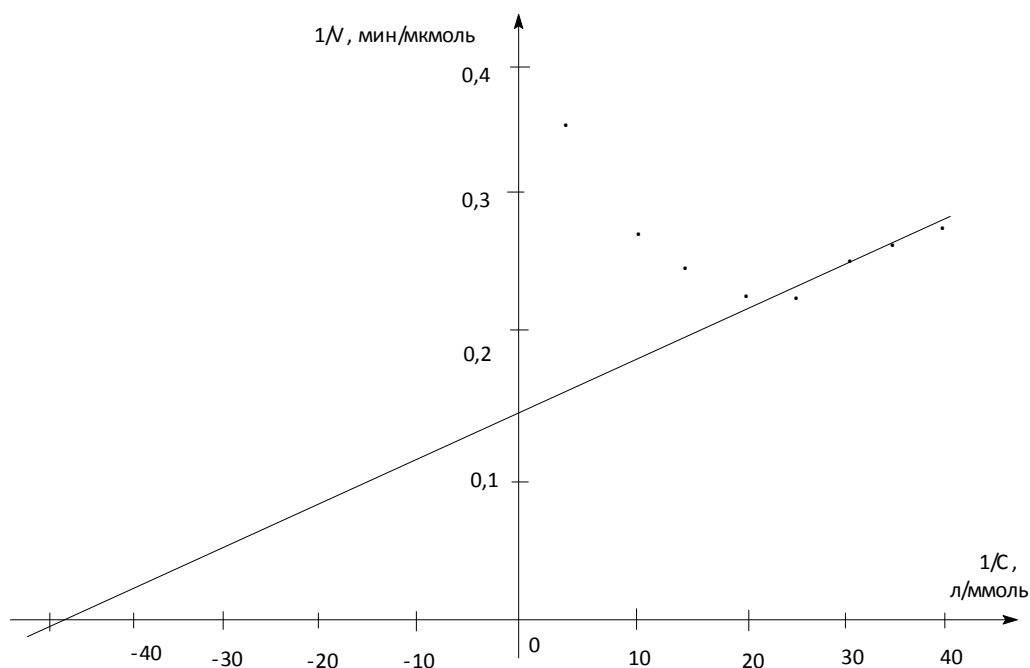
$$V = V_{max} * \frac{[S]}{K_m + [S] + K_i}$$

To'g'ridan-to'g'ri qiymatlardagi bog'liqlik grafigi bu holda maksimal darajaga ega bo'ladi, ammo  $V_{max}$  ga erishish imkonsiz bo'ladi:



Rasm. 11a. Субстратное ингибирование.

Keyin Lineweaver-Burke tenglamasi quyidagi shaklga ega bo'ladi:



Rasm. 11b. Substratning teskari inhibatsiyasi.

$$\frac{1}{\bar{V}} = \frac{1}{V_{\max}} \left( 1 + \frac{K_m}{[S]} + \frac{K_I}{[S]^2} \right)$$

Shu bilan birga, Lineweaver-Burke uchastkasida yuqori substrat konsentratsiyasi mintaqasida chiziqlilikdan og'ish kuzatilmoqda.

Minimalga mos keladigan  $[S]$  ni topish uchun teskari konsentratsiyaga nisbatan teskari tezlikni ( $y$  bilan belgilaymiz) farqlaymiz ( $x$  bilan belgilaymiz). Ekstremum nuqtasida hosila yo'qoladi. Bunga asoslanib, egri chiziq minimal  $[S_{\min}]$  ga ega bo'lgan substrat konsentratsiyasi topiladi:

$$\frac{1}{[S]} = \frac{1}{2K_I} =$$

$$V_y = \frac{V_{max} x}{K_m + x + \frac{x^2}{K_I}}$$

$$\frac{dV}{dx} = \frac{V_{max}}{K_m + x + \frac{x^2}{K_I}} \left( K_m - \frac{2x}{K_I} \right) = 0 \quad \frac{dy}{[S]^2} = \frac{1}{1}$$

$$[S_{min}] = \sqrt{K_m K_I}$$

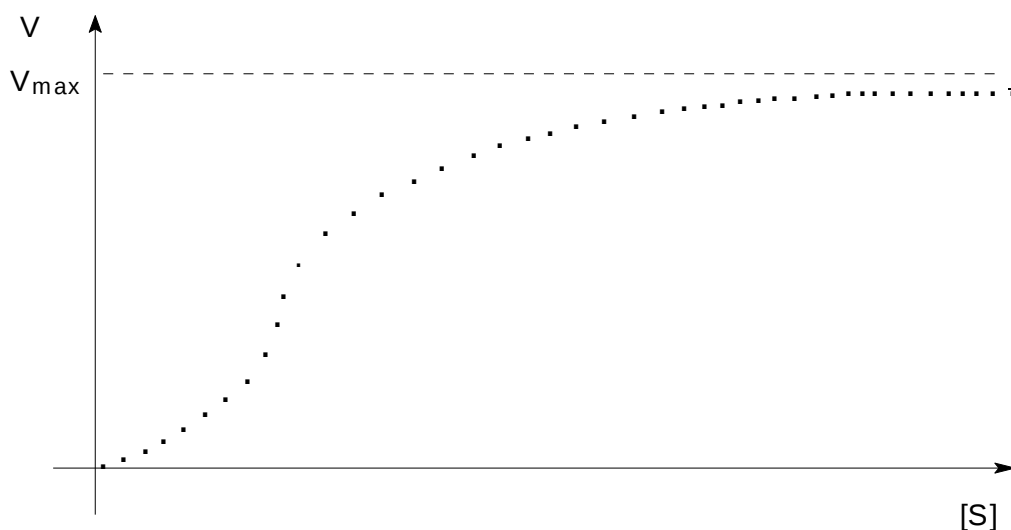
$$K_I = \frac{[S_{min}]^2}{K_m}$$

Gini to'g'ridan-to'g'ri grafikadan hisoblash mumkin emas, chunki egri chiziqning birinchi qismida bog'liqlik chiziqli emas. Biroq, Lineweaver-Burke jadvalidagi eng past nuqtada,  $d(1/V)/d(1/[S])$  hosilasi yo'qoladi. Demak,  $K_I = [S_{min}]^2 / K_m$ .

Bu grafadagi haddan tashqari nuqtadan inhibitsion konstantasini hisoblashga imkon beradi.

Ammo shuni ta'kidlash kerakki, substratni inhibitsioni kamdan-kam uchraydigan hodisa bo'lib, uning fiziologik ma'nosi umuman aniq emas (bu yuqori substrat konsentratsiyasida biologik faol mahsulotlarning haddan tashqari sinteziga to'sqinlik qilishi mumkin).

Reaksiyaning kinetik parametrlari odatdagi holatda bo'lgani kabi, past konsentratsiyalar mintaqasida grafaning chiziqli qismini o'qlar bilan kesishmasigacha ekstrapolyatsiya qilish yo'li bilan aniqlanadi. Ba'zan, aksincha, substrat tomonidan faollashuv kuzatiladi (12-rasm).



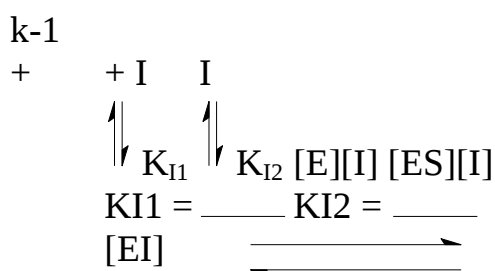
Rasm. 12. Fermentning substrat bilan faollashishi

Bu odatda bir nechta faol joylarni o'z ichiga olgan fermentlar uchun sodir bo'ladi (masalan, NADga bog'liq laktat dehidrogenaza va xamirturush alkogol dehidrogenazasi to'rtta faol saytga ega bo'lgan to'rtta kichik birlikdan iborat). Keyin birinchi substrat molekulasining biriktirilishi ikkinchisining birikishini osonlashtiradi va hokazo. Ushbu ta'sir kooperativ deb ataladi.

U to'rtinchi tuzilish oqsillarida o'zini namoyon qiladi va xususan, to'rtta gemni o'z ichiga olgan gemoglobinga kislorod qo'shilishi uchun xarakterlidir. Bunda to'g'ridan-to'g'ri koordinatalarda chizilgan reaksiya tezligining substrat konsentratsiyasiga bog'liqligi grafikalarida oksigemoglobin dissotsilanish egri chizig'iga o'xshash S shaklidagi bog'liqlik kuzatiladi.

#### 4.3. Aralash ingibitsion

Aralash ingibitsion ko'pincha inhibitor fermentning o'zi va ferment-substrat kompleksi bilan o'zaro ta'sirlashganda kuzatiladi. Bunday holda, ikkala kompleksning dissotsilanish (tormozlanish) konstantalari mos kelmasligi mumkin. Bu quyidagi kinetik sxema bilan tavsiflanadi:



EIESI

ingibitsion sobitlari

Keling, ushbu ish uchun Mixailis-Menten tenglamasining xulosasini chiqaraylik:

$$K_{I1} = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$K_{I2} = \frac{[ES][I]}{[EIS]}$$

$$V = k_2[ES]$$

$$V_{max} = k_2[E]_0$$

$$k_1[E][S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K^m$$

Keling, ferment uchun moddiy balans tenglamasini yozaylik, unda bu holda to'rtta atama bo'ladi:

$$[E]_0 = [E] + [ES] + [EI] + [EIS] = [E] * \left(1 + \frac{[I]}{K_{I1}}\right) + [ES] * \left(1 + \frac{[I]}{K_{I2}}\right)$$

$$K_{I1} \quad K_{I2}$$

Keling, [E] ni shu erda ifodalaymiz va ifoda Mayklis doimiyligini almashtiramiz:

$$[E] = \frac{[E]_0}{1 + \frac{[I]}{K_{I1}} + \frac{[I]}{K_{I2}}} = \frac{[E]_0}{1 + \frac{[I]}{K_{I1}} + \frac{[I]}{K_{I2}}} * \frac{K_{I1}K_{I2}}{K_{I1}K_{I2}} = \frac{[E]_0 K_{I1}K_{I2}}{K_{I1}K_{I2} + [I]K_{I2} + [I]K_{I1}}$$

$$[ES] = \frac{[E]_0 [S]}{K_m + [S] + \frac{[I]}{K_{I1}} + \frac{[I]}{K_{I2}}}$$

Endi [ES] ni shu yerdan ifodalaymiz va ifodani Mayklis-Menten tenglamasiga o'xshash shaklga o'tkazamiz:

$$[ES] = \frac{[E]_0 [S]}{K_m + [S] + \frac{[I]}{K_{I1}} + \frac{[I]}{K_{I2}}}$$

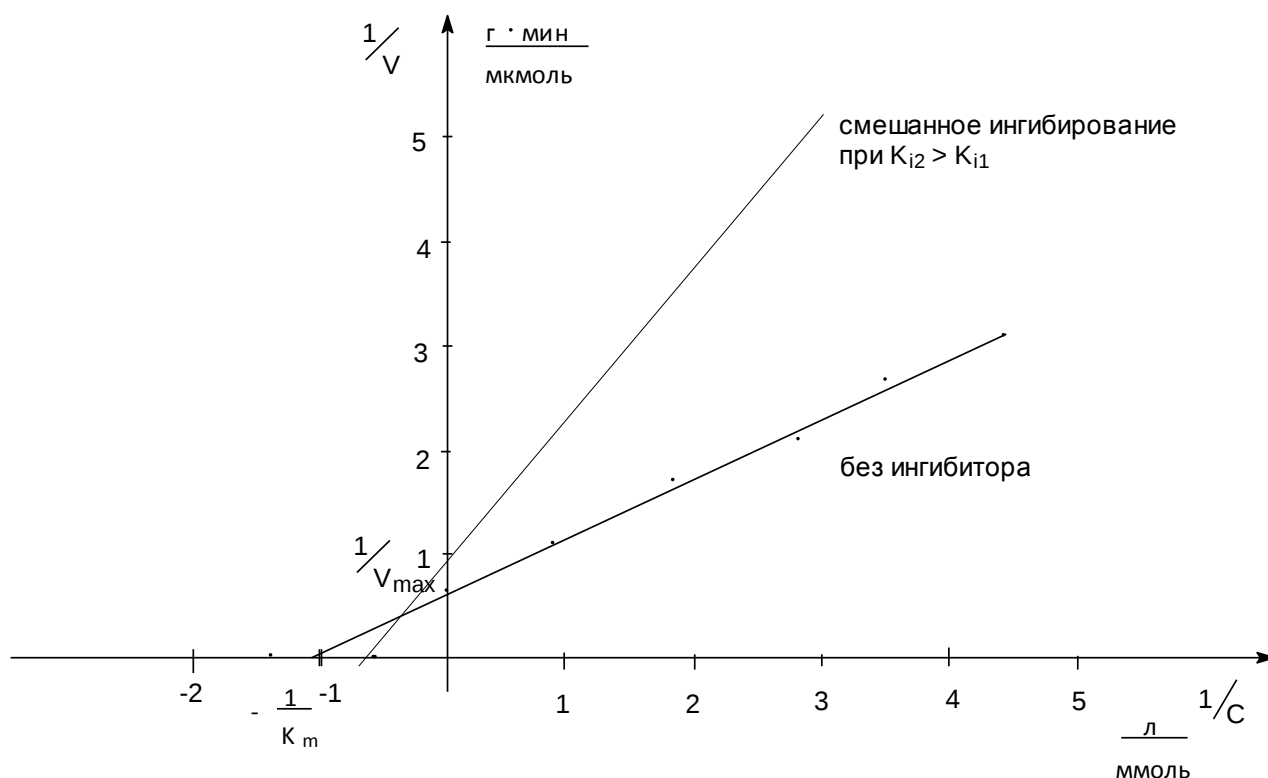
$$[ES] = [E]_0 * \frac{[S]}{[I] + K_{I2} * K_m} * \frac{[I] + K_{I1}}{K_{I1}} * \frac{K_{I2}}{[I] + K_{I2}} + [S]$$

$$V = V_{max} * \frac{[S]}{[I] + K_{I2}} * \frac{[I] + K_{I1}}{K_{I1}} * \frac{K_{I2}}{[I] + K_{I2}} + [S]$$

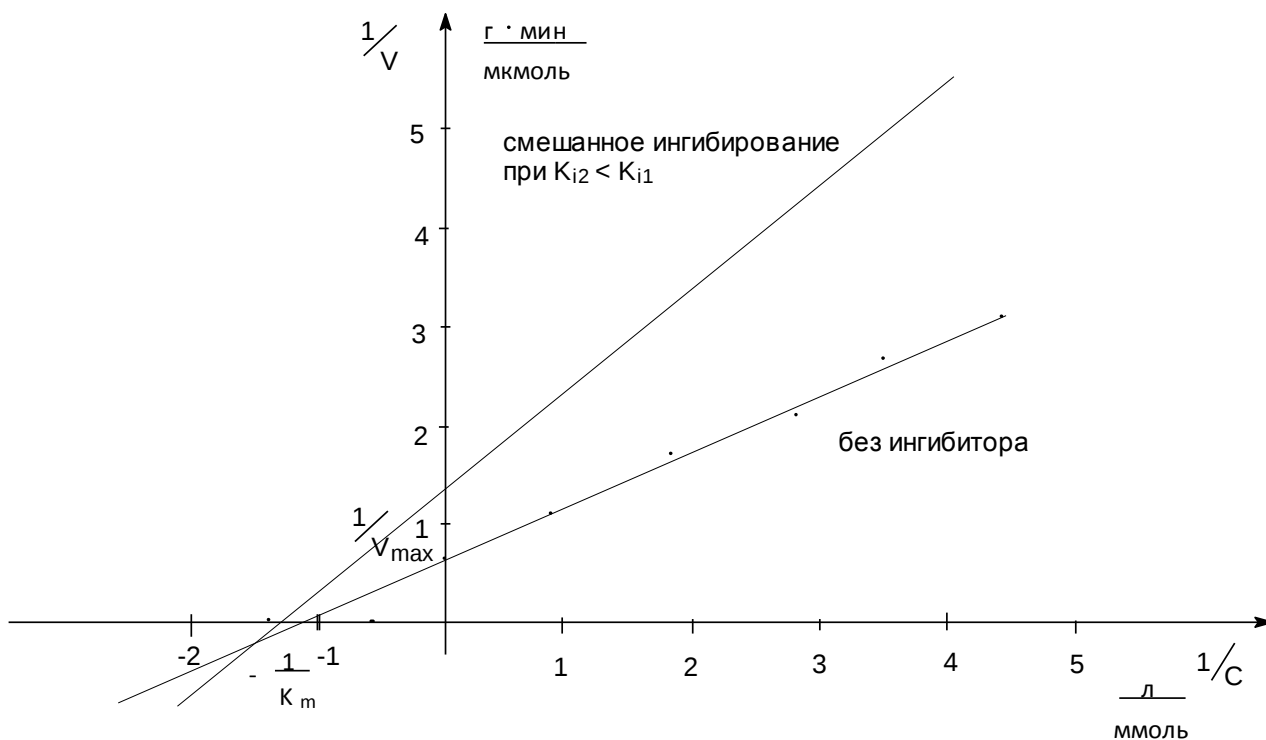
$$\frac{V}{V_{max}} = \frac{K_{I2}}{[I] + K_{I2}} * \frac{[I] + K_{I1}}{K_{I1}} * \frac{K_{I2}}{[I] + K_{I2}} + [S]$$

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} * \left( \frac{[I] + K_{I1}}{K_{I1}} * \frac{K_{I2}}{[I] + K_{I2}} + 1 \right)$$

Bundan ko'rinib turibdiki,  $K_m$  ham,  $V_{max}$  ham o'zgaradi, lekin tengsiz darajada, shuning uchun to'g'ri chiziqlar parallel bo'lmaydi va ularning kesishish nuqtasi inhibitsion konstantalarining nisbatiga bog'liq bo'ladi. Agar ferment bilan bog'lanish kuchliroq bo'lsa, u holda  $K_m$  ko'payadi va to'g'ri chiziqlar 2-kvadrantda kesishadi (13a-rasm), agar ferment-substrat kompleksiga bog'lanish kuchliroq bo'lsa, unda  $K_m$  kamayadi (raqobatdosh bo'lmagan inhibitsionda bo'lgani kabi) va to'g'ri chiziqlar 3-kvadrantda kesishadi (13b-rasm).



Рasm. 13a. Ингибиторнинг ferment bilan kuchliroq bog'lanishi bilan aralash inhibitsion.



Rasm. 13b. Inhibitorning ferment-substrat kompleksiga kuchliroq bog'lanishi bilan aralash ingibitsion.

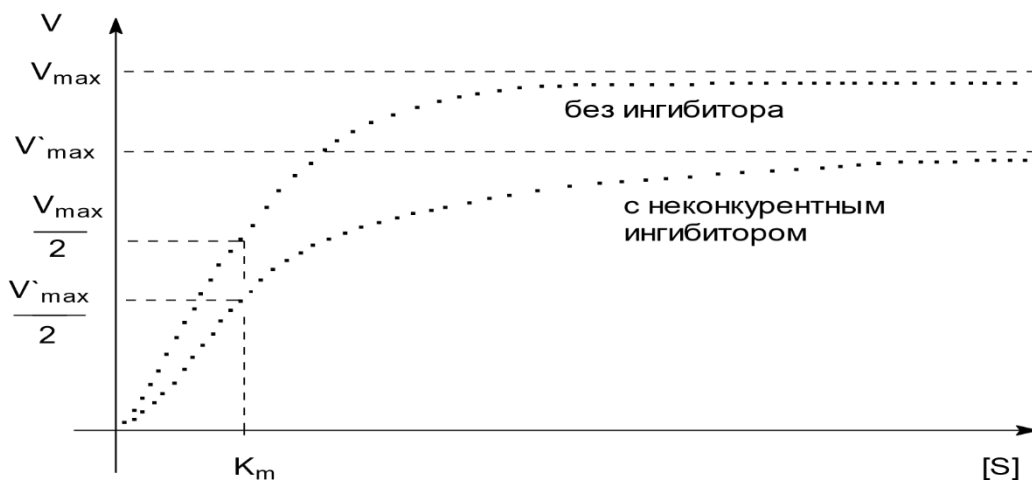
Agar tormozlanish konstantalari son jihatdan bir xil bo'lsa, unda hosil bo'lgan ifoda juda soddalashtiriladi:

$$V = \frac{V_{max} * \frac{K_I}{[I] + K_I} * \frac{[S]}{K_m + [S]}}{1} = \frac{V_{max} * K_I}{[I] + K_I}$$

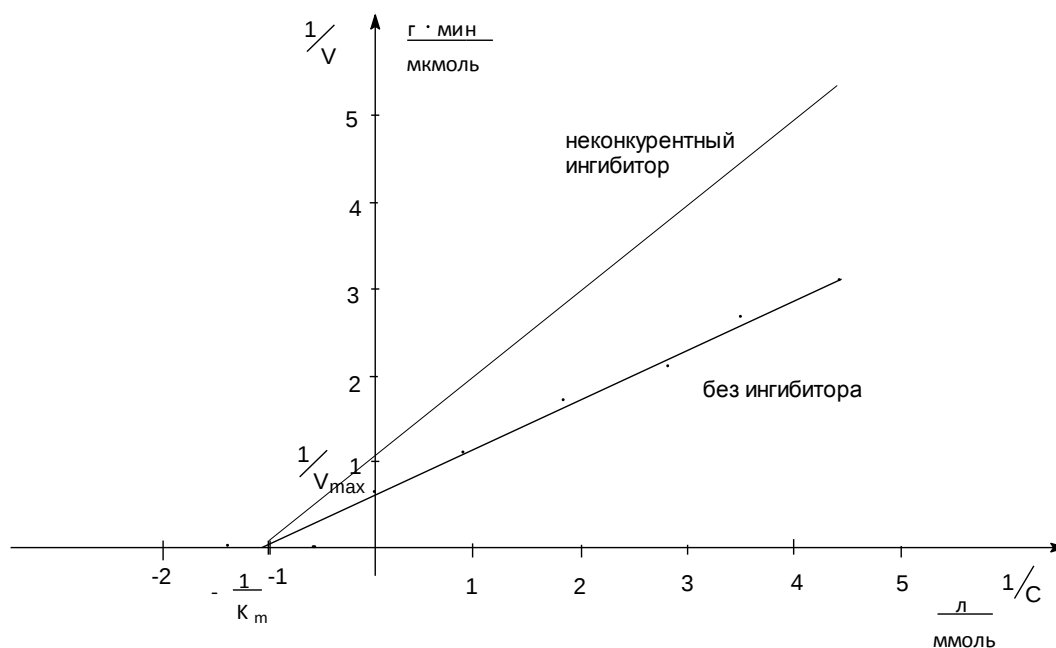
$$V_{max}'$$

$$K_I = \frac{V_{max} - V_{max}'}{V_{max}'} * [I]$$

To'g'ridan-to'g'ri koordinatalarda maksimal reaksiya tezligining substrat konsentratsiyasiga bog'liqligi quyidagicha:



Rasm. 14a. Teng majburiy konstantalar bilan aralashgan ingibitsion.



Rasm. 14b. Teskari koordinatalarda teng majburiy konstantalarda aralashgan ingibitsion.

Shunday qilib, raqobatdosh bo'lmagan ingibitsion har ikkala ingibitsion konstantalarining sonli tasodifiyligi bilan aralashgan ingibitsionning maxsus holatidir.

## 5. Fermentlarning asosiy xossalari

### 5.1. Fermentlar va anorganik katalizatorlar o'rtasidagi farqlar

Fermentlar anorganik katalizatorlardan bir qator xarakterli xususiyatlari bilan ajralib turadi, ular quyida keltirilgan.

Fermentlar nihoyatda samarali bo'lib, katalitik faollikni 108 - 1020 baravar yuqori ko'rsatadi: 1 ferment molekulasida 1 daqiqada 1000 dan 1 million tagacha substrat molekulariga aylanishi mumkin. Biologik bo'lmagan katalizatorlar uchun bu ko'rsatkichga erishib bo'lmaydi.

Fermentlar katalitik faollikni o'rtacha harorat (tana harorati), normal bosim sharoitida va muhitning neytral pH qiymatlariga yaqin mintaqada namoyish etadi.

Fermentlar substratning kimyoviy tabiati bilan ham, reaksiya turiga nisbatan ham ta'sirning yuqori o'ziga xosligi bilan ajralib turadi, ya'ni. har bir ferment asosan faqat ma'lum bir kimyoviy reaksiyani katalizlaydi.

Fermentlar termolabildir va kislotalar va ishqorlarga nisbatan beqaror.

Hujayralardagi fermentlarning faolligi qat'iy nazorat qilinadi:

fermentga ta'sir qilib, tegishli reaksiya tezligini tartibga solishingiz mumkin.

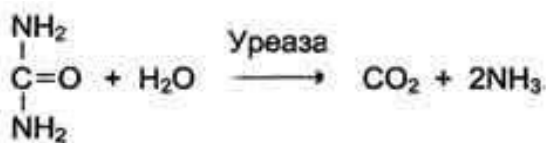
Anorganik katalizatorlardan farqli o'laroq, fermentlar hech qanday yon reaksiyaga olib kelmaydi.

Fermentatik reaksiyaning tezligi ferment miqdoriga to'g'ri proportsionaldir.

## 5.2. Ferment ta'sirining o'ziga xos xususiyati

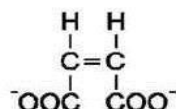
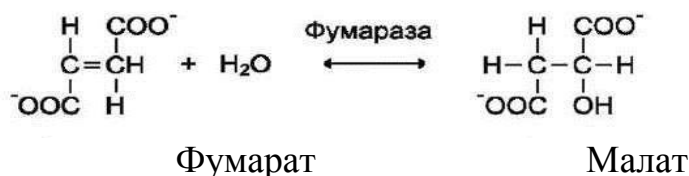
Substratning o'ziga xos xususiyati bo'yicha - ma'lum bir reaksiyani tanlab tezlashtirish qobiliyati - mutlaq o'ziga xos xususiyatga ega bo'lgan fermentlar (ya'ni, faqat bitta o'ziga xos moddaga ta'sir etuvchi va ushbu moddaning ma'lum bir o'zgarishini katalizlaydigan) fermentlar va nisbiy yoki guruh o'ziga xosligi bo'lgan fermentlar (ya'ni, molekulalarning ma'lum o'xshashlik bilan konversiyasini katalizatori) va stereospetsifikligi.

Shunday qilib, mutlaq o'ziga xos xususiyatga ega ferment - bu karbamid gidrolizini katalizlaydigan ureaza:



Nisbatan substratning o'ziga xosligi o'xshash kimyoviy tuzilishga ega bo'lgan substratlar guruhining o'zgarishini katalizlaydigan ko'plab fermentlarga xosdir. Masalan, spirtli dehidrogenaza etanol va boshqa alifatik spirtlarning konversiyasini katalizlaydi, lekin har xil tezlikda.

Stereokimyoviy substratning o'ziga xos xususiyati fumarat gidrataza bo'lib, u substratning faqat bitta stereoizomerini konversiyasini katalizlaydi:



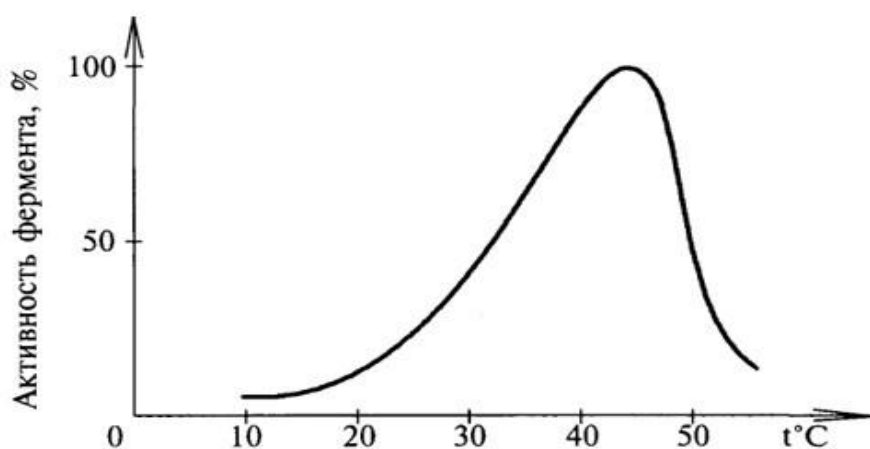
Малеинат

Ferment suv molekulasining fumarik kislota trans-anionining ko'p bog'lanishiga birikishini katalizlaydi, ammo uning stereoizomeriga, maleik kislota sis-anioniga emas. Laktat dehidrogenaza fermenti sut kislotasining faqat L-shakli konversiyasini katalizlaydi, ammo uning D-shakliga to'liq inert bo'ladi.

### 5.3. Fermentlarning termoluvchanligi

Haroratning o'zgarishiga sezgirlik fermentlarning o'ziga xos xususiyatlaridan biridir.

Ko'pgina fermentlarning ta'sir qilishi uchun optimal harorat  $37 - 45^{\circ}\text{C}$  (15-rasm). Past haroratlarda ( $0^{\circ}$  yoki undan past), fermentlar, odatda, denaturatsiyalanmaydi, garchi ularning faolligi deyarli nolga tushadi.



Rasm. 15. Fermentatik reaksiya tezligining haroratga bog'liqligi

Egri chiziqning yuqoriga ko'tarilish qismida massa ta'sir qonuniga ko'ra fermentativ reaksiyaning tezligi haroratga mutanosib, egri chiziqning tushayotgan tarmog'i asosan fermentning denaturasyonuna va natijada parchalanishiga bog'liq uning faol markazidan.

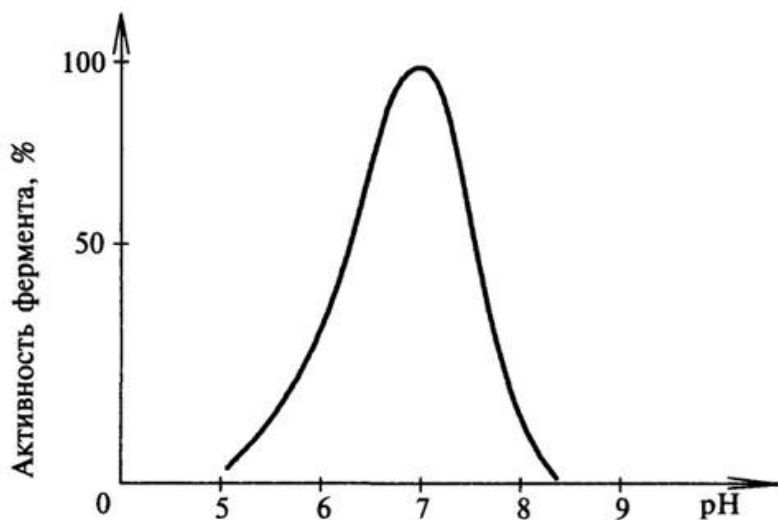
### 5.4. PHning ferment faolligiga ta'siri

Fermentlar vodorod ionlari konsentratsiyasining o'zgarishiga juda sezgir. Bunday holda, aminokislota qoldiqlarining yon radikallaridagi funktsional guruhlarning ionlash darajasi o'zgaradi, ayniqsa fermentning faol markazida, bu protein makromolekulasi konformatsiyasining o'zgarishiga olib keladi. PH qiymatining o'zgarishi fermentning substrat bilan bog'lanish darajasiga ham ta'sir qiladi. Haroratga bog'liqlik singari, fermentativ reaksiya tezligining pHga bog'liqligi ham qo'ng'iroq shaklida bo'ladi (16-rasm).

Fermentning faol markazining funktsional guruhlari substrat bilan eng samarali ta'sir o'tkazadi, tegishli pH qiymati tufayli optimal ionlanish darajasiga ega. Bu

maksimal reaksiya tezligiga mos keladi; ushbu qiymatlardan chetga chiqish reaksiya tezligining pasayishiga, pH qiymati esa - va protein-fermentning denaturatsiyasiga olib keladi.

pH-ning ferment-substrat kompleksini hosil bo'lishiga ta'siri, fermentning funktsional guruhlarini ionlashidan tashqari, substratning ayrim guruhlariga sezilarli ta'sir ko'rsatishi mumkin, bu ham reaksiya tezligiga ta'sir qiladi.



Rasm. 16. Fermentatik reaksiya tezligining muhitning pH qiymatiga bog'liqligi.

Grafik tasvirda qo'ng'iroq shaklidagi egri chiziq fermentning maksimal faolligini ko'rsatadigan ma'lum bir nuqtaga ega; bu nuqta ushbu ferment ta'sir qilishi uchun muhitning optimal pH qiymati deyiladi (16-rasm). Jadval 2 bir qator fermentlar uchun muhitning optimal pH qiymatlarini ko'rsatadi.

Jadval 2.

Muayyan fermentlarning ta'siri uchun muhitning optimal pH qiymati

| <i><b>Фермент</b></i>     | <i><b>pH</b></i> |
|---------------------------|------------------|
| Пепсин                    | 1,5–2,5          |
| Амилаза слюны             | 6,8–7,0          |
| Амилаза из<br>солода      | 4,9–5,2          |
| Уреаза                    | 7,0–7,2          |
| Липаза<br>панкреатическая | 7,0–8,5          |
| Трипсин                   | 7,5–8,5          |
| Аргиназа                  | 9,5–10,0         |

## 6. Fermentlarning tasnifi va nomenklaturasi

1961 yilda Xalqaro biokimyo va molekulyar biologiya ittifoqi sistematik nomenklaturani ishlab chiqdi, unga ko'ra barcha fermentlar katalizlangan kimyoviy reaksiya turiga qarab 6 asosiy sinfga bo'linadi.

Har bir ferment umumiy ishlaydigan nomga ega va fermentni noyob tarzda aniqlash uchun ishlatiladigan sistematik. Ishchi nomlar substrat nomini, reaksiya turini va "-ase" tugashini birlashtirishdan hosil bo'ladi. Masalan: LACTAT +

Dehidrogenatsiya + AZA = LAKTAT DEHIDROGENAZI.

Fermentning sistematik nomi quyidagicha hosil bo'ladi: substratlarning nomi: kimyoviy transformatsiya turining nomi + aza. Xuddi shu laktat dehidrogenaza "L-LAKTAT: OVER +" sistematik nomiga ega bo'ladi

OXIDOREDUCTASE ".

Fermentlarning oltita sinfining har biri o'z seriyali raqamiga ega, unga qat'iy berilgan.

IV. Oksidoreduktazalar oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlardir. ikkita substratni o'z ichiga olgan (e- yoki vodorod atomlarini bir substratdan ikkinchisiga o'tkazish). Oksidoreduktazalarga energetik jarayonlarda ishtirok etadigan dehidrogenazalar kiradi. Ushbu subklass dehidrogenatsiya (vodorod ajralishi) reaksiyalarini katalizlovchi fermentlarni o'z ichiga oladi. Ushbu guruhning barcha fermentlari substratning o'ziga xos xususiyatiga ega.

Reaksiya misoli:

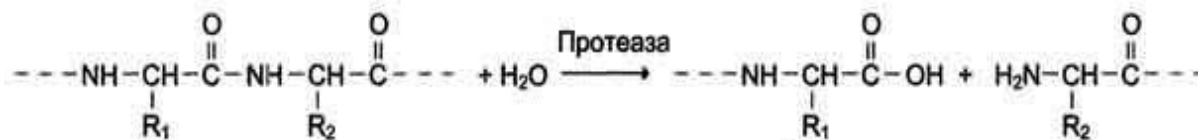


Vi. Transferazalar - bu atomlar yoki atomlar guruhi ichidagi yoki molekulalararo o'tkazilishining qaytariladigan reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar. O'tkaziladigan guruhga qarab bo'linadi: aminotransferaza, asiltransferaza, metiltransferaza, fosfotransferaza (kinaza). Reaksiya misoli:



Аланин а-кетоглутарик пироват глутамик кислота кислотаси

Vi. Hidrolazalar - bu gidroliz reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar, ya'ni. ajraladigan bog'lanish joyida suv elementlari qo'shilishi bilan moddalarning parchalanish reaksiyalari. Reaksiya misoli:



Protein Peptidi 1 Peptid 2

Fermentlar "substrat gidrolaza" formulasi bo'yicha yoki "aza" qo'shimchasi bilan substrat nomiga to'g'ridan-to'g'ri biriktirish yo'li bilan nomlanadi, masalan, proteaz, lipaza, fosfolipaza, ribonukleaza. Hidrolazalarning ma'lum sinflari uchun ma'lum kimyoviy bog'lanishning gidrolizini tavsiflovchi maxsus atamalar qo'llaniladi: esteraza, fosfataza va boshqalar.

Gidrolazalar tirik organizmlarda keng tarqalgan. Bularga oshqozon-ichak traktidagi oqsillarni, uglevodlarni va lipidlarni hazm qilishda ishtirok etadigan fermentlar kiradi (mos ravishda proteazalar, glikozidazalar va lipazlar). Ko'p gidrolazalar oziq-ovqat texnologiyasida qo'llaniladi.

Vi. Liyazalar - ma'lum bir guruhning substratlardan parchalanishini, gidrolitik bo'lmagan usul bilan yoki suv molekulasini qo'shaloq bog'lanish orqali qo'shilishini katalizlovchi fermentlar. Parchalanish  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{SH}_2$  va boshqa guruhlarini yo'q qilishi mumkin. Reaksiya misoli:



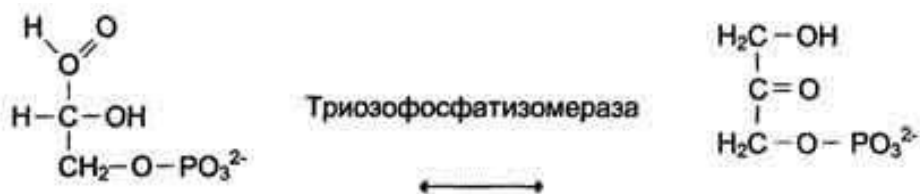
Glutamik b-aminobutirik kislota (GABA)

IX. Izomerazalar - bu molekula ichidagi turli xil transformatsiyalarni katalizlovchi fermentlar. Izomerizatsiya reaksiyasi turiga qarab bo'linadi. Masalan, fosfoglyukoizomeraza fermenti geksozalarning izomeriya o'zgarishini katalizlaydi:



Glyukoza-6-fosfat Fruktoza-6-fosfat

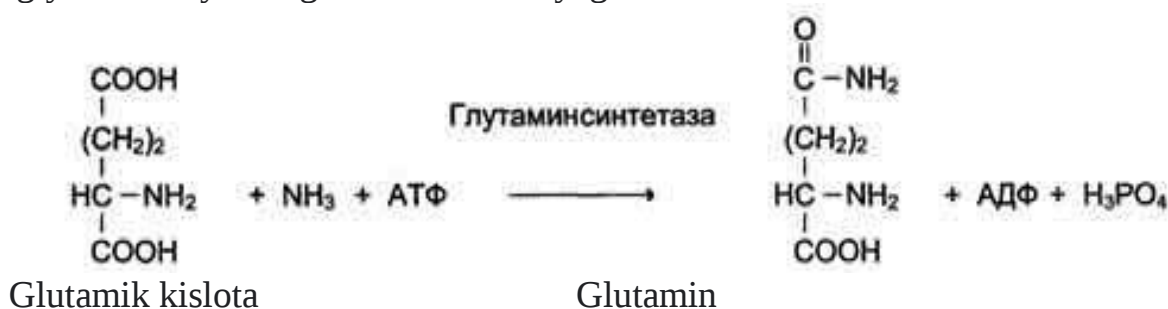
Izomerazalar molekula ichidagi oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini aldoza va ketozni o'zaro bog'lab yoki molekula ichida harakatlanadigan qo'shloq aloqalarni katalizatsiyalashi mumkin. Reaksiya misoli:



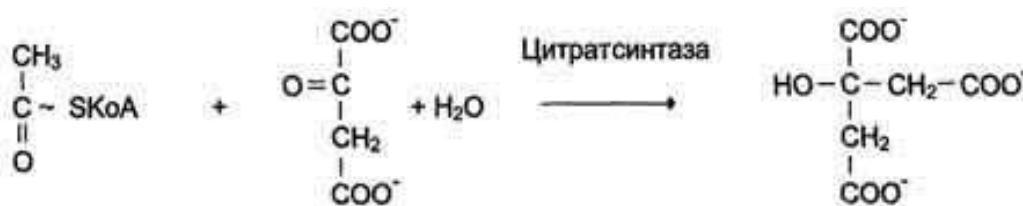
Gliseraldegid-3-fosfat Dihidroksiatseton fosfat

Izomerizatsiya molekula ichidagi guruh o'tkazilishini o'z ichiga olganda, ferment "mutaza" deb nomlanadi.

XIII. Ligazalar (sintetazlar) - bu kovalent bog'lanish hosil qilish uchun ikkita molekula qo'shilishini katalizlovchi fermentlar. Ushbu jarayon energiyaga bog'liq bo'lib, ATP molekulasidagi fosfoeter bog'lanishining yorilishi yoki boshqa birikmalarning yuqori energiyali bog'lanishlari yorilishi bilan bog'liq. ATP gidroliz energiyasidan foydalangan holda reaksiyaga misol:



Substrat molekulasida mavjud bo'lgan yuqori energiyali bog'lanish energiyasidan foydalanadigan reaksiyaga misol:



Asetil CoA oksaloatsetat sitrat

Fermentlarning sinflarga bo'linishi qat'iy va raqamlarning o'zboshimchalik bilan o'zgarishiga yo'l qo'ymaydi. Har bir sinf substratning kimyoviy guruhini hisobga olgan holda ko'plab subklasslardan va subklasslardan iborat bo'lib, ularning konvertatsiya qilinishi konvertatsiya qilingan guruhning fermenti, donori va akseptorini katalizlaydi.

Masalan, gidrolazalar (3-sinf), gidrolizlanadigan substratlar turiga ko'ra, karboksilik kislota efirlari (3.1-sinf), glikozidlar (3.2-sinf), efir va tioesterlar (3.3-sinf), peptidlar gidrolizini katalizlovchi fermentlarga bo'linadi. subklass 3.4) va boshqalar.

O'z navbatida, subklasslar kichik subklasslarga bo'linadi va kichik subklasslar ichida har bir fermentga ketma-ket raqam (shifrnin oxirgi raqami) beriladi.

Fermentlar shifri nuqta bilan ajratilgan to'rtta guruh sonidan iborat. Birinchi raqam fermentni sinfga, ikkinchisini subklassga, uchinchisini subklassga va to'rtinchisini fermentning tartib raqamini belgilashni bildiradi. Masalan, glyukoza oksidaza fermentining kodi bo'yicha tasnif bo'yicha: KF 1.1.3.4.

Jadval 3.

Fermentatik reaksiyalarga misollar

| Тип химической реакции | Фермент            | Источник                                                     | Катализируемая реакция                                                                        |
|------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Гидролиз               | Трипсин            | Тонкий кишечник                                              | Белки + H <sub>2</sub> O → Разные полипептиды                                                 |
| Гидролиз               | α-Амилаза          | Пшеница, ячмень, батат и т.д.                                | Крахмал + H <sub>2</sub> O → Гидролизат крахмала + Мальтоза                                   |
| Гидролиз               | Тромбин            | Кровь                                                        | Фибриноген + H <sub>2</sub> O → Фибрин + 2 Полипептида                                        |
| Гидролиз               | Липазы             | Кишечник, семена с большим содержанием жиров, микроорганизмы | Жиры + H <sub>2</sub> O → Жирные кислоты + Глицерин                                           |
| Гидролиз               | Щелочная фосфатаза | Почти все клетки                                             | Органические фосфаты + H <sub>2</sub> O → Дефосфорилированный продукт + Неорганический фосфат |

|                     |                             |                                                       |                                                                                                                                                 |
|---------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Гидролиз            | Уреаза                      | Некоторые растительные клетки и микроорганизмы        | Мочевина + $H_2O$<br>→ Аммиак +<br>Диоксид углерода                                                                                             |
| Фосфоролиз          | Фосфорилаза                 | Ткани животных и растений, содержащие полисахариды    | Полисахарид (крахмал или гликоген из $n$ молекул глюкозы) + Неорганический фосфат<br>→ Глюкозо-1-фосфат + Полисахарид ( $n-1$ глюкозных единиц) |
| Декарбоксилирование | Декарбоксилаза              | Дрожжи, некоторые растения и микроорганизмы           | Пировиноградная кислота →<br>Ацетальдегид +<br>Диоксид углерода                                                                                 |
| Конденсация         | Альдолаза                   | Все животные клетки; многие растения и микроорганизмы | 2<br>Триозофосфат<br>→ Гексозодифосфат                                                                                                          |
| Конденсация         | Оксалоацетат-трансацетилаза | То же                                                 | Щавелевоуксусная кислота +<br>Ацетилкофермент А → Лимонная кислота +<br>Кофермент А                                                             |
| Изомеризация        | Фосфогексозо-изомераза      | То же                                                 | Глюкозо-6-фосфат<br>Фруктозо-6-фосфат                                                                                                           |

|                                      |                   |                                                       |                                                                                        |
|--------------------------------------|-------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Гидратация                           | Фумараза          | То же                                                 | Фумаровая кислота + H <sub>2</sub> O<br>→ Яблочная кислота                             |
| Гидратация                           | Карбоангидраза    | Разные ткани животных; зеленые листья                 | Диоксид углерода + H <sub>2</sub> O<br>→ Угольная кислота                              |
| Фосфорилирование                     | Пируваткиназа     | Почти все (или все) клетки                            | АТФ + Пировиноградная кислота<br>→ Фосфоенолпировиноградная кислота + АДФ              |
| Перенос фосфатной группы             | Фосфоглюкомутаза  | Все животные клетки; многие растения и микроорганизмы | Глюкозо-1-фосфат<br>→ Глюкозо-6-фосфат                                                 |
| Трансаминирование                    | Трансаминаза      | Большинство клеток                                    | Аспарагиновая кислота + Пировиноградная кислота<br>→ Щавелевоуксусная кислота + Аланин |
| Синтез, сопряженный с гидролизом АТФ | Глутаминсинтетаза | То же                                                 | Глутаминовая кислота + Аммиак + АТФ<br>Глутамин + АДФ + Неорганический фосфат          |

|                             |                                     |                                                                                         |                                                                                                                                                    |
|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Окислениевосста<br>новление | Цитохромокс<br>идаза                | Все<br>животные<br>клетки,<br>многие<br>растения и<br>микрооргани<br>змы                | $O_2 +$<br>Восстановл<br>енный<br>цитохром c→<br>Окисленный<br>цитохром c +<br>$H_2O$                                                              |
| Окислениевосста<br>новление | Оксидаза<br>аскорбиновой<br>кислоты | Многие<br>растительные<br>клетки                                                        | Аскорбино<br>вая кислота +<br>$O_2 \rightarrow$<br>Дегидроаскорб<br>ино вая<br>кислота +<br>Пероксид<br>водорода                                   |
| Окислениевосста<br>новление | Цитохром c<br>редуктаза             | Все<br>животные<br>клетки;<br>многие<br>растения и<br>микрооргани<br>змы                | НАД·Н<br>(восстановл<br>енный<br>кофермент) +<br>Окисленный<br>цитохром c→<br>Восстановленн<br>ый цитохром c<br>+ НАД<br>(окисленный<br>кофермент) |
| Окислениевосста<br>новление | Лактатдегидр<br>огеназа             | Большинс<br>тво<br>животных<br>клеток;<br>некоторые<br>растения и<br>микрооргани<br>змы | Молочная<br>кислота<br>+ НАД<br>(окисленный<br>кофермент)<br>→Пировин<br>оград-<br>ная кислота<br>+<br>НАД·Н<br>(восстановл<br>енный<br>кофермент) |

## 7. Immobilizatsiya qilingan fermentlar Umumiy xususiyatlar.

... Immobilizatsiya qilingan fermentlarning mahalliy prekursorlardan afzalliklari:

1. Geterogen katalizator reaksiya muhitidan osongina ajralib turadi, bu esa har qanday vaqtda reaksiyani to'xtatishga, fermentni qayta ishlatishga va fermentdan toza mahsulot olishga imkon beradi.

2. Immobilizatsiya qilingan fermentlardan foydalangan holda fermentativ jarayon katalizlangan reaksiya tezligini va mahsulot rentabelligini sozlash orqali doimiy ravishda amalga oshirilishi mumkin.

7. Fermentning modifikatsiyasi uning xususiyatlarini ataylab o'zgartiradi, masalan, o'ziga xoslik (ayniqsa, makromolekulyar substrat bilan bog'liq holda), katalitik faollikning pH, ion tarkibi va muhitning boshqa parametrlariga bog'liqligi, denaturatsiya qiluvchi ta'sirlarga barqarorlik.

9. Immobilizatsiya qilingan fermentlarning katalitik faolligini tashuvchi xususiyatlarini yorug'lik va tovush kabi fizik omillar ta'sirida o'zgartirish orqali tartibga solish mumkin. Fermentlar erimaydigan tashuvchilar bilan bog'lanish orqali ham, oqsil molekulalarining past molekulali ikki funktsiyali birikmalar bilan molekulalararo yoki molekulalararo o'zaro bog'lanishidan, shuningdek eruvchan moddalarga birikib immobilizatsiya qilinishi mumkin.  
polimer.

Immobilizatsiya qilingan fermentlar uchun tashuvchilar

Immobilizatsiya qilingan fermentlarni olish uchun cheklangan miqdordagi organik va noorganik tashuvchilar ishlatiladi. Ommaviy axborot vositalariga quyidagi talablar qo'yiladi:

- yuqori kimyoviy va biologik qarshilik;

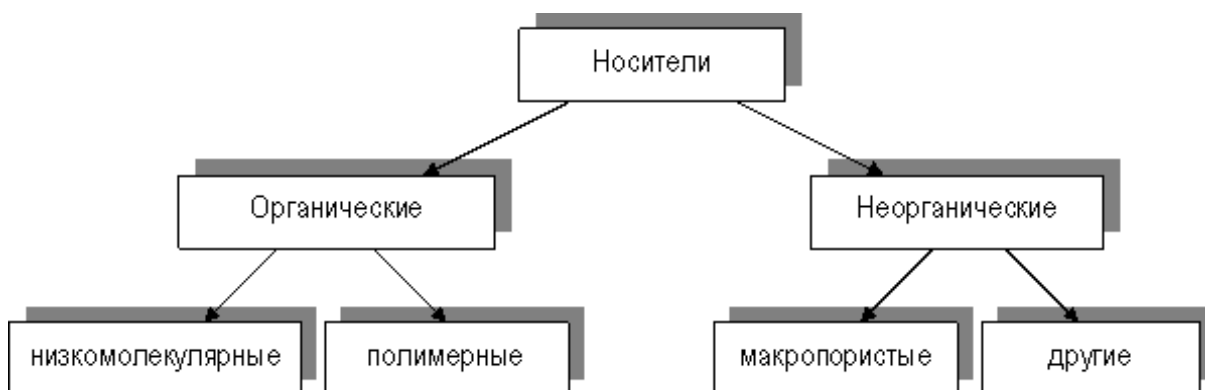
- yuqori kimyoviy qarshilik;

ferment va substratlar uchun etarli darajada o'tkazuvchanlik, g'ovaklilik, katta o'ziga xos sirt;

- texnologik jihatdan qulay shakllar (granulalar, membranalar) shaklida olish imkoniyati;

- oson faollashtirish; - yuqori hidrofilik; - arzon.

Media tasnifi 4-rasmda sxematik tarzda ko'rsatilgan.



Rasm. 17. Immobilizatsiya qilingan fermentlar uchun tashuvchilar tasnifi

Shuni ta'kidlash kerakki, organik tashuvchilar (ham past, ham yuqori molekulyar) tabiiy yoki sintetik kelib chiqishi mumkin. Tabiiy polimer organik tashuvchilar biokimyoviy tasnifiga ko'ra 3 guruhga bo'linadi: polisaxarid, oqsil va lipid.

Sintetik polimerlarni makromolekulalarning asosiy zanjiri kimyoviy tuzilishi tufayli ham guruhlarga bo'lish mumkin: polimetilen, poliamid, polyester.

Fermentlarning immobilizatsiyasi uchun tabiiy polisakkaridlar va polimetil tipidagi sintetik tashuvchilar eng ko'p ishlatiladi, qolganlari kamroq qo'llaniladi. Immobilizatsiya uchun tashuvchisi sifatida tabiiy polimerlarning katta ahamiyati ularning mavjudligi va kimyoviy reaksiyalarga osonlikcha kiradigan reaktiv funksional guruhlarning mavjudligi bilan izohlanadi. Ushbu guruh tashuvchilarning o'ziga xos xususiyati ularning yuqori hidrofili hamdir. Tabiiy polimerlarning zarari mikroorganizmlar ta'siriga nisbatan beqarorlik va juda yuqori narx.

Immobilizatsiya uchun eng ko'p ishlatiladigan polisakkaridlar tsellyuloza, dekstran, agaroz va ularning hosilalari hisoblanadi. Tsellyuloza gidrofil bo'lib, ko'plab gidroksil guruhlarga ega, bu esa ularni ushbu guruhlarni almashtirish orqali o'zgartirishga imkon beradi. Mexanik quvvatni oshirish uchun tsellyuloza qisman gidroliz bilan donalanadi, natijada amorf mintaqalar vayron bo'ladi. Ularning o'rniga, kristalli mintaqalar orasidagi g'ovakliligini saqlab qolish uchun kimyoviy o'zaro bog'lanishlar joriy qilingan. Granüler tsellyulozani DEAE tsellyuloza, CMC va boshqalar kabi turli xil ion almashinadigan hosilalarga aylantirish juda oson.

## 8. O'zgartirilgan va rekombinant fermentlar

Iqtisodiy va texnologik sabablarga ko'ra mikroorganizmlardan foydalangan holda fermentlarni o'simlik yoki hayvonot manbalaridan ajratishdan ko'ra ko'proq foyda keltiradi. Hozirgi vaqtda oziq-ovqat sanoatida ishlatiladigan shtamlarning aksariyati nisbatan kam miqdordagi bakteriya va qo'ziqorin turlaridan ajratilgan: *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* yoki *Aspergillus oryzae*, *E. coli*. Katta miqdordagi fermentlarni ishlab chiqarish uchun *Bacillus* turlaridan foydalanishning afzalliklaridan biri bu fermentlarni to'g'ridan-to'g'ri madaniy muhitga ajratish qobiliyatidir.

GINi pishloq ishlab chiqarish texnologiyasida qo'llashning misoli, kam tabiiy ximosinni rekombinant analog bilan almashtirish. Ximosinni kodlovchi gen sigirning genomik kutubxonasidan klonlanib, xamirturushga o'tkazilib, keyinchalik qimmatli ferment ishlab chiqaruvchisi bo'ldi. Rekombinant *E. coli* K-12 shtami ham ximosin manbai bo'lib xizmat qilishi mumkin.

So'nggi yillarda ishlab chiqaruvchilarga genetik jihatdan muhandislikka yo'naltirilgan evolyutsiya deb nomlanuvchi rekombinant fermentlarning xususiyatlarini yaxshilashga qaratilgan yondashuv ishlab chiqildi. Oqsillarning yo'naltirilgan evolyutsiyasi, ya'ni kimyoviy va radiatsion mutageniz bo'yicha ishlar 1980 yillarning boshlarida boshlangan. Yo'naltirilgan evolyutsiyaning mohiyati

genlar darajasida tasodifiy almashtirishlarni amalga oshirish, so'ngra ferment xususiyatlarini yaxshilash maqsadiga javob beradigan mutant variantlarni tanlashdan iborat. Tasodifiy almashtirishni amalga oshirishning turli xil usullari mavjud. Ular DNK fragmentlarini qayta tartibga solish, genning alohida qismlari bilan qisqarishi va tasodifiy xatolar bilan zanjirning kengayishini o'z ichiga oladi.

Yo'naltirilgan evolyutsiyadan foydalanib, pishirishda kaliy bromatning gumon qilinadigan kanserogen konservantini almashtirish uchun glyukoza oksidaza fermenti ishlab chiqariladi.

2009 yilda fermentlar va ferment preparatlarining global savdosi 440 million evroni tashkil etdi, shu jumladan an'anaviy (klassik) ishlab chiqaruvchilar shtammlari yordamida ishlab chiqarilgan fermentlar 180 million evroni (umumiy savdo hajmining 41%) GMM 1-2 xavfsizlik sinflariga homolog bo'lgan - 132 million evroni (30) umumiy savdo hajmining%). 3 ta xavfsizlik sinfining heterologik HMMLaridan fermentlarni sotish hajmi 128 million evroni tashkil qildi (jahon oziq-ovqat bozoridagi umumiy savdo hajmining 29%).

Enzimologiya faol rivojlanayotgan yo'nalishlari orasida fermentlarni modifikatsiyalashning biologik usullarini ishlab chiqish kiradi. "Protein muhandisligi" deb nomlangan maydon ayniqsa istiqbolli. Aminokislotalar ketma-ketligi, uch o'lchovli tuzilishi va fermentlarning katalitik faolligi o'rtasidagi bog'liqlikni bilishga asoslangan oqsillarni muhandislik usullari fermentlarni texnologik xususiyatlarini yaxshilash uchun ularni muvaffaqiyatli o'zgartirish imkonini beradi.

Ferment molekulalarining tuzilishidagi ba'zi aminokislotalarni almashtirish usuli keng qo'llaniladi. Fosfolipaza A2 molekulasidagi Asn89 ning spiral 5 ning N-terminal uchi yaqinidagi Lys uchun Asp va Glu92 bilan almashtirilishi kkal / molni ko'paytirishi va Asp56 ning Ser, Gly uchun Ser60 va Tyr uchun Asn67 ning almashinishi sezilarli darajada oshgani ko'rsatilgan. fosfolipid misellari uchun A2 fosfolipaza faolligini va agentini oshiradi.

Ferment molekulalarining tuzilmalaridagi aminokislotalarni almashtirish bilan ularning substrat o'ziga xosligi ham o'zgaradi.

Sellobioidrolazalardagi faollikning eruvchan va erimaydigan substratlarga nisbati o'zgarishiga aromatik aminokislotalarning tashqi qoldiqlarini almashtirish orqali erishiladi, ular polisakkarid molekulasining uchini ushlab, uni faol markazga yo'naltiradi.

Fermentlarning harorat va pH darajasining haddan tashqari yuqori darajadagi barqarorligini oshirishga uning uchinchi darajali tuzilishida bir-biriga yaqin bo'lgan aminokislotalar qoldiqlari orasida bunday almashtirishlar orqali erishiladi, bu esa qo'shimcha kovalent bo'lmagan hidrofobik bog'lanishlar, tuz ko'priklari yoki kovalentlar hosil bo'lishiga olib keladi. SS bog'lari, bu fermentlar molekulasi globulasining umumiy barqarorligini oshiradi.

Ko'pgina hollarda almashtirishlar takomillashgan tuzilmalarni ekstremofil turdosh organizmlardan (termo, atsido va alkalofil) o'xshash analoglari bilan solishtirish asosida amalga oshiriladi.

Ba'zida fermentlarning barqarorligini oshirishga uning tarkibiga ba'zi bakteriyalarda joylashgan maxsus termostabilizatsiya modulini kiritish orqali erishiladi.

Proteolizga fermentlarning barqarorligini oshirish yoki proteazni tanib olish joylarini domen tuzilishidan olib tashlash yoki ularga aminokislotalarni kiritish orqali glikozillanish darajasini oshirish orqali amalga oshiriladi; O- yoki N-glikosilatlanish joylari sifatida xizmat qiladi.

Fermentlar, shuningdek, substrat bilan bog'lanish domenini qo'shish yoki olib tashlash orqali modulli tuzilishini o'zgartirish orqali o'zgartiriladi. Masalan, tsellyuloza bog'laydigan domeni glikoziltransferaza molekulalariga kiritilishi natijasida ular tsellyuloza tolasi yuzasida amorf mintaqalarda molekulalarning osilgan uchlarini "o'zaro bog'lash" qobiliyatiga ega bo'ladilar. "Keraksiz" modullarni olib tashlash molekulaning massasini pasaytiradi, bu fermentning substratga tarqalishi samaradorligini oshiradi.

Fermentlarning ta'sir tabiati va substratning o'ziga xos xususiyatlarini o'zgartirishga, masalan, ekzohidrolazalarning faol uchastkasini bir-biriga bog'laydigan ko'chadan o'chirish orqali erishiladi, bu esa ularni tegishli endohidrolazalarga aylantiradi.

Biologik modifikatsiyaning turlaridan biri bu fermentlarning zimatik modifikatsiyasi. Fermentlar 20 yildan ortiq vaqt davomida oqsillarni o'zgartirish uchun ishlatilgan. Oziq-ovqat texnologiyalarida fermentlar oqsillarning funktsional, texnologik va ozuqaviy xususiyatlarini, shuningdek oziq-ovqat oqsillarining funktsional va fiziologik xususiyatlarini tartibga solish uchun ishlatiladi,

XX asrning 90-yillarida. fermentlar boshqa fermentlarni o'zgartirish uchun ishlatila boshlandi. Bunday reaktsiyalarning murakkabligi fermentlar molekulalarining o'zaro ta'siriga to'sqinlik qiluvchi sterik omillarga bog'liq. Bunday modifikatsiyaning bir nechta misollaridan biri bu to'qima transglutaminazasi yordamida fosfolipaza A2 ning modifikatsiyasi.

Genetik modifikatsiyalangan mikroorganizmlar ferment ishlab chiqaruvchilar sifatida tobora ko'proq foydalanilmoqda. Ularning genomini o'zgartirish ushbu mikroorganizmlar tomonidan ishlab chiqariladigan fermentlarning giperproduktivasini oshirish yoki ma'lum mikroorganizm uchun xos bo'lmagan fermentlarni sintez qilish imkoniyatini yaratish maqsadida amalga oshiriladi.

Fermentlarning haddan tashqari ko'payishini oshirish uchun mikroorganizmlar turli mutagenlarga (ultrabinafsha va rentgen nurlari, kimyoviy vositalar) ta'sir ko'rsatadi, bu mikroob populyatsiyasining aksariyat qismida o'linga olib keladigan mutatsiyaga olib keladi va ishlab chiqarishning ko'payishiga yordam beradigan mutatsiyalar. fermentlar. Har bir mutagen va mikroorganizm uchun tirik qolgan mutatsiyalangan hujayralar sonini ko'paytirish uchun mutagen davolash shartlari tanlanadi. Qolgan yashovchan mikroob hujayralari genomik variantlar bo'yicha tekshiriladi, ba'zi fermentlarning eng faol ishlab chiqaruvchilari tanlanadi.

Klassik mutatsiya usuli deb nomlangan ushbu usul birinchi bo'lib XX asrning 30-yillari oxirida tasvirlangan va 1950-1970 yillarda faol qo'llanilgan. U genetik muhandislik yutuqlariga asoslangan holda mikroorganizmlar genomini o'zgartirish usullari bilan almashtirildi. Xususan, zarur fermentlarni sintez qilish uchun javobgar bo'lgan mikroorganizm genomiga genlarni kiritish imkonini beradigan rekombinat DNK (rDNA) texnologiyasi. Genetik muhandislikning jadal rivojlanishi biokatalizatorlarning yangi segmenti - rekombinant fermentlarning paydo bo'lishiga olib keldi.

Hozirgi vaqtda Rossiya Federatsiyasida 2020 yilgacha bo'lgan davrda biotexnologiyalarni rivojlantirishning kompleks dasturiga muvofiq fermentlar ishlab chiqarish sanoat biotexnologiyasining ustuvor yo'nalishlaridan biri hisoblanadi.

Hozirgi vaqtda rekombinant fermentlarni ishlab chiqaruvchi mikroorganizmlarning sanoat ishlab chiqarishi yo'lga qo'yilgan. Masalan, ökaryotik organizmdan ajratilgan ximosin fermentini ishlab chiqarishga mas'ul bo'lgan gen, bu ferment ishlab chiqaruvchisi bo'lgan *Escherichia coli*, *Kluyveromyces lactis* yoki *Aspergillus awamori* mikroorganizmlarining genomiga kiritiladi. *Bacillus subtilis* bakteriyalari rekombinant ferment - asetolaktat dekarboksilaza ishlab chiqaruvchilari sifatida ishlatiladi.

Rekombinant fermentlarni ishlab chiqaradigan mikroorganizmlardan foydalanish bir qator afzalliklarga ega. Bitta mikroorganizm turli ferment preparatlari ishlab chiqaruvchisi sifatida ishlatilishi mumkin, bu ularni ishlab chiqarish texnologiyasini birlashtiradi. Fermentlarning rentabelligi sezilarli darajada oshadi, masalan, glyukoamilaza va endoksilanaza hosilasi. Rekombinant *Aspergillus* shtammlari tomonidan ishlab chiqarilgan ushbu fermentlarning an'anaviy shtammlardan hosil bo'lish darajasi 10-30 baravar oshadi.

Rekombinant fermentlar yuqori tozaligiga ega, bu oziq-ovqat texnologiyasida alohida ahamiyatga ega. Masalan, pishirishda proteaz faolligidan amilazalardan foydalanish xamirning reologik xususiyatlarini yaxshilashga imkon beradi, chunki kleykovina oqsillari tuzilishi buzilmaydi.

Rekombinant fermentlar oziq-ovqat texnologiyalarida keng qo'llaniladi (4-jadval). Ammo, agar nooziq-ovqat sanoatida rekombinant fermentlar cheklovsiz ishlatilsa, u holda rekombinant fermentlar yordamida olingan oziq-ovqat mahsulotlari iste'molchini xabardor qilish uchun tegishli yorliq bilan belgilanishi kerak.

Tabiiy manbalardan tashqari, fermentlarni sun'iy sintez bilan ham olish mumkin. Polipeptidli tuzilishga ega bo'lmagan, ammo mavjud fermentlarning faol markazlarining analoglarini o'z ichiga olgan fermentlarning sintezi umid baxsh etadi.

Jadval 4.

Oziq-ovqat ishlab chiqarishda ishlatiladigan rekombinant fermentlar.

| Рекомбинатный фермент | Организм<br>производитель | Область<br>применения |
|-----------------------|---------------------------|-----------------------|
|-----------------------|---------------------------|-----------------------|

|                                         |                                                      |                       |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------|
| $\alpha$ -<br>ацетолактатдекарбоксилаза | <i>Bacillus subtilis, Bacillus amyloliquefaciens</i> | Производство напитков |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------|

|                                   |                                                        |                                                 |
|-----------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Аминопептидаза                    | <i>Trichoderma reesei, Trichoderma longibrachiatum</i> | Производство молочных продуктов                 |
| $\alpha$ -Амилаза                 | <i>Bacillus subtilis, Bacillus amyloliquefaciens</i>   | Производство напитков, хлебопечение             |
| Арабинофуранозидаза               | <i>Aspergillus niger</i>                               | Производство напитков                           |
| Каталаза                          | <i>Aspergillus niger</i>                               | Производство продуктов, содержащих куриные яйца |
| Химозин                           | <i>Aspergillus niger</i>                               | Производство сыров                              |
| Циклодекстрингликозил трансфераза | <i>Bacillus licheniformis</i>                          | Переработка крахмала                            |
| $\alpha$ -Глюканаза               | <i>Bacillus subtilis, Bacillus amyloliquefaciens</i>   | Производство напитков                           |
| Глюкоамилаза                      | <i>Aspergillus niger</i>                               | Производство напитков, хлебопечение             |
| Глюкозоизомераза                  | <i>Streptomyces lividans</i>                           | Переработка крахмала                            |
| Глюкозооксидаза                   | <i>Aspergillus niger</i>                               | Хлебопечение                                    |
| Глюкозооксидаза                   | <i>Bacillus subtilis, Bacillus amyloliquefaciens</i>   | Хлебопечение, переработка крахмала              |
| Липаза                            | <i>Aspergillus oryzae</i>                              | Производство жиров                              |

|                      |                                                        |                                            |
|----------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Мальтогенная амилаза | <i>Bacillus subtilis, Bacillus amyloliquefaciens</i>   | Хлебопечени<br>е, переработка<br>крахмала  |
| Пектинлиаза          | <i>Aspergillus niger</i>                               | Производств<br>о напитков                  |
| Пектинэстераза       | <i>Trichoderma reesei, Trichoderma longibrachiatum</i> | Производств<br>о напитков                  |
| Фосфолипаза А        | <i>Trichoderma reesei, Trichoderma longibrachiatum</i> | Хлебопечени<br>е, переработка<br>жиров     |
| Фосфолипаза В        | <i>Trichoderma reesei, Trichoderma longibrachiatum</i> | Хлебопечени<br>е, переработка<br>крахмала  |
| Полигалактозидаза    | <i>Trichoderma reesei, Trichoderma longibrachiatum</i> | Производств<br>о напитков                  |
| Протеаза             | <i>Aspergillus oryzae</i>                              | Производств<br>о сыров                     |
| Пуллуланаза          | <i>Bacillus licheniformis</i>                          | Переработка<br>крахмала                    |
| Ксиланаза            | <i>Aspergillus niger</i>                               | Производств<br>о напитков,<br>хлебопечение |

Tsiklodekstrinlarning sintetik polimerlari va steroidlarning metall hosilalarini o'z ichiga olgan fermentlar yaratildi, ular qo'shimcha reaktiv guruhlar fermentlarning faol markazlari sifatida yo'naltirilgan matritsa hisoblanadi.

Tsiklodekstrinlar sintetik fermentlarni yaratish uchun keng qo'llaniladi, chunki ular faol birikmalarning markaziy bo'shlig'ida hidrofobik bog'lanish qobiliyatiga ega. B-siklodekstrin asosida har xil sintetik gidrolitik fermentlar, ximotripsin, transamilaza va ribonukleaza faolligi bilan fermentlar olingan.

Sintetik ximotripsin katalitik guruhlar - imidazolil benzoik kislota yoki boshqa imidazol birikmalarini b-siklodekstrin molekulasiga kiritish orqali olingan.

Sintetik fermentlar tarkibida aminokislota qoldiqlari bo'lmaganligi sababli, ular tabiiy fermentlarga qaraganda harorat, pH, ion kuchi kabi omillarga kamroq ta'sir

ko'rsatadi, chunki ularning konformatsion barqarorligi va biologik funktsiyalari uchun bu omillar cheklangan. Sintetik fermentlarning bu xususiyatlari fermentativ texnologiyalar, shu jumladan oziq-ovqat sanoatidagi imkoniyatlarni kengaytiradi.

## 9. Ferment preparatlarini ishlab chiqarish

Ferment preparatlarini ishlab chiqarish biotexnologiyaning eng yirik va jadal rivojlanayotgan tarmoqlaridan biridir. Katta ishlab chiqarish hajmi va fermentlarning keng assortimenti ularning turli sohalarda, tibbiyotda va ilmiy tadqiqotlarda talabiga bog'liq.

Zamonaviy tasnifga ko'ra 2000 ga yaqin ferment aniqlangan. Sanoat 250 ga yaqin ferment preparatlarini ishlab chiqaradi. Shu bilan birga, taxminan 99% 18 ta fermentning preparatlariga to'g'ri keladi. Ulardan asosiylari:

bakterial va zamburug'li proteinazalar;  
- bakterial va zamburug'li b-amilazalar, glyukoamilazalar, dekstranaza;  
- glyukoza izomerazasi;  
- sutning ivishini ta'minlovchi ferment preparatlari;  
- pektolitik, selulolitik va gemitsellulolitik preparatlar;  
- xamirturush, bakterial va zamburug'li b-galaktozidazalar; - b-fruktofuranosidaza preparatlari; - lipaza va lipoksigenaza.

Ishlab chiqarishning umumiy hajmidagi eng katta ulushni (60% gacha) kraxmalni qayta ishlash uchun b-amilazalar va sintetik yuvish vositalari uchun ishlab chiqarilgan proteinazalar egallaydi. Ferment preparatlarining boshqa iste'molchilari (% bilan): sharbatlar va sharob ishlab chiqarish - 10; alkogol sanoati - 8; pivo tayyorlash - 6; pishloq tayyorlash - 5; pishirish - 5; boshqa tarmoqlar -6. Keyingi 1015 yilda sanoat ishlab chiqarishi uchun eng ko'p talab qilinadigan amilazalar, proteinazlar, **Glyukoza-fruktoz**koza izomerazasi, tsellyulozalar, macerazalar, sut ivish fermentlari bo'lgan ferment preparatlari bo'ladi.

Muayyan biotexnologik sohalarda foydalanish uchun murakkab ferment preparatlari va ko'p fermentli komplekslarni olish istiqbolli, shu jumladan. oziq-ovqat biotexnologiyasida.

### 9.1. Ferment preparatlari tasnifi va nomenklaturasi.

Sanoat tomonidan ishlab chiqariladigan ferment preparatlarining aksariyati gidrolitik fermentlarning preparatlaridir. Asosiy fermentdan tashqari, ferment preparatlari tarkibiga, qoida tariqasida, bir qator hamrohlik qiluvchi fermentlar va oqsil tabiatining boshqa moddalari kiradi. Shu munosabat bilan, tijorat fermentlari preparatlari asosiy moddaga ko'ra tasniflanadi.

Rossiyada ferment preparatlari uchun nomlar tizimidan foydalaniladi, bu erda asosiy fermentning tabiati, ishlab chiqarish manbai va tozalash darajasi hisobga

olinadi. Preparatlar nomi asosiy fermentning qisqartirilgan nomini va ishlab chiqaruvchining o'ziga xos ismini o'z ichiga oladi. Preparat nomidan keyin ishlab chiqaruvchini etishtirish usuli (G - chuqur, P - sirt), so'ngra x harfi ko'rsatiladi. Tozalangan preparatlar uchun tozalash darajasi ham ko'rsatiladi:

2 - asl madaniyatning suyuq xom konsentrati;

4 - xom ferment eritmasini purkagich bilan quritish yo'li bilan olingan quruq preparat (sirt kulturasi yoki kultivatsiya suyuqligidan ekstrakt);

10 - fermentlarni organik erituvchilar bilan cho'ktirish yoki tuzlash yo'li bilan olingan quruq preparatlar;

15, 18, 20 - balastli moddalardan va qisman unga hamroh bo'ladigan fermentlardan tozalangan preparatlar.

Tozalash ko'rsatkichi 20 dan yuqori bo'lgan dorilar uchun belgilangan nomenklatura qo'llanilmaydi, chunki biz yuqori darajada tozalangan yoki bir hil fermentlar haqida gapiramiz.

Bunday dorilar uchun nomlar mavjud nomenklatura va fermentlar tasnifiga muvofiq ishlatiladi. Arzimas ismlar o'simlik yoki hayvonot manbalaridan ajratilgan fermentlarni tayyorlash uchun ham ishlatiladi.

## **6-MAVZU: FERMENTLARNI BARQARORLASHTIRISHNING ASOSIY TAMOIYILLARI**

### **Raja**

1. Ferment muhandisligi asoslari, maqsadi va vazifalari, ahamiyati.
2. Fermentlarni monomolekulyar birikmalar bilan barqarorlashtirish.
3. Tabiiy va sintetik suvda eruvchan polimerlar bilan fermentlar va hujayralarni barqarorlashtirish.

**Kalit so'zlar:** mikroorganizmlarga vosita reaksiyalarining ta'siri, mikroorganizmlarning kislorod bilan aloqasi mikroblarga quyosh nurlarining ta'siri, mikroorganizmlarning o'zaro ta'siri

### **9.2. Ferment preparatlarini olish manbalari.**

Fermentlarning mavjud bo'lgan barcha tabiiy manbalaridan, fermentlarni ko'p miqdorda ishlab chiqarish uchun amaliy qiziqish mikroorganizmlar, ba'zi o'simliklar yoki o'simliklarning va hayvonlarning alohida organlarini muhim miqdordagi fermentlarni to'plashga qodir.

Sabzavot xomashyosi. Fermentlarning manbai to'g'ridan-to'g'ri texnik ferment preparati yoki tozalangan preparatlarni olish uchun xom ashyo sifatida ishlatilishi mumkin bo'lgan donli donalar bo'lishi mumkin. Qovun va fikus lateks, ananas yashil massa sharbati proteinazalar ishlab chiqarish uchun xom ashyo sifatida ishlatiladi.

Hayvonlarning organlari va to'qimalari. Hayvon kelib chiqishi fermentlari intensiv biokimyoviy jarayonlar sodir bo'ladigan organlardan ajratib olinadi.

Ferment preparatlari ishlab chiqarish uchun me'da osti bezi, oshqozon va shilliq pardalar cho'chqalarning shilliq pardalari, qoramol shoxi, sutli buzoqlar va qo'zilarning buyragi, jinsiy etuk hayvonlar moyaklari keng qo'llaniladi. 1-jadvalda hayvonot va o'simlik xom ashyosidan ajratilgan ferment preparatlarining asosiy nomlari keltirilgan.

Mikroorganizmlar. Mikroorganizmlarning fermentlar ishlab chiqaruvchisi sifatida o'simlik va hayvonot ob'ektlariga nisbatan afzalliklari quyidagilardir:

- yuqori mahsuldorlik;
- arzon va arzon substratlardan foydalanish imkoniyati;
- mikroorganizmlarning bir ferment sintezidan boshqasiga o'tish qobiliyati;
- dori vositalarining tijorat shakllarini ishlab chiqarish uchun nisbatan qisqa (16-100 soat) texnologik tsikl;
- ishlatilgan ishlab chiqaruvchilarni gen injeneriyasi usullaridan foydalangan holda takomillashtirish istiqbollari.

Turli taksonomik guruhlariga kiruvchi mikroorganizmlar: bakteriyalar, xamirturushlar, zamburug'lar, aktinomitsetlar biosintezning maqsadli mahsuloti sifatida ma'lum fermentlarni ishlab chiqaruvchisi bo'lishi mumkin.

Jadval 5.

Hayvon va o'simliklardan olingan ferment preparatlari.

| Наименование фермента                                          | Источник получения                        |
|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Лактатдегидрогеназа                                            | Сердце КРС                                |
| Каталаза                                                       | Печень свиней и КРС                       |
| Сычужный фермент                                               | Сычуги молодняка КРС                      |
| Щелочная фосфатаза                                             | Кишечник КРС                              |
| Гиалуронидаза                                                  | Семенники КРС                             |
| Фумараза и трансаминаза                                        | Сердце свиней                             |
| Панкреатин (трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза, эластаза) | Поджелудочная железа свиней               |
| Пепсин                                                         | Желудок свиней, кур                       |
| Аминоацилаза                                                   | Почки свиней                              |
| Амилазы                                                        | Ячмень, солод                             |
| Протеазы: папаин, фицин, бромелаин                             | Дынное дерево<br>Фиговое дерево<br>Ананас |
| Кислая фосфатаза                                               | Картофель                                 |
| Пероксидаза                                                    | Хрен                                      |

Fermentlarning sanoat ishlab chiqaruvchilari sifatida mikroorganizmlarning har ikkala tabiiy shtammlari va super ishlab chiqaruvchi xususiyatlarga ega mutantlardan foydalaniladi. Tabiiy manbalardan ajratilgan va bioreaktor sharoitlariga moslashgan ishlab chiqaruvchilar odatda tuzilishi va ta'sirining o'ziga xosligi o'xshash fermentlar majmuasini ishlab chiqaradilar; bu borada mutant shtammlarning afzalligi monoenzimning xususiyati, ya'ni.

bitta maqsadli mahsulotni maqsadga muvofiq ravishda sintez qilish qobiliyati.

### 9.3. Ferment preparatlari faolligini ifodalash usullari.

Xalqaro biokimyoviy ittifoqning fermentlar komissiyasi fermentlarni tayyorlash uchun quyidagi faoliyat birliklarini tavsiya qildi.

Belgilangan sharoitda ( $30^{\circ}\text{C}$  haroratda, substrat va fermentlar kontsentratsiyasining maqbul qiymatlari, muhitning pH qiymati) ma'lum bir substratning 1 mikromolining konversiyasini katalizatori bo'lgan ferment miqdori standart faoliyat birligi. ). U E yoki U harflari bilan belgilanadi.

Maxsus faollik - bu ferment preparatidagi bir milligramm oqsilga E birliklarining soni.

Molekulyar faollik - substratning optimal konsentratsiyasida bitta ferment molekulasi tomonidan 1 daqiqada konvertatsiya qilingan, berilgan substrat molekulalarining soni yoki reaksiyaga kirishgan guruhlarning ekvivalentlari.

Katalit - ma'lum bir faollikni o'lchash tizimida 1 mol / s tezlik bilan reaksiyani amalga oshirishga qodir bo'lgan katalitik faollik.

Shartli preparatning faolligi. Ferment preparatlari texnologiyasida preparatning massa birligiga tayyorgarlikdagi standart birliklarda asosiy ferment bilan o'lchanadigan faollik sifatida tavsiflangan shartli ferment preparati faolligi tushunchasidan foydalanish odatiy holdir.

Standart shartli dori tarkibidagi asosiy fermentning faolligi ushbu preparatning me'yoriy hujjatlari bilan belgilanadi. Haqiqiy mahsulotni an'anaviy tonnada qayta hisoblash uchun quyidagi formuladan foydalaning:

$$Q_{sl} = Q_{tov} \cdot A_f / A_{usl}.$$

### 9.4. Ferment preparatlarini o'simlik va hayvonot manbalaridan olinadigan xom ashyodan ajratib olish texnologiyasi.

O'simliklar va hayvonlar xomashyosidan ferment preparatlarini ishlab chiqarish texnologiyasi ikkita asosiy bosqichni o'z ichiga oladi: ferment tarkibidagi xom ashyoni yig'ish; maqsadli mahsulotni ajratish va tozalash.

Sanoat sharoitida o'simlik materiallaridan fermentlar tropik va subtropik mamlakatlarda (papain, ficin, bromelain) olinadi. Mo'tadil iqlim sharoitida oziq-ovqat sanoati uchun o'simlik fermentlari unib chiqqan malt shaklida olinadi. Sanoat sharoitida soloddan tozalangan ferment preparatlari ishlab chiqarilmaydi.

Hayvon xom ashyosidan ferment preparatlarini olishning asosiy texnologik sxemasi quyidagi operatsiyalarni o'z ichiga oladi.

Xom ashyo to'plami. Har xil hayvonlarning go'shtini qayta ishlashda, tana go'shtini kesishning birinchi lahzasida fermentativ xom ashyo yig'iladi. Har bir turdagi xom ashyo har bir hayvon turi uchun alohida idishlarda alohida yig'iladi.

Xom ashyoni konservalash. Xom ashyo darhol past harorat yordamida, osh tuzi, aseton, etil spirti bilan ishlov berish yoki quritilgan holda saqlanadi.

Sanoat sharoitida eng keng tarqalgani past haroratni qayta ishlash va hayvonlarning organlari va to'qimalarini muzlatilgan holatda qayta ishlashgacha saqlashdir.

Ezilgan xom ashyoni past haroratlarda aseton yoki etil spirti bilan suvsizlantirish usuli keng qo'llaniladi. Organik erituvchilarga oz miqdordagi (1,5-2,0%) oktan spirtini qo'shish orqali yaxshi ta'sir olinadi, bu lipoid-oqsil komplekslarini to'liq yo'q qilinishini ta'minlaydi, bu esa hayvonlarning to'qimalaridan fermentlarni to'liq chiqarib olishiga yordam beradi. Solvent bilan ishlov berish xom ashyodan asosiy namlikni olib tashlaydi - 80-90%. Suvsizlangan xom ashyo erituvchilar ajratilgandan keyin quritiladi. Ushbu shaklda uni yil davomida har xil darajadagi tozalash preparatlarini olish uchun ishlatish mumkin.

Texnik preparatlarni olish uchun hayvonot xom ashyosini osh tuzi bilan saqlashga ruxsat beriladi. Ushbu usul, masalan, pankreatinni qabul qilishda qo'llaniladi. Quritish yo'li bilan saqlab qolish usuli o'roqlarni yig'ishda qo'llaniladi.

Go'sht kombinatlarida, organopreparatlar uchun maxsus fabrikalarda yig'ilgan hayvonlarning xom ashyosidan har xil tozalash darajasidagi ferment preparatlari olinadi.

Xom ashyoni maydalash. Amaldagi xom ashyo turiga qarab hujayralarni maydalash va yo'q qilishning turli usullari qo'llaniladi.

Hujayra membranalari o'zgaruvchan muzlash va eritish (muzdan tushirish), avtoliz, taninlar, organik erituvchilar bilan ishlov berish, tashqi osmotik bosimni pasaytirish va boshqa usullar bilan boshqarilib vayron bo'lishi mumkin.

Ko'p miqdorda namlikni o'z ichiga olgan hujayra membranalari va to'qimalari mexanik silliqlash yoki presslash yo'li bilan yo'q qilinishi mumkin. Ushbu usul faqat hujayra ichidagi fermentlar uyali tuzilmalar bilan bog'liq bo'lmaganda yaxshi natijalar beradi, ya'ni. erkin holatda.

Shuningdek, ultratovush yordamida hujayra devorlarini yo'q qilish mumkin, ammo esda tutish kerakki, ushbu texnikadan savodsiz foydalanish fermentlarning o'zlarini yo'q qilishga olib kelishi mumkin.

Hozirgi kunda ular ko'pincha go'shtni maydalagichlarda, tepada, to'sarlarda va muzlatilgan xom ashyodan (mikrotomalardan) eng yaxshi bo'laklarni ishlab chiqaradigan mashinalarda mexanik ravishda maydalash bilan shug'ullanmoqdalar.

Fermentlarni ekstrakti. Hayvon to'qimalarida, ayniqsa oshqozon osti bezi tarkibida turli xil eruvchanligi va barqarorligiga ega bo'lgan va bitta texnologik

sxema bo'yicha maydalangan xom ashyodan ajratib olinmaydigan turli xil fermentlar mavjud. Ekstraksiya avtoliz va oqsillarni qaytarib bo'lmaydigan denaturatsiyasini istisno qiladigan sharoitlarda amalga oshirilishi kerak, chunki bu kiruvchi jarayonlar fermentlarga ta'sir qilishi va ularning inaktivatsiyasini keltirib chiqarishi mumkin.

Faqatgina suv bilan olib boriladigan mikroorganizmlarning sirt kulturasidan fermentlarni ajratib olishdan farqli o'laroq, ezilgan hayvon to'qimalaridan fermentlarni ekstraksiyasini ekstraktantlarning uch turi bilan amalga oshirish mumkin: pH qiymati 1,0-2,0 gacha bo'lgan kislotalarning suvli eritmasi. ; pH 7.0-8.0 darajasida suv yoki tuzlarning suvli eritmalari; organik erituvchilarning konsentrlangan suvli eritmasi (etil spirt, metanol, aseton, glitserin).

Ekstrakte qilingan fermentning xususiyatlariga qarab, ferment faolligining minimal yo'qotilishini va uni davolangan to'qimalardan maksimal darajada chiqarilishini ta'minlaydigan u yoki bu ekstraksiya shartlari qabul qilinadi.

Hayvonlarning xomashyosidan fermentlarni ajratib olishda ekstraktantning kislotalashiga tez-tez murojaat qilinadi, bu esa avtolitik jarayonlarning oldini olishga olib keladi. Ba'zi fermentlar avtolitik jarayonlarga befarq va shuning uchun suv-tuz eritmalari bilan osonlikcha ajratib olinadi.

Karboksiptidaza, amilazalar, pankreatopeptidaza, b-elastaza va kollagenaza bilan bir xil fermentlar elektrolitlarning kuchsiz eritmalari, masalan, natriy xlorid bilan olinadi, ammo pH darajasi 3,0 dan past bo'lgan kislotalar eritmasi bilan ekstraksiya qilinganda deyarli darhol inaktivlanadi.

Qattiq fazani ekstraktdan ajratish, ekstraksiyani to'xtatilgan zarralardan iloji boricha to'liq ozod qilish maqsadiga ega. Ko'pincha, ajratish paytida, qayta ishlangan massa isitiladi, bu fermentlarning tez inaktivatsiyasiga olib keladi. Shu munosabat bilan qattiq suspenziyani ajratishda asosiy vazifa jarayonning davomiyligini minimal darajaga tushirish, qayta ishlangan massalarni sovutish yoki qayta ishlangan massani majburiy sovutish bilan ajratuvchi mashinalardan foydalanishdir.

Agar ajralib chiqadigan ferment juda beqaror bo'lsa, unda ko'pincha santrifujlash o'rniga vakuum filtratsiyasi qo'llaniladi yoki ekstrakt oddiygina qattiq suspenziyadan tozalanadi. Ekstraktni ajratish uchun partiyali va doimiy tsentrifugalardan foydalanish mumkin.

Fermentlarni ajratish va tozalash. Hayvon to'qimalarining ekstraktlaridan va mikroorganizmlar madaniyatidan fermentlarni ajratish va tozalash usullari. Organik erituvchilar (etil, metil, izopropil spirtlari, atseton, xloroform, dioksan), tuzlar (ammoniy, natriy yoki magniy sulfati, natriy asetat, natriy xlorid) bilan yog'lash va fraktsiyalash yo'li bilan fermentlarni ajratish mumkin. Olingan ekstraktlarni dializ, ultrafiltratsiya, vakuum bug'lanishi, muzlatish bilan konsentratsiyalash orqali tozalash mumkin.

Tuzsizlantirish. Hayvonlarning to'qimalari va organlaridan olingan ferment preparatlari asosan oziq-ovqat, tibbiyot sanoati va tibbiyot uchun mo'ljallangan. Shuning uchun tuzlar va mikrofloralar tarkibiga nisbatan ularga nisbatan qat'iy talablar qo'yiladi. Agar preparatlar damping usuli bilan olinadigan bo'lsa, unda fermentni tozalash darajasidan qat'i nazar, preparat tarkibida 30 dan 50% gacha tuz mavjud. Dializ va ayniqsa elektrodializ orqali ferment preparatlarini tuzsizlantirish har doim stabilizator ionlar va ferment bilan o'tkazuvchan membranalar orqali erkin bog'langan protez guruhlarini ortiqcha yuvilishi tufayli ijobiy natijalarga olib kelmaydi.

Ko'pincha tibbiy preparatlarni olish uchun tozalash zamonaviyroq usullar bilan qo'llaniladi, masalan ultrafiltratsiya, bu nafaqat ekstraktni tozalashga, balki uni konsentratsiyalashga imkon beradi yoki tozalash jel filtratsiyasi yordamida ion almashinuvchilarda amalga oshiriladi.

Ferment eritmalarini sterilizatsiya qilish. Tibbiy maqsadlar uchun mo'ljallangan ferment preparatlari mikroflorani o'z ichiga olmaydi, ya'ni. steril bo'lishi kerak.

Fermentlar termostabil moddalardir, shuning uchun ularni termal sterilizatsiya qilish mumkin emas. Fermentlarni sterilizatsiya qilish uchun degidratatsiya filtratsiyasi deb nomlanadi, aks holda sovuq sterilizatsiya deyiladi. Filtrlash maxsus nozik teshikli bo'laklar yoki shamlar orqali amalga oshiriladi. Mikroorganizmlar molekulyar tortishish va filtrlash kanallarining ichki devorlariga yopishishi tufayli bu septa tomonidan saqlanib qoladi.

Quruq ferment preparatlarini olish. Dorivor maqsadlar uchun mo'ljallanmagan hayvonlar to'qimalaridan quruq ferment preparatlari mikrobial kelib chiqish preparatlari bilan bir xil tarzda olinadi.

Tibbiy maqsadlar uchun mo'ljallangan preparatlar steril sharoitda quritiladi. Odatda, bu steril ferment eritmasini ampulalarda yoki flakonlarda muzlatib quritish orqali amalga oshiriladi.

Test savollari:

1. Fermentlarning shakli va tuzilishi qanday va ularning nomlari qanday?
2. Fermentativ reaksiyalar kinetikasi qanday aniqlanadi
3. Fermentlarning ta'sir etish mexanizmini aytib bering?
4. Fermentativ faollik qanday o'rganiladi?
5. Fermentlar qanday qilib alohida guruhlarga bo'linadi.

### **3-MAVZU: MIKROORGANIZMALARNING fermentlari**

#### **REJA:**

1. Mikroorganizmlarda fermentlarning sintezi
2. Qattiq va suyuq oziq moddalar muhitida mikroorganizmlarni etishtirish
3. Mikroorganizmlarning fermentlarini ajratib olish.

Kalit so'zlar: mikroskopik zamburug'lar madaniyati, misel massasi, kyuvetalarda yoki bioreaktorda boshlang'ich madaniyatning faollashishi, emlash, suv ostida etishtirish madaniyatni emlash, ishlab chiqarish fermentatsiyasi, sirtni etishtirish

Mikrobial ferment preparatlarini olishning texnologik jarayoni uch bosqichni o'z ichiga oladi:

- ishlab chiqaruvchining ekish madaniyatini olish;
- ishlab chiqaruvchini maqsadli mahsulot yoki fermentatsiya mahsulotlarining maksimal hosildorligini ta'minlaydigan parametrlar bilan chuqur yoki er usti usulida etishtirish;
- texnik yoki tozalangan ferment preparatlarini mikroorganizmlar madaniyati yoki madaniy suyuqlikdan olish.

Urug' olish. Ishlab chiqaruvchining urug 'madaniyatini olishning texnologik sxemasi ko'p jihatdan sanoat fermentatsiyasi usuliga bog'liq.

Ishlab chiqaruvchilarning sirtini o'stirishga asoslangan ferment preparatlarini ishlab chiqarishda asosan mikroskopik zamburug'lar madaniyati ishlatiladi. Bu holda urug'ni ikki turda tayyorlash mumkin:

1 g uchun kamida  $7 \cdot 10^8$  spora titri bo'lgan qattiq ozuqa muhitida etishtirilgan madaniyat;

suyuq oziqlantiruvchi muhitda suv osti usuli bilan o'stirilgan ishlab chiqaruvchining misel massasi.

Urug'lik turidan qat'i nazar, texnologik jarayon quyidagi bosqichlarni o'z ichiga oladi:

- ozuqaviy muhitni tayyorlash;
- atrof-muhitni, uskunalar va kommunikatsiyalarni sterilizatsiya qilish;
- kyuvetalarda yoki bioreaktorda muhitni emlash haroratiga qadar sovutish;
- muhitni asl ishlab chiqaruvchi shtamm bilan ekish; - ma'lum yoshgacha ekinlarni etishtirish; - urug'ni saqlash.

Suv osti usuli bilan ishlab chiqaruvchilarni sanoat usulida etishtirish uchun emlash shuningdek, qo'ziqorinlar va aktinomitsetlar uchun miselyal massa shaklida, bakteriyalar uchun - yosh sporali madaniyat shaklida suv osti usuli bilan tayyorlanadi. Bunday holda quyidagi operatsiyalar ketma-ketligi kuzatiladi:

- asl muhitni agar muhitida faollashtirish;
- tebranadigan stulda kolbalarda suyuq muhitda madaniyatni o'stirish;
- ishlab chiqaruvchini kichkina va agar kerak bo'lsa, katta emlovchida etishtirish.

Sanoat fermentatsiyasi uchun ishlab chiqaruvchining urug'lik dozasi juda xilma-xil bo'lishi mumkin (1-15%). Shunga asoslanib, emlash bosqichlari soni korxona samaradorligi va ishlab chiqaruvchining optimal ekish dozasi bilan belgilanadi.

Aseptik sharoitda mikroskopik zamburug'larni sanoat usulida etishtirish uchun sporali materialning 0,02-0,05% dozasi etarli bo'lsa, aseptik bo'lmagan sharoitda etishtirish ozuqa muhiti massasining 0,2-1,0% ni tashkil qiladi. Miselyal massadan foydalanganda urug 'dozasi 1,5-2,5% gacha oshiriladi.

Ishlab chiqaruvchilarni chuqur etishtirishda urug 'dozasi belgilanadi: sporali material uchun 0,2-1,0%, mikromitsetalarning misel massasi uchun va xamirturush kulturalari uchun - 1,02,5%; aktinomitset va bakteriyalar madaniyati uchun - 5-6%, ayrim hollarda - 15-20% gacha.

Ishlab chiqaruvchini sanoat usulida etishtirish. Texnologik jarayonning ushbu bosqichi ko'pgina biotexnologik sanoat uchun xos bo'lgan asosiy operatsiyalarni o'z ichiga oladi:

- xom ashyoni qabul qilish va tayyorlash;
- sintetik yoki estrodiol tayyorlash
- ozuqa vositalari;
- madaniy vositalarni, eritmalarni, uskunalarni sterilizatsiya qilish;
- maqsadli mahsulotni sintez qilish uchun maqbul bo'lgan harorat, muhit pH qiymati va shamollatish intensivligini o'rnatish;
- ishlab chiqaruvchilar madaniyatini emlash va sanoat fermentatsiyasi.

Oziqlantiruvchi vositalarni tanlashda, ishlab chiqaruvchining o'sishi va maqsadli mahsulotni sintez qilish uchun vosita tarkibining to'liqligi asosiy talablardir; uglerod, azot va minerallarning manbalari sifatida ishlatiladigan xom ashyoning arzonligi va mavjudligi; u yoki bu ferment sintezining o'ziga xos induktorlariga madaniy mikroorganizmlarning ehtiyoji.

Yuzaki ishlov berish uchun ozuqaviy muhit tarkibining xususiyatlari.

Mikromitsetlarni qattiq muhitda sirtidan kultivatsiya qilish uchun ko'p miqdordagi oziqlantiruvchi vositalarning asosini quyidagi tarkibga ega bug'doy kepagi tashkil etadi (%): kraxmal - 16-20; oqsil - 10-12%, yog ' - 3-4; tsellyuloza - 30-40; kul - 2,5-3. Kepek qimmat xom ashyo hisoblanadi, shuning uchun ular qisman achituvchi (masalan, talaş) funktsiyalarini bajaradigan tarkibiy qismlar yoki ozuqaviy moddalarni boyituvchi vositalar (solod unib chiqishi, donli don ekinlari qobig'i, lavlagi pulpasi, kartoshka pulpasi, mevalarning pomasi bilan almashtiriladi. va mevalar).

Kulturaning fermentlar (bioschrot) ekstraksiyasidan so'ng erimaydigan qoldig'i, uni kraxmal va boshqa o'sish moddalari bilan boyitish sharti bilan, ozuqa muhiti asosi sifatida ishlatilishi mumkin.

Kraxmal tarkibida (16-20%) sirt ekish vositalari standartlangan.

Jadval 6.

Sirt usuli bilan fermentlarni ishlab chiqaruvchilarni sanoat usulida etishtirish misollari.

| Фермент | Продуцент | Состав среды | Параметры ферментации |
|---------|-----------|--------------|-----------------------|
|---------|-----------|--------------|-----------------------|

|                          |                                                                                                |                                                                                                                                                                                                       |                                                                                           |
|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| α-амилаза                | <i>Aspergillus oryzae</i><br><i>Aspergillus awamori</i><br><i>Aspergillus niger</i>            | Пшеничные отруби с добавлением до 25% солодовых ростков; влажность среды (40-50) %                                                                                                                    | t = (40-45) °C<br>τ = (36-48) час. pH <sub>нач.</sub> = 4,0-5,0                           |
| пектолитические ферменты | <i>Aspergillus awamori</i><br><i>Aspergillus foetidus</i>                                      | Жом свекловичный (6670%), отруби (30-35%), добавки (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NH <sub>4</sub> Cl, (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ; влажность среды (55-60) % | t = 30 °C<br>первые 40 час., затем 24 °C<br>τ = (36-48) час. pH <sub>нач.</sub> = 4,0-5,0 |
| целлюлазы                | <i>Trichoderma reesei</i><br><i>Trichoderma lignorum</i><br><i>Trichoderma longibrachiatum</i> | Пшеничные отруби (60-80%), солодовые ростки (20%), добавки свекловичного жома; лузги зерновых; соломы и др.; влажность среды (60-65) %                                                                | t = (35-40) °C<br>τ = (55-65) час. pH <sub>нач.</sub> = 4,0-4,5                           |
| гемицеллюлазы            | <i>Aspergillus foetidus</i><br><i>Trichoderma roseum</i>                                       | Зерновая шелуха (45%), солодовые                                                                                                                                                                      | t = (23-25) °C<br>τ = (50-65) час.                                                        |
|                          |                                                                                                | ростки (45%), дрожжевой автолизат (10%);                                                                                                                                                              | pH <sub>нач.</sub> = 5,0-5,5                                                              |

|            |                                                                                  |                                                                                                  |                                                                            |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
|            |                                                                                  | влажность<br>среды<br>(55-60) %                                                                  |                                                                            |
| протеиназы | <i>Aspergillus oryzae</i><br><i>Aspergillus flavus</i><br><i>Rhizopus oryzae</i> | Пшеничные отруби с добавлением до солодовых ростков, соевой муки и др.; влажность среды (62-65)% | t = (40-45)<br>°C $\square$ = (36-48)<br>час. pH <sub>нач.</sub> = 5,6-6,2 |

Chuqur etishtirish uchun ozuqaviy muhit tarkibining xususiyatlari.

Ishlab chiqaruvchilarni chuqur etishtirish uchun ozuqa vositalarini to'plashda o'simlik xom ashyosining gidrolizatlari, alkogolli o'roq, qand lavlagi pekmezi va gidrol (ishlab chiqaruvchining o'sishi uchun eruvchan moddalarning optimal tarkibiga suyultiriladi) va zardob asos bo'ladi.

Jadval 7.

Suv ostida etishtirish orqali ishlab chiqaruvchilarni sanoat usulida etishtirishga misollar.

| Фермент            | Продуцент                | Состав<br>среды                                                                                                                                                    | Параметры<br>ферментации                            |
|--------------------|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| $\square$ -амилаза | <i>Bacillus subtilis</i> | 2%-й раствор крахмала с добавками (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , KCl, MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O, CaCl <sub>2</sub> , 5%-го щелочног | t = (50-55) °C $\square$ = (48-60) час.<br>pH = 7,2 |

|                       |                                         |                                                                                                                                                                                                                               |                                                      |
|-----------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
|                       |                                         | о экстракта<br>соевых<br>бобов                                                                                                                                                                                                |                                                      |
| полигалактуро<br>наза | <i>Zygo fabos<br/>pora<br/>marxiana</i> | Молочна<br>я сыворотка<br>(2%),                                                                                                                                                                                               | t = (30-<br>34) °C                                   |
|                       |                                         | добавки<br>(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO<br>4, MgSO <sub>4</sub><br>* 7H <sub>2</sub> O,<br>NaCl,<br>KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ,<br>K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *<br>3H <sub>2</sub> O                         | □ = (80-<br>96) час. pH<br>= 3,3-3,5                 |
| целлюлаза             | <i>Trichoder<br/>ma reesei</i>          | Крахмал<br>(1,5%),<br>отруби<br>(1,25%),<br>20%-йр-р<br>NH <sub>4</sub> OH<br>(0,6%),<br>добавк<br>и<br>(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO<br>4, K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ,<br>MgSO <sub>4</sub> ,<br>CaCl <sub>2</sub> | t = (35-<br>40) °C<br>□ = 96<br>час. pH =<br>4,0-4,5 |

|        |                        |                                                                                                                                                                                                                                   |                                                 |
|--------|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| липаза | <i>Rhizopus oryzae</i> | Крахмал (4%),<br>добавки<br>соевой муки,<br>дрожжевого<br>автолизата,<br>MgSO <sub>4</sub> ,<br>кормовых<br>дрожжей на<br>основе<br>биомассы<br><i>Candida guilliermondii</i><br>(с<br>повышенны<br>м<br>содержанием<br>липидов). | t = (27-30) °C □ = (48-50) час.<br>pH = 5,0-6,0 |
|--------|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|

Oziqlantiruvchi vositalarga uglerod va boshqa ozuqaviy moddalarning oz eruvchan manbalari qo'shilishi mumkin, ammo ularning miqdori yuqori bo'lganligi muhitning yopishqoqligi oshishiga olib keladi, bu esa o'z navbatida erigan moddalar va kislorodning tarqalishini qiyinlashtiradi va ajralib chiqishini kamaytiradi. fermentatsiya oxirida tizim.

Lipit tabiatidagi moddalar (yog 'kislotalari, fosfolipidlar va boshqalar) uglerod manbai sifatida suyuq oziq moddalar muhiti tarkibiga birinchi navbatda lipaz biosintezi jarayonlarida kiritilishi mumkin.

Kaliy va natriy nitratlari azot manbalari sifatida ishlatiladi; ammiak tuzlari (turli darajadagi o'rnini bosadigan fosfatlar, nitratlar, xloridlar, sulfatlar, ajralgan sitrat) va ammiak suvlari; karbamid; aminokislotalar va peptidlar. Bundan tashqari, turli darajadagi o'rnini bosadigan kaliy va natriy fosfatlar fosfor manbalari sifatida muhitga qo'shilishi mumkin. Bir qator ishlab chiqaruvchilar ozuqa muhitida B guruhi vitaminlari (biotin, inositol, pantotenik kislota, tiamin, piridoksin) mavjudligini talab qiladi.

Misr ekstrakti, soya va makkajo'xori uni, xamirturush gidrolizatlar va avtolizatlar fermentativ sohalarda ozuqa moddalarini boyitish vositasi sifatida ishlatiladi.

Oziqlantiruvchi muhit tarkibidagi quruq moddalar miqdori, ishlab chiqaruvchi turiga va maqsadli mahsulot sintezining biokimyoviy xususiyatlariga qarab, 2,5 dan 20% gacha o'zgarib turadi.

Ferment preparatlari ishlab chiqaruvchilarini chuqur va yuzaki usullar bilan sanoat usulida etishtirish misollari qo'llanmada keltirilgan: Gracheva I.M., Krivova A.Yu., 2000.

Nazorat savollari:

1. Mikroorganizmlarda qanday fermentlar sintezlanadi?
2. Qattiq va suyuq ozuqa moddalarida mikroorganizmlarni etishtirish qanday amalga oshiriladi?
3. Mikroorganizmlarning fermentlarini qanday ajratish mumkin?

#### 4-MAVZU: FERMENTLAR VA FERMENTLARNI TAYYORLASH TEXNOLOGIYASI

Reja

1. Ferment ishlab chiqaruvchilarini etishtirish, fermentlar ishlab chiqaruvchilarining o'sishiga ta'sir qiluvchi usullar, omillar
2. Mikroorganizmlardan fermentativ preparatlarni ajratish usullari.
3. Membranalar yordamida enzimatik eritmalarini tozalash.
4. Fermentlarni olish texnologiyasi
5. Ferment preparatlari assortimenti.

**Kalit so'z** bilan izlash: chuqur madaniyat, konsentrlangan ekstraktlarning madaniy suyuqligini tozalash, madaniy suyuqliklarning qalinlashishi, organik erituvchilar bilan cho'kish, eksfoliatsiya, kromatografiya, ligandoobmen kromatografiya, ion almashinuvi adsorbsiyasi, afin adsorbsion kromatografiya, ligandoobmennaya kromatografiya

Ferment preparatlarini tozalash sxematik diagrammasi ishlab chiqaruvchini sanoat usulida etishtirish usuli, fermentni biosintez jarayonida lokalizatsiyasi va kerakli tozalash darajasi bilan aniqlanadi.

Xom fermentlar preparatlarini olish.

Xom fermentlar preparatlari - bu qoldiq namlik miqdori 8-12% gacha quritilgan madaniy suyuqlik qoldiqlari bo'lgan mikroorganizm madaniyati. Xom preparatni ishlab chiqaruvchining yuzasi yoki suv osti madaniyati asosida olish mumkin. Suv osti madaniyati qattiq erimaydigan fraktsiyadan tozalanishi yoki u bilan birga quritilishi mumkin. Mikroorganizmlarning madaniyatini quritish kamar, tunnel, baraban,

tebranish quritgichlari. Quritiladigan materialning harorati 40-45 ° C dan oshmasligi kerak (quritish kamerasiga kiraverishda havo harorati 80-85 ° S).

Kulturali suyuqlikni qattiq suspenziyalardan tozalash. Ko'pgina ishlab chiqaruvchilar sintez qilingan fermentlarning ko'p qismini ozuqaviy muhitda to'plashadi, shuning uchun tozalashning birinchi bosqichi ishlab chiqaruvchi biomassa va to'xtatilgan zarralarni ajratishdir. Tozalash turli xil konstruktsiyalardagi filtrlarda (baraban, filtr presslari) yoki markazlashtiruvchi usulda separator-klarifikatorlarda, baktofugalarda amalga oshiriladi.

Er usti madaniyatidan fermentlarni ajratib olish. Fermentlar suvda eriydigan oqsillar bo'lgani uchun, ko'p hollarda suv ekstraksiyasidan foydalaniladi. Fizik-kimyoviy va biokimyoviy nuqtai nazardan, oqsil moddalarini qattiq-fazali

ekstraksiya qilishning optimal sharoitlariga 35-40 ° S haroratda erishiladi, shu bilan birga sanoatdagi fermentlarning suvli ekstraktlarida mikroflora rivojlanishiga yo'l qo'yilmaydi. sharoitida, ekstraksiya jarayoni 22-25 ° S haroratda amalga oshiriladi.

Qattiq fazali fermentlarning minimal yo'qotilishi bilan konsentrlangan ekstraktlarni olish uchun suyuq ekstraksiyani quruq moddalarning 7-14 foizigacha konsentratsiyalashga imkon beradigan maxsus ekstraksiya bo'linmalari (diffuzion akkumulyatorlar, doimiy vintli ekstraktorlar) ishlatiladi.

Vakuumli bug'lanish orqali mahalliy ferment eritmalarining konsentratsiyasi. Kultivatsion suyuqliklarning va suvli ekstraktlarning qalinlashishi yuqori konsentratsiyali eritmalar shaklida ferment preparatlarining tayyor shakllarini olishda, har xil usullar bilan quritish uchun eritmalar tayyorlashda, shuningdek izolyatsiya paytida to'yingan to'yingan eritmalar olishda amalga oshiriladi.

fermentlarning kristall shakllari.

Vakuumli bug'lanish paytida mahsulot harorati 35-40 ° C dan oshmasligi kerak. Ferment eritmalarini konsentratsiyalash uchun mahsulotning ingichka qatlamida (plyonka, plastinka apparati) intensiv issiqlik va massa o'tkazuvchanligi bo'lgan vakuumli evaporatorlar qo'llaniladi. Ushbu ishlov berish rejimi bug'langan mahsulotning issiqlik tashuvchisi bilan minimal aloqa vaqtini ta'minlaydi.

Ferment eritmalarini qayta ishlashning membranali usullari.

Kichik miqdordagi ishlov berishda fermentlar eritmalarini past molekulyar og'irlikdagi aralashmalardan tozalash uchun diyaliz usuli (oqim o'tkazuvchi dializatorlar), chuqur tuzsizlantirish uchun elektrodializ keng ko'lamli ishlab chiqarishda qo'llaniladi. Bir vaqtning o'zida aralashmalardan chuqur tozalash bilan konsentratsiya ultrafiltratsiya orqali amalga oshiriladi. Mahalliy ferment eritmalarini sterilizatsiya qilish uchun mikrofiltratsiya usuli qo'llaniladi.

Eritmalardan fermentlarni cho'ktirish quyidagi usullar bilan amalga oshiriladi:

organik erituvchilar bilan yog'ingarchilik;

- tuzlash;

- organik polimerlar bilan yog'ingarchilik (polietilen glikol, dekstrans);

- isitishda, muhit pH qiymatini o'zgartirganda va organik erituvchilar ta'sirida balast oqsillarini selektiv denaturatsiya bilan ferment eritmalarini fraktsiyalash.

Balast oqsillaridan fermentlarni adsorbsion usul bilan fraktsiyalash va tozalash yuqori darajada tozalangan preparatlar va bir hil fermentlarni olish uchun ishlatiladi. Ion almashinuvi adsorbsiyasi, afinitiv adsorbsion xromatografiya, ligand almashinish xromatografiyasi (xelatlangan ionlar bilan o'zaro ta'sir), immuno adsorbsiya, jelni filtrlash usullari turli sharoitlarda amalga oshirilishi mumkin.

Mikroorganizmlarning suv osti madaniyatlaridan olinadigan quruq ferment preparatlarini olish. Ferment preparatlarining quruq shakllari suyultirilgan yoki konsentrlangan madaniy suyuqliklardan olinadi, fermentlar yog'inlari paytida hosil bo'lgan xamir massasi. Suyultirilgan va konsentrlangan eritmalarini quritish uchun muzqaymoq bilan quritish va buzadigan amallar bilan quritish jarayonlari qo'llaniladi; pasta massalari vakuumli quritish pechlarida quritiladi.

Ferment preparatlarini standartlashtirish. Texnologik hisob-kitoblar va me'yoriy hujjatlarda fermentlar preparatlarining tayyor shakllarining aksariyati uchun o'rtacha faollik darajasi belgilanadi, bu standart ferment preparati faolligidan 20-30 foizga oshadi. To'ldiruvchi sifatida kraxmal, natriy va kaliy xloridlar, jelatin, diatomit, bentonit ishlatiladi. To'ldiruvchi bir vaqtning o'zida fermentlarni tayyorlash uchun stabilizator vazifasini bajarishi mumkin, masalan, suv bilan bog'lanish qobiliyati yuqori. Standartlashtirish nafaqat quruq preparatlar uchun, balki suyultirilgan yoki konsentrlangan eritmalar uchun ham amalga oshirilishi mumkin.

## **7-MAVZU: MEVA-SABZAVOT MAHSULOTLARINI QAYTA ISHLASH TEXNOLOGIYALARIDA FERMENTLARNI QO'LLASH**

### **Reja**

1. Asparaginaz, uni qo'llash.
2. Pivo, sharob spirtli ichimliklar va meva-sabzavot mahsulotlari ishlab chiqarishda ishlatiladigan fermentlar

**Kalit so'zlar:** asparaginaz, pektin fermentlari, pivo ishlab chiqarish, mikroorganizmlarning sharbatlarini ishlab chiqarish, mikroorganizmlarda metabolizmada fermentlarning o'rni, fermentlarni tasniflash.

Pektin fermentlar. Pektin fermentlar keng sharbatlari ishlab chiqarishda ishlatiladi. Pektin (qora smorodina, Bektoshi uzumni, olxo'ri) yuqori kontent bilan xarakterlanadi meva va rezavorlar sharbatlari ishlab chiqarishda pektin ayniqsa samarali foydalanish. Meva va sabzavotlarni dastlabki qayta ishlashdan so'ng ortiqcha yopishqoq va loyqa sharbatlar olinadi. Bu, birinchi navbatda, pektinlarning yuqori miqdori bilan bog'liq. Pektin bir heteropolisakkaritlere, galacturonic kislota lotin bor. Pektin fermentlar shunday qilib, uning depolimerizasyonu ta'minlash, glikozid pektin rishtalarini bo'lindi. Nazorat ostida enzimatik gidroliz kerakli akışkanlıkla mahsulotni olish imkonini beradi. Pektin fermentlarni qo'llash yana bir muhim maydoni vinochilik hisoblanadi. Bu fermentlarni ezilgan uzumlarga qo'shish sharbat chiqarilishining oshishiga olib keladi, bo'yoqlarni qobiqdan yanada samarali ekstrakte qilishga yordam beradi va filtrlash va siqish jarayonlarini osonlashtiradi. Fermentlarni qayta ishlash allaqachon fermentlangan uzum sharbatlari sharobni xamirturush va cho'kindilardan ajratish jarayonini tezlashtiradi, tayyor sharobning shaffofligi va barqarorligini oshiradi. SSSRda sanoat miqyosida "Avomorin PPK" va "Pektavomorin P10h" pektolitik preparatlar ishlab chiqarildi.

### **Nazorat savollari:**

1. Asparaginaz fermenti va uning qo'llanilishi nimadan iborat.
2. Pivo, spirtli ichimliklar va meva-sabzavot mahsulotlarini ishlab chiqarishda qanday fermentlar ishlatiladi ?

## **8-MAVZU: GLYUKOZA - FRUKTOZA SIROPI ISHLAB CHIQARISH FERMENTLAR FOYDALANISH**

### **Reja**

1. Qiyomlar va ichimliklar ishlab chiqarishda ishlatiladigan fermentlar ta'rifi.
2. Immobilizatsiyalangan fermentlar asosida shakar mahsulotlarini ishlab chiqarish.

**Kalit so'zlar:** fruktoza, glyukoza-fruktoza aralashmasi glyukoza-meraza immobilizatsiyalangan "curvilucose" glyukoizoizomerazasi, glyukoza-fruktoza yarim faollashtiruvchi katalizator ishlab chiqarish

### **Glyukoza-fruktoza siropi olish**

Oziq-ovqat texnologiyalarida fermentlar asosan oziq-ovqat xom ashyosida mavjud bo'lib, ular inson tanasiga yangi meva va sabzavotlar, yong'oq, sut, fermentlar va konservalarni iste'mol qilishda kiradi. Oziq-ovqatlarda ozgina fermentlar mavjud - har bir kilogramm mahsulot uchun milligramm. Ovqatni pazandalik va texnologik qayta ishlash jarayonida fermentlar odatda inaktivlanadi.

Qandolat sanoatida sukrozni glyukoza va fruktozaga aylantiradigan xamirturush invertazasi ishlatiladi, sukrozning yuqori konsentratsiyasida kristallanishiga yo'l qo'ymaydi.

Qaynatishda amilazalar solod o'rnini bosadi. Ushbu fermentlar pekmez va eruvchan kraxmal ishlab chiqarishda ham qo'llaniladi. Pishirishda amilazalar xamirning pishishini 30% ga tezlashtiradi, nonning sifatini yaxshilaydi, qotib qolish jarayonini oldini oladi.

Sutni qayta ishlashda fermentlar bir nechta texnologik jarayonlarda qo'llaniladi. Pishloq ishlab chiqarishda asosiy bosqichlardan biri bu rennin yordamida amalga oshiriladigan sutning ivishidir.

Tsellyuloza eriydigan qahvani tayyorlashda, shuningdek tsitrus mevalarni qayta ishlashda ishlatiladi. Kislota lipazasi novvoyxonada ishlatiladi; u nonning qattiqlashishini oldini oladigan monogliseridlar hosil bo'lishini katalizlaydi.

Fermentlar tabiatning oqsillari hisoblanadi va shuning uchun ularni saqlash vaqtida beqaror, shuningdek issiqlikka sezgir.

Bundan tashqari, fermentlarni reaktivlar va reaksiya mahsulotlaridan ajratish qiyinligi sababli ularni qayta ishlatish mumkin emas. Immobilizatsiya qilingan fermentlarni yaratish bu muammolarni hal qilishga yordam beradi. Fermentlarni erimaydigan tashuvchilar bilan bog'lash orqali immobilizatsiya qilish, shuningdek eruvchan polimer bilan bog'lash mumkin. Immobilizatsiya qilingan fermentlarni olish uchun fizik-kimyoviy va iqtisodiy xususiyatlarni o'z ichiga olgan ma'lum talablar qo'yiladigan organik va noorganik tashuvchilar qo'llaniladi. Fermentlarni immobilizatsiya qilish uchun tabiiy polisakkaridlar va polimetil tipidagi sintetik tashuvchilar eng ko'p qo'llaniladi.

Immobilizatsiya qilingan fermentlarning mahalliy prekursorlardan afzalliklari:

1. Geterogen katalizator reaksiya muhitidan osongina ajralib turadi, bu esa har qanday vaqtda reaksiyani to'xtatishga, fermentni qayta ishlatishga va fermentdan toza mahsulot olishga imkon beradi.

2. Immobilizatsiya qilingan fermentlardan foydalangan holda fermentativ jarayon katalizlangan reaksiya tezligini va mahsulot rentabelligini sozlash orqali doimiy ravishda amalga oshirilishi mumkin.

4. Fermentning modifikatsiyasi uning xususiyatlarini ataylab o'zgartiradi, masalan o'ziga xoslik (ayniqsa, makromolekulyar substratga nisbatan), katalitik faollikning pH, ion tarkibi va muhitning boshqa parametrlariga bog'liqligi, denaturing ta'siriga barqarorligi.

5. Immobilizatsiya qilingan fermentlarning katalitik faolligini yorug'lik va tovush kabi fizik omillar ta'sirida tashuvchining xususiyatlarini o'zgartirish orqali tartibga solish mumkin.

Immobilizatsiya qilingan fermentlardan foydalangan holda sanoat jarayonlari birinchi navbatda oziq-ovqat va farmatsevtika sanoatida joriy qilingan. Oziq-ovqat sanoatida immobilizatsiya qilingan fermentlar ishtirokida glyukoza, olma va aspartik kislotalar, optik faol L-aminokislotalar, parhez laktozasiz sut, zardobdan shakar va boshqalarni ishlab chiqarish bo'yicha keng ko'lamli jarayonlar olib borilmoqda.

Tsellyuloza tashuvchisida immobilizatsiya qilingan glyukoza izomerazasi tarkibida fruktoza miqdori ustun bo'lgan glyukoza-fruktoza siroplarini olish uchun ishlatiladi.

Katta miqyosda ishlab chiqarish - bu oqim orqali aralashtirilgan reaktorlarda immobilizatsiya qilingan amiloglukozidaza yordamida kraxmaldan glyukoza ishlab chiqarish.

Pivoni tozalash uchun proteinazlar, xususan, xitin ustida immobilizatsiya qilingan papain ishlatiladi.

Pishloq ishlab chiqarish jarayonining narxini pasaytirish uchun bir qator hollarda erimaydigan tashuvchilarda immobilizatsiya qilingan bakterial reninlar qo'llaniladi.

Pishloq ishlab chiqarishdagi chiqindi mahsulot - bu laktoza miqdori ko'p bo'lgan zardob. Ikkinchisida katta miqdordagi ozuqaviy ahamiyatga ega bo'lgan galaktoza va glyukoza mavjud. Biroq, eriydigan laktaza yordamida laktozadan glyukoza ishlab chiqarish texnologik jihatdan rivojlanmagan, shuning uchun atsetillangan tsellyuloza ustida immobilizatsiya qilingan laktaza yordamida laktozani gidroliz qilish usuli ishlab chiqilgan. Sutni barqarorlashtirish uchun u proteinazlar bilan davolanadi. Shunday qilib, immobilizatsiya qilingan tripsin bilan ishlangan sut oksidlanishga kam ta'sir qiladi va ikki hafta davomida o'z ta'mini yo'qotmaydi.

Immobilizatsiya qilingan fermentlarning sanoatda qo'llanilishi muhandislik enzimologiyasi deb ataladi. Misollar xalq xo'jaligining turli sohalarida muhandislik enzimologiyasining ulkan imkoniyatlaridan dalolat beradi. Masalan, magnit aralashtirgichga biriktirilgan immobilizatsiya qilingan b-galaktozidaza irsiy laktoza intoleransi bo'lgan odamlar iste'mol qilishi mumkin bo'lgan parhez sut mahsulotini ishlab chiqaradi. Shu tarzda qayta ishlangan sut ham uzoq vaqt muzlatilgan holda saqlanadi va qalinlashishga tobe bo'lmaydi

Hozirgi vaqtda rekombinant fermentlarni ishlab chiqaruvchi genetik modifikatsiyalangan mikroorganizmlarning sanoat ishlab chiqarishi yo'lga qo'yilgan. Masalan, ökaryotik organizmdan ajratilgan ximosin fermentini ishlab chiqarishga mas'ul bo'lgan gen, bu fermentning ishlab chiqaruvchisi bo'lgan Escherihia coli bakteriyasining genomiga kiritiladi. Bacillus subtilus bakteriyalari pivo ishlab chiqarish, alkogol va vino sanoatida ishlatiladigan asetolaktat dekarboksilaza rekombinant fermenti ishlab chiqaruvchilari sifatida ishlatiladi.

Rekombinant fermentlar yuqori tozaligiga ega, bu oziq-ovqat texnologiyasida alohida ahamiyatga ega. Masalan, pishirish jarayonida proteaz faolligidan xoli amilazalardan foydalanish xamirning reologik xususiyatlarini yaxshilashga imkon beradi, chunki kleykovina oqsillarining tuzilishi buzilmaydi.

Jadval 8-da fermentlarni texnologik usulda ishlatadigan oziq-ovqat mahsulotlarini qayta ishlash sanoatining namunalari ko'rsatilgan

jarayonlar

Jadval 8.

Oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarishning turli sohalarida fermentlardan foydalanishning texnologik maqsadlari



| Отрасль                      | Этапы технологически» процессов и технологические цели применения ферментов                                                                                                   |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Технология переработки зерна | Повышение выхода муки и круп, улучшение качества клейковины, производство модифицированной муки зернобобовых                                                                  |
| Хлебопечение                 | Сокращение расхода муки, улучшение теста, замедление черствления изделий, улучшение цвета корочки, производство охлажденного и замороженного теста                            |
| Пивоварение                  | Использование неосоложенного сырья, разжижение, усиление ферментируемое™, улучшение фильтрации, контроль содержания азота, получение низкокалорийного пива, стабилизация пива |

|                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                 |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Технология молочных продуктов                                        | Коагуляция молока, замена сычужного фермента в производстве сыра, модификация молочного белка, создание сырного аромата, получение ферментативно модифицированных сыров, удаление перекиси водорода, получение молочного сахара |
| Производство вина, фруктовых соков, газированных напитков, консервов | Осветление, мацерация сырья, удаление крахмала из сока, увеличение выхода, получение сладких ликеров, стабилизация вин и соков, производство соков с мякотью и пюре                                                             |
| Переработка крахмала                                                 | Увеличение выхода, модификация крахмала, разжижение, осахаривание, получение глюкозо-фруктовых и зерновых сиропов                                                                                                               |
| Спиртовая промышленность                                             | Конверсия сырья, разжижение крахмала, осахаривание, улучшение роста дрожжей, увеличение выхода спирта                                                                                                                           |
| Производство кофе                                                    | Сепарация зерен, контроль вязкости экстрактов, улучшение вкуса и аромата                                                                                                                                                        |
| Производство белков                                                  | Гидролиз белков и полисахаридов, снижение вязкости, производство модифицированных пептидов и белков                                                                                                                             |
| Производство сахара                                                  | Удаление крахмала, белков и полисахаридов                                                                                                                                                                                       |
| Производство ароматизаторов                                          | Синтез тонких ароматов, получение натуральных ароматических эфиров и т. д.                                                                                                                                                      |
| Производство масел и жиров                                           | Увеличение выхода, модификация жиров, экстракция масла, получение биологически активных веществ (лецитина, токоферолов, каротинов и др.)                                                                                        |
| Технология мясопродуктов                                             | Увеличение выхода, тендеризация мяса, получение мясных экстрактов, текстуризация белков, продление сроков хранения                                                                                                              |

|                                      |                                                                                                                   |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Производство растительных экстрактов | Увеличение экстрактивности, сокращение длительности экстракции, улучшение фильтрации, повышение выхода пигментов, |
|                                      | производство чая и чайных экстрактов, сокращение времени экстракции, усиление аромата и цвета                     |
| Производство пектина                 | Упрощение технологии, увеличение выхода, регулирование степени этерификации                                       |

Fermentlarni modifikatsiyalashning zamonaviy usullari fermentlarning turli xil kimyoviy reagentlar va inhibitorlar ta'siriga, pH qiymatiga, harorat ta'siriga chidamliligini oshirishga imkon beradi; fermentlarning pH optimalligini, ularning substratning o'ziga xosligini va bog'lanish xususiyatlarini o'zgartirish; ba'zi kofaktorlar uchun imtiyozlarni tartibga solish va shu bilan fermentlarning katalitik xususiyatlarini o'zgartirish.

Oziq-ovqat sanoatida fermentlardan foydalanish uchun yangi imkoniyatlarni izlash davom etmoqda. Tadqiqotning asosiy yo'nalishlari:

- individual fermentlarning xususiyatlarini ularning faolligini oshirish va maqsadli mahsulotlar tannarxini pasaytirish maqsadida o'zgartirish;
- fermentlarni ishlab chiqaruvchi yangi mikroorganizmlarni skrining;
- kerakli xususiyatlarga ega bo'lgan yangi rekombinant fermentlarni olish;
- qimmatbaho oziq-ovqat tarkibiy qismlari va biologik faol moddalarni olish uchun fermentativ reaksiyalardan foydalanish;
- fermentlar yordamida oziq-ovqat nanotexnologiyasini ishlab chiqish.

Jadval 9-da ko'pincha sanoat maqsadlarida ishlatiladigan turli xil sinflarning fermentlari, ularning manbalari va qo'llanilishi ko'rsatilgan. Taqdim etilgan ma'lumotlar shuni ko'rsatadiki, gidrolitik reaksiyalarni katalizlovchi ferment preparatlari, ayniqsa glikolitik va proteolitik fermentlar turli sohalarda eng talabga ega.

Bozor ehtiyojlarining o'sib borishi, mahsulot turlarini kengaytirish va texnologik jarayonlarni takomillashtirish zarurati amaliy enzimologiyani rivojlanishiga turtki beradi. Zamonaviy texnologiyalarda nafaqat bo'linish jarayonlarini tezlashtiradigan, balki majburiy ta'sirga ega fermentlar ham tobora ko'proq foydalanilmoqda. Yorqin misol - transglutaminaza fermenti bo'lib, u oqsillarda izopeptid bog'lanishini hosil bo'lishini katalizlaydi, ishlab chiqarish va ulardan foydalanish so'nggi yillarda o'n baravar oshdi.

Jadval 9.

Eng ko'p ishlatiladigan fermentlarning manbalari va qo'llanilishi.

| Фермент           | Источник<br>или тип                                                                                                                                                  | Применение                                                                                                                                                          |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Гидролазы</b>  |                                                                                                                                                                      | Моющие средства для стирки и мытья посуды;<br>промышленные средства для очистки труб и емкостей;<br>производство текстиля, пульпы и бумаги,<br>производство этанола |
| $\alpha$ -амилаза | Бактериальная $\alpha$ -амилаза (напр., <i>Bacillus subtilis</i> ),<br>грибковая $\alpha$ -амилаза (напр., <i>Aspergillus niger</i> ),<br>щелочная $\alpha$ -амилаза | Производство текстиля, крахмальных сиропов, средств для стирки и мытья посуды, ферментативного этанола, кормов для животных; расщепление бумаги                     |
| $\beta$ -амилаза  | Синтезируется штаммами вида <i>Bacillus</i>                                                                                                                          | Пивоварение; производство мальтозного сиропа, целлюлазных детергентов для                                                                                           |
|                   |                                                                                                                                                                      | мытья посуды, кормов, текстиля;<br>производство биоэнергии                                                                                                          |

|                                            |                                                                                                      |                                                                                                                      |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\beta$ -глюканаза                         | экзо- $\beta$ -<br>1,4глюканаза,<br>эндо $\beta$ -1,4-<br>глюканаза                                  | Пивоварение                                                                                                          |
| $\beta$ -глюкозидаза                       |                                                                                                      | Трансформирует<br>изофлавоновые<br>фитоэстрогены<br>соевого молока                                                   |
| Декстраназа                                | Производится<br>различными<br>микроорганизма<br>ми (напр.,<br><i>Leuconostoc<br/>mesenteriodes</i> ) | Гидролизует<br>полисахарид<br>декстран                                                                               |
| Декстриназа                                |                                                                                                      | Расщепляет<br>декстрин на две<br>молекулы<br>глюкозы                                                                 |
| $\alpha$ -галактозидаза                    |                                                                                                      | Повышает<br>эффективность<br>производства<br>сахарозы; может<br>использоваться<br>при переработке<br>сахарной свеклы |
| Глюкоамилаза                               | <i>Aspergillus<br/>niger,</i><br><i>Rhizopus,</i><br><i>Endomyces</i>                                | Производство<br>мальтозного<br>сиропа и сиропа<br>с высоким<br>содержанием<br>фруктозы                               |
| Гемицеллюлаза<br>Пентозаназа/Ксилан<br>аза | <i>Thermomyces<br/>lanuginosus,</i><br><i>Penicillium<br/>simplicissimum</i>                         | Хлебопечение<br>, производство<br>соков, обработка                                                                   |
|                                            |                                                                                                      | древесной<br>пульпы                                                                                                  |

|             |                                                                                                  |                                                                                                                                                                        |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Инвертаза   |                                                                                                  | Производство инвертного сиропа из тростникового и свекловичного сахара                                                                                                 |
| Лактаза     | <i>Kluyveromyces lactis</i> ,<br><i>Asperigillus oryzae</i> , <i>Bacillus</i>                    | Удаляет лактозу из молочных продуктов                                                                                                                                  |
| Нарингиназа |                                                                                                  | Устраняет горечь кожуры цитрусовых                                                                                                                                     |
| Пектиназа   |                                                                                                  | Переработка фруктов                                                                                                                                                    |
| Пуллуланаза | <i>Klebsiella aerogenes</i> ,<br><i>Bacillus acidipullulyticus</i> ,<br><i>Bacillus subtilis</i> | Снижает скорость очерствения выпечки                                                                                                                                   |
| Протеазы    |                                                                                                  | Пивоварение, хлебопечение, переработка белков; производство спиртаректификата, стиральных и моющих средств, жидкостей для очистки линз, химикатов; выделка кожи и меха |

|                                                                                                                                 |                                                                                                     |                                                                                                |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Кислая протеаза                                                                                                                 | <i>Endothia parasitica</i> ,<br><i>Rhizopus</i> ,<br><i>Aspergillus niger</i> ,<br><i>A. oryzae</i> | Хлебопечение<br>– облегчает<br>работу с тестом                                                 |
| Щелочная протеаза                                                                                                               | <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>                                            | Производство<br>детергентов,<br>выделка кожи и<br>меха                                         |
| Папаин, бромелаин,<br>фицин                                                                                                     | Папайя,<br>ананас, инжир                                                                            | Пищевая<br>промышленность                                                                      |
| Пепсин                                                                                                                          | Свиные или<br>говяжьи<br>желудки                                                                    | Производство<br>сыра                                                                           |
| Аминопептидаза                                                                                                                  | <i>Lactococcus lactis</i>                                                                           | Производство<br>продуктов<br>питания и<br>кормов                                               |
| Для разделения <i>Bacillus</i><br>штамм изомеров<br>Субтилизин <i>Carlsberg</i> ,<br><i>Bacillus</i> соединений и<br>их средств | <i>subtilis</i><br><br>химических<br><i>licheniformis</i>                                           | хиральных<br><br>фармакологическ                                                               |
| Эстеразы                                                                                                                        | Фосфолипаз<br>ы,<br>прегастральные<br>эстеразы,<br>фосфатазы                                        | Производство<br>очистителей,<br>молочных<br>продуктов,<br>химикатов,<br>выделка кожи и<br>меха |
| Разделение<br>Свиные почки,<br>Аминоацилаза <i>Aspergillus</i><br>аминокислот                                                   | оптических <i>melleus</i>                                                                           | изомеров                                                                                       |

|                                                                                     |                                                                     |                                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Глутаминаза                                                                         | <i>Bacillus, Aspergillus</i>                                        | Конверсия глутамина в глутамат                            |
| Лизоцим                                                                             | Белок куриных яиц, <i>Saccharomyces cerevisiae, Pichia pastoris</i> | Антибактериальный агент в производстве молочной продукции |
| Пенициллиновая ацилаза                                                              | <i>Bacillus megaterium, Escherichia coli</i>                        | Химический синтез антибиотиков                            |
| В пищевой переработки<br>Изомераза глюкозного сиропа в сироп с содержанием фруктозы |                                                                     | промышленности для<br><br>высоким                         |
| Оксидоредуктазы                                                                     |                                                                     | Производство химикатов, отбеливателей; отбеливание пульпы |
| Алкогольдегидрогеназа                                                               | <i>Saccharomyces cerevisiae, Thermoanaerobium brockii</i>           | Синтез хиральных изомеров химических соединений           |
| Оксидазы аминокислот                                                                | Свиные почки, змеиный яд                                            | Разделение рацемических смесей аминокислот                |
| Удаление сахаров<br>Каталаза <i>Aspergillus</i> веществ                             | <i>niger</i> из смесей                                              |                                                           |

|                                                                     |                                                                          |                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Хлоропероксидаза                                                    | Водоросли,<br>бактерии,<br>грибы,<br>культуры<br>тканей<br>млекопитающих | Синтез<br>стероидов                                                              |
| Пероксидаза                                                         | Хрен                                                                     | Отбеливатель<br>и для стирки и<br>бумажного<br>производства                      |
| <b>Лиазы</b>                                                        |                                                                          |                                                                                  |
| Ацетолактатдекарбоксилаза                                           |                                                                          | Пивоваренная<br>промышленность                                                   |
| Производство L-<br>Аспартат-бета-<br>из L-<br>аспарагиновой кислоты |                                                                          | декарбоксилаза аланина                                                           |
| Гистадаза                                                           | <i>Achromobacter liquidum</i>                                            | Производство<br>косметики                                                        |
| <b>Трансферазы</b>                                                  |                                                                          |                                                                                  |
| Циклодекстрингликозилтрансфераза                                    |                                                                          | Производство<br>циклодекстринов<br>из крахмала                                   |
| Трансглютаминаза                                                    | <i>Streptomyces mobaraense</i>                                           | Переработка<br>пищевого<br>сырья и<br>производство<br>безглютеновых<br>продуктов |

## 5-MAVZU: FERMENTLARNI IMMOBILIZATSIYA QILISH

1. Fermentlarni immobilizatsiya qilish usullari
2. Fermentlarni jismoniy usullar bilan immobilizatsiya qilish,
3. Kimyoviy immobilizatsiya usullari, jelni kiritish orqali immobilizatsiya qilish, yarim o'tkazgichli membranalar bilan immobilizatsiya

**Kalit so'zlar:** enzimatik jarayon, fermentning modifikatsiyasi, immobilizatsiyalangan fermentlarning katalitik faolligi, immobilizatsiyalangan

fermentlar uchun tashuvchilar, dekstran, sefadeks, erimaydigan ommaviy axborot vositalarida adsorbsiya, jelning ko'zgusiga kiritilishi, fermentning yarim o'tkazuvchan septum (membranalar) yordamida reaksiya tizimining qolgan qismidan bo'shliqqa bo'linishi, ikki fazali muhitga qo'shilishi.

Sephadex nomi ostida dekstranga asoslangan tashuvchilar keng qo'llaniladi.

Quritilganda ular osonlikcha qisqaradi va suvli eritmada kuchli shishiradi. Ushbu tashuvchilarda jelning gözenek hajmi o'zaro bog'liqlik darajasi bilan boshqariladi. Dekstranslar guruhiga kraxmal ham kiradi. Kimyoviy modifikatsiyalangan kraxmal formaldegid kabi vositalar bilan o'zaro bog'liqdir. Shu tarzda, fermentlar va gidrolizga chidamliligi yuqori bo'lgan shimgichli kraxmal olingan. Dekstranga asoslangan suvda eruvchan formulalar tibbiyotda ko'pincha dori tashuvchisi sifatida ishlatiladi.

Agar yaxshi tashuvchi hisoblanadi. Uning xossalari, masalan, diepoksik birikmalar bilan kimyoviy o'zaro bog'liqlikdan so'ng yaxshilanadi. Bunday agar issiqqa chidamli bo'lib, kuchli va u osonlikcha o'zgartiriladi.

Oqsillar tashuvchi sifatida bir qator afzalliklarga ega: ular sig'imli, biodegradatsiyaga qodir va ingichka (qalinligi 80 mm) membrana sifatida ishlatilishi mumkin. Protein tashuvchilarda fermentlarni immobilizatsiya qilish o'zaro bog'lovchi moddalar yo'qligida ham, mavjud bo'lganda ham amalga oshirilishi mumkin. Proteinlar asosiy biologik tadqiqotlarda ham, tibbiyotda ham qo'llaniladi. Oqsillarning tashuvchisi sifatida kamchiliklariga ularning yuqori immunogenligi (kollagen va fibrin bundan mustasno) kiradi.

Immobilizatsiya uchun ko'pincha strukturaviy (keratin, fibrin, kollagen), kontraktil (miyozin) va transport (albumin) oqsillari ishlatiladi.

Sintetik polimer tashuvchilar fermentlarning kovalent va sorbsion immobilizatsiyasi, gellar, mikrokapsullar tayyorlash uchun ishlatiladi. Stirol asosidagi polimerlar sorbsion immobilizatsiya uchun ishlatiladi. Ular heteroporoz struktura bilan bir qatorda makroporoz, izopor tuzilishga ham ega bo'lishi mumkin. Akrilamid, akril kislotaning hosilasi polimer gidrofil tashuvchilarni olish uchun keng qo'llaniladi.

Fermentlar va hujayralarni qattiq fazoviy tarmoq tuzilishiga ega bo'lgan poliakrilamid jelga kiritish usuli keng tarqaldi. Poliakrilamid jeli kimyoviy hujumga chidamli. Juda qiziqarli guruh poliamid tashuvchilar tomonidan namoyish etiladi. Bular takrorlanadigan amid guruhiga ega bo'lgan har xil geter zanjirli polimerlarning guruhlari -C (O) NH-. Masalan, N-vinilpirrolidon asosidagi polimerlar organizmda sekin tanazzulga uchrashi mumkin bo'lgan immobilizatsiya qilingan fermentlarni olish uchun ishlatiladi. Bundan tashqari, ular biologik jihatdan inertdir, bu tibbiy maqsadlarda foydalanilganda ayniqsa muhimdir. Ko'pgina polimer tashuvchilarning muhim kamchiliklari tanada to'planish qobiliyatidir. Shu munosabat bilan fermentlar tomonidan gidrolizlanadigan tabiiy polimerlarga ustunlik beriladi. Shuning uchun dorilar tarkibiga ko'pincha dekstran, sintetik tashuvchilardan esa - N-vinilpirrolidon asosidagi polimerlar kiradi. Hozirgi vaqtda toksik bo'lmagan metabolik mahsulotlarni hosil qilish uchun parchalanadigan sintetik polimerlarni yaratish bo'yicha tajribalar olib borilmoqda.

Fermentlarni immobilizatsiya qilish usullari

Fermentlarni immobilizatsiya qilishning ikkita asosiy usuli mavjud: fizikaviy va kimyoviy.

Fermentlarning jismoniy immobilizatsiyasi - bu fermentning umumiy hajmning faqat cheklangan qismi mavjud bo'lgan muhitga qo'shilishi. Jismoniy immobilizatsiya paytida ferment kovalent ravishda tashuvchiga bog'lanmaydi. Fermentlarni bog'lashning to'rt turi mavjud:

- erimaydigan tashuvchilarda adsorbsiya;
- jelning teshiklariga qo'shilish;
- yarim o'tkazuvchan bo'linma (membrana) yordamida fermentni qolgan reaksiya tizimidan fazoviy ajratish;
- eruvchan holatdagi ferment faqat fazalardan birida bo'lishi mumkin bo'lgan ikki fazali muhitga qo'shilish.

#### 10.1. INFIMIKA TAYYORLASHNI QO'LLASH SUTLIK SANOATI

Sut sanoatida ferment preparatlarini qo'llash azaldan cheklangan. An'anaga ko'ra sut sanoatidagi ferment preparatlari kazein va sutning yog'li qismlarini konsentratsiya qilish uchun ishlatilgan. Maxsus tayyorlangan sutga rennet (ximosin) yoki uning o'rnini bosuvchi moddalar kiritilgandan so'ng 10-30 ppm tezlikda oqsil strukturasining ferment bilan faollashishi paydo bo'ladi, so'ngra o'z-o'zidan siqilib, mikrotsellar suyuqligi - tuzlari erigan sarum ajralib chiqadi. unda laktoza va zardob oqsillari.

Tvorogni maydalash va uni aralashtirish natijasida kazein konsentratini uning tarkibiga kiritilgan yog 'globulalari bilan olish jarayoni bir necha soat ichida tugaydi. Energiya sarfi nuqtai nazaridan bu jarayon vakuumli bug'lashtirgichdagi bug'lanish va sentrifugalarda fraktsiyalashga qaraganda ancha samarali.

Pishloqlar va tvorogning tutarliligi, ta'mi va hidini shakllantirishda ximosindan tashqari boshqa fermentlar ham ishtirok etadi. Ular pishloq (tvorog) massasi ajratilgunga qadar sutga kiritilgan boshlang'ich madaniyati hujayralaridan pishloq massasiga kiradi.

Genetik muhandislik usullaridan foydalangan holda ximosinning mikro ishlab chiqaruvchisi yaratilgan bo'lib, bu pishloq ishlab chiqarishni sutni quyadigan preparatlar bilan ta'minlash imkoniyatlarini sezilarli darajada kengaytiradi. Ximosinning quruq preparatlari faolligi 100 ming an'anaviy birlikni tashkil qiladi. 35 ° C haroratda ferment tomonidan 40 daqiqa davomida koagulyatsiya qilingan sut miqdori an'anaviy birlik sifatida qabul qilinadi. Sutni pıhtılaştırıcı dorilar faoliyatini baholashning instrumental usullari ham ishlab chiqilgan. Ulardan biri - "Himotest - Uglich" statsionar va statsionar bo'lmagan kinetika sharoitida ximosin yoki pepsinning kazein misellari bilan reaksiyasining tezlik konstantasi to'g'risidagi ma'lumotlarni avtomatik ravishda ko'p marta o'lchash va kompyuterda qayta ishlashga asoslangan.

Yana bir ferment preparati - b-galaktosidaza ham sut sanoatida keng qo'llanila boshlandi. Ushbu ferment ta'sirida sut shakar molekulası glyukoza va galaktozaga bo'linadi. Ushbu

transformatsiyaning natijalari katta ahamiyatga ega. Hidrolizlangan sut shakari bilan sut ichish laktoza intoleransi bo'lgan odamlar uchun mavjud bo'ladi.

B-galaktozidaza bilan fermentativ ishlov berilgan zardob konsentratlarida erigan molekulalar soni 1,5-1,8 baravar ko'payadi. Shunga ko'ra, quyultirilgan zardobning plazmasidagi ozmotik bosim ham oshib boradi, bu esa gidrolizlangan zardob konsentratlarini bir necha oy davomida xona haroratida yoki xona (10-15 ° C) haroratda saqlashga imkon beradi. Ferment preparatidan foydalanish zardob konsentratlarining iste'mol sifatlarini ham oshiradi, chunki laktoza gidrolizidan so'ng uglevodlar aralashmasining shirinligi 5 dan 6 martagacha oshadi va sukroz uchun bunday ko'rsatkich qiymatiga yaqinlashadi.

Bu zardobdan glyukoza-galaktoza siroplarini ishlab chiqarishga imkon beradi, ular muzqaymoq, quyultirilgan sut idishlari, qandolat va non mahsulotlari tarkibidagi lavlagi shakarini almashtirishga mo'ljallangan.

B-galaktozidazaning tijorat preparatlari ulardan foydalanishning ikki usuliga ega. Ulardan birida ferment erkin holatda bo'ladi, u sut mahsulotiga kiritiladi, bu erda laktoza fermentativ o'zgarishi sodir bo'ladi. Preparatning ancha yuqori narxini hisobga olgan holda, bu usul iqtisodiy nuqtai nazardan har doim ham o'zini oqlamaydi, aks holda uni ishlab chiqarishning yakuniy bosqichida ferment ba'zi inert tashuvchida o'rnatiladi. Uning yuzasida immobilizatsiya qilingan b-galaktozidaza bo'lgan ushbu tashuvchining to'plari fermentlangan reaktorga yuklanadi, u orqali qayta ishlangan sut yoki zardob pompalanadi. Bunday holda, fermentativ davolanish narxi pasayadi, ammo tashuvchini va fermentni tozalash va dezinfektsiyalashda qiyinchiliklar kuchayadi.

Molekulyar biotexnologiyaning rivojlanishi bilan biz narxning pasayishini va sut mahsulotlarining texnologik jarayonlariga rekombinant fermentlarni keng joriy etilishini kutishimiz mumkin.

Masalan, pishloq massasiga maxsus ferment preparatlarini kiritish pishloqning pishib etish jarayonlarini dasturiy nazorat qilish va kerakli xususiyatlarga ega tayyor mahsulotni olish uchun sharoit yaratadi.

## 10.2. Nonvoyxonada ferment preparatlaridan foydalanish

Pishirishda fermentlar yordamida hal qilingan asosiy vazifalar quyidagilardan iborat:

- bug'doy va javdar unining pishirish xususiyatlarini uning beqaror sifati bilan sozlash (kleykovinani kuchaytirish, gevşeme, kleykovina "tuzilishi", unni shakar hosil qilish qobiliyatini va fermentativ faolligini oshirish va boshqalar);
- maxsus yarim tayyor mahsulotlarni tayyorlash;

novvoy xamirturushining biotexnologik xususiyatlarini yaxshilash;

- texnologik jarayonni jadallashtirish, tezashtirilgan non tayyorlash texnologiyalarini joriy etish;
- xamirning belgilangan reologik xususiyatlarini shakllantirish, uning barqarorligini oshirish;

- fizik-kimyoviy va organoleptik ko'rsatkichlar bo'yicha non va non mahsulotlari sifatini oshirish;
- xom ashyoni tejash, xamirni suvga singdirish qobiliyatini oshirish, tayyor mahsulot hosildorligini oshirish;
- nonning yangiligini saqlash muddatini uzaytirish, uning maydalanishini kamaytirish;
- ko'p faktorli texnologik muammolarni hal qilish uchun murakkab nonvoyxonalarni tanishtirish.

Belgilangan vazifalarga qarab, non mahsulotlari ishlab chiqarishda turli ta'sirga ega ferment preparatlari qo'llaniladi.

Amilolitik fermentlar. Bu xamirni tayyorlash jarayonini kuchaytirish uchun ishlatiladigan fermentlarning asosiy guruhidir. a-amilaza (3.2.1.1: a-1,4-glyukan-4-glyukanohidrolaza) - bu ilgari aytib o'tilganidek, kraxmal molekulasining bir nechta a-1,4-bog'lanishlarida tasodifiy yorilishini, asosan, dekstrinlarning hosil bo'lishi va oz miqdordagi maltoza va substratning yopishqoqligining sezilarli pasayishi.

Oddiy dondan olingan bug'doy unida a-amilaza mavjud emas, ammo b-amilaza (3.2.1.2: a-1,4 glyukanmaltoidrolaza), zanjirning kamaymaydigan uchidan maltozani ketma-ket ajratish orqali fermentga ta'sir qiluvchi ferment, ortiqcha mavjud. Uglevod zanjirining o'xshash uchlari bo'lgan substratning etishmasligi shakarining yomon shakllanishiga sabab bo'ladi. Mikrobia a-amilaza va don b-amilazaning birgalikdagi ta'siri bilan shakar hosil bo'lishi sezilarli darajada kuchayadi, chunki molekulaning dekstrinlarga bo'linishi kamaymaydigan uchlari sonining ko'payishiga olib keladi.

Qo'ziqorin va bakterial a-amilazalarning kraxmalga ta'siri va ularning xususiyatlari sezilarli darajada farq qiladi.

Qo'ziqorin va malt a-amilazalar bilan taqqoslaganda, bakterial a-amilaza issiqlik barqarorligini oshirdi, bu esa u bilan ishlashni murakkablashtiradi, chunki optimal dozadan oshib ketish yopishqoq parchalanib ketadigan bo'lakni hosil bo'lishiga olib kelishi mumkin.

Qo'ziqorin a-amilaza termolabildir. Pishirish jarayonida, jelatinizatsiya natijasida kraxmalning hujum qilish qobiliyati keskin oshib ketadigan vaqtga kelib, u tezda inaktiv bo'ladi va shuning uchun ham haddan tashqari dozada nonning parchasini buzmaydi. Taqqoslangan amilazalarning xossalardagi farqlar pH qiymati va temperaturasi, shuningdek inaktivatsiya harorati optimasida namoyon bo'ladi.

Kraxmalni a-amilaza va glyukoamilaza bilan gidrolizlash (EC 3.2.1.3: a-1,4-glyukan glyukohidrolaza) xamir tarkibidagi fermentlanadigan shakar miqdorini oshiradi, bu esa fermentatsiya jarayonining kuchayishiga olib keladi.

Gaz hosil bo'lishining ko'payishi tufayli xamir bo'shashadi, u bir hil turg'unlikka ega bo'ladi va pishirilgan non hajmi ortadi. Kraxmalning dekstrinlarga parchalanishi jelatinlashtirilgan kraxmalning retrogradatsiya jarayonlari va kraxmal polisakkaridlari va kleykovina oqsillari molekulalari o'rtasida o'zaro bog'liqlik hosil bo'lishiga asoslangan nonning qotib qolishini sekinlashtirishga yordam beradi. Nonning qotib qolishini sekinlashtirish uchun eng samaralisi a-amilaza bo'lib, u kraxmalga ta'sir qilganda, past molekulyar og'irlikdagi dekstrinlar hosil bo'lib, ular kraxmalning kristallanishiga to'sqinlik qiladi.

Xamir tarkibidagi past molekulyar og'irlidagi shakarlarning ko'payishi pishirish paytida melanoidin hosil bo'lishining faollashishiga olib keladi, non po'stining rangi esa oshadi.

Xamirda shakarlarning paydo bo'lishi, xamirni fermentatsiyalash paytida ayniqsa muhimdir, unga shakar qo'shilmaydi. Unning og'irligi 0,002% bo'lgan amilolitik fermentlar preparatlari gaz hosil bo'lishini sezilarli darajada oshiradi va qattiq bug'doy unidan tayyorlangan xamirning fizik xususiyatlariga ijobiy ta'sir ko'rsatadi.

U yumshoqroq bug'doy unidan tayyorlangan xamirga o'xshab elastikroq, qattiqroq va o'xshashroq bo'ladi.

Mahalliy dori vositalaridan Amilorizin, Amilosubtilin, Glyukavamotin, Glyukonigrin, Amilonigrin ishlatiladi; import qilinadigan dori-darmonlardan ko'pincha Novozymes (Daniya) foydalanadi: Fungamil (*A. oryzae* madaniyatidan qo'ziqorin a-amilaza), Novamil (*B. subtilis* dan a-amilaza), AMG (*A. niger* madaniyatidan glyukoamilaza). Nonni pishirish jarayonida preparatlar faolsizlantiriladi va yopishqoq bo'lak hosil bo'lishiga olib kelmaydi.

Suyuq xamirturushda non ishlab chiqarishda a-amilaza bosqichma-bosqich qo'shilishi maqsadga muvofiq: achitilgan choy barglarini tayyorlash bosqichida va xamir tayyorlash bosqichida.

Bundan tashqari, odatdagi dozalarda tuz, shakar va oksidlovchi moddalar (askorbin kislota) qo'shilishi bug'doy xamiridagi a-amilazani inhibe qilmasligi aniqlandi, chunki fermentatsiya paytida xamirda to'plangan etanol ham a-amilaza faolligiga ta'sir qilmaydi.

Xamirga 0,002% Amilorizin P10X fermenti qo'shilsa, nonning o'ziga xos hajmi 11-15% ga ko'payadi, uning kengligi 2-3% ga yaxshilanadi, o'choq noni va maydalangan siqiluvchanligi o'lchovli barqarorligi oshadi, ta'mi va xushbo'yligi yaxshilanadi. Shakarlarning miqdori sezilarli darajada oshadi, bu esa oqsil gidrolizi mahsulotlari bilan birgalikda qobiqning yanada qizg'ish rangini keltirib chiqaradi.

Xamirni konsentrlangan sut kislotasi fermentida (KMKZ) tayyorlashda glyukoamilaza va a-amilaza qo'ziqorin preparatlaridan foydalanish mumkin. KMKZ ning fizik-kimyoviy xossalari (pH, namlik) zamburug'li glyukoamilaza ta'siriga mos keladi.

Glyukavamotin G20X preparati pH qiymati 4,2 ga yetganda, 10-12 birlik / 100 g un dozasi starter kulturasiga qo'shiladi. Glyukoamilaza ta'siri natriy tripolifosfat (TPP) uning 0,01% miqdorida qo'shimcha kiritilishi bilan kuchayadi. Tayyor boshlang'ich madaniyatidagi glyukoza miqdori 1,6-1,9 marta ko'payadi va quruq moddalarning 7,4-8,8% ni tashkil qiladi. KMKZda glyukoamilaza bilan tayyorlangan nonning o'ziga xos hajmi 10-15% ga, vazni - 2-3 ga, maydalanishning umumiy siqilishi - 25-30% ga oshadi. Nonda aldegidlar, efirlar, aromatik va heterosiklik birikmalar ko'payadi.

KMKZ tarkibiga glyukoamilaza pishiruvchisi xamirturushi (uning 0,1%) xamirturush va shakar qo'shilganda nonning sifati yaxshilanadi.

Sukrozning xamirturushli b-fruktofuranosidaza bilan gidrolizi boshlang'ich madaniyatida glyukoza va fruktoza miqdorini 9-10 baravar, xamir tarkibida 1,4-1,6 baravar oshiradi.

Kislota barqaror a-amilaza va glyukoamilaza o'z ichiga olgan murakkab preparatlarni maqbul pH qiymati 3,8 - 4,2 darajasida sut zardobi bilan birga ishlatish kerak. Bug'doy unidan xamirni suyuq xamirga tayyorlashda eng katta samaradorlikka erishiladi. Preparatning tavsiya etilgan dozalari: 4-5 dona. amilaza va 10-15 dona. yarim tayyor

mahsulot namligi 70-75% bo'lgan 100 g un uchun glyukoamilaza. Bunday ferment preparati bilan yarim tayyor mahsulotda tayyorlangan nonning o'ziga xos hajmi, turg'unligi va maydalanganligi siqiladi (mos ravishda 15, 20 va 30% gacha).

Amilolitik fermentlar kompleksi har xil pishirish xususiyatiga ega javdar unidan, shu jumladan avtolitik faolligi pasayganidan foydalanganda yaxshi natijalar beradi. Xamirturushni fermentatsiyalash muddati qisqaradi, yarim tayyor mahsulotlarni ko'tarish kuchi oshadi, nonning ta'mi va hidi yanada aniqroq bo'ladi.

Javdar unining oldindan pishirilgan qismini sakkarifikatsiya qilish ushbu ferment preparatlarini 1 birlik dozada kiritilishi bilan birgalikda aniqlandi. OS / g uni ozuqaviy muhitda assimilyatsiya qilinadigan shakar miqdorini eng samarali nazorat qilish variantiga nisbatan 22,5% ga ko'payishiga olib keladi.

Shu bilan birga, sakarizatsiya harorati 68 dan 40 ° C gacha pasayadi va jarayonning davomiyligi 25% ga kamayadi. Ferment preparatlari yordamida ozuqaviy muhitni tayyorlash spirtli va sut kislotasi fermentatsiyasining kuchayishiga olib keladi. Shunga ko'ra, metabolik asosiy mahsulotlar - CO<sub>2</sub> va kislotalarning sut kislotasi bo'yicha to'planishi 76 va 15% ga oshadi. Bunday holda, un partiyalarining dastlabki avtolitik faolligiga qarab ferment preparatlari dozasini o'zgartirish orqali jarayonni tartibga solish mumkin.

Amilolitik fermentlar kompleksi yuqori darajada shakarlangan fermentativ yarim tayyor mahsulotlar (HFP) ishlab chiqarishda qo'llaniladi.

WFP dasturining non retseptiga kiritilishi xamirni tayyorlash jarayonining davomiyligini va shakar iste'molini qisqartiradi. VFP tayyorlash uchun har xil un turlari - bug'doy, javdar va tritikale donidan, shuningdek Rasm uni, kraxmalli sut, kraxmal, kraxmalli nonlar mos keladi. Saxarifikatsiya 6 soat davomida 60 ... 65 ° C haroratda va pH qiymati 4 - 4,2 ga teng bo'lib, u limon yoki ortofosfor kislotasi yordamida o'rnatiladi. Qo'ziqorin a-amilaza va glyukoamilaza amilolitik ferment preparatlari sifatida ishlatilishi mumkin. Preparatning turi fermentlarning dozasini kuzatish sharti bilan EPP sifatiga ta'sir qilmaydi:

glyukoamilaza - 500 birlik / 100 g xom ashyo, a-amilaza - 100 birlik / 100 g bug'doy uni uchun xom ashyo, 50 birlik / 100 g tritikale va javdar uni uchun xom ashyo. WFP ishlab chiqarishning sanoat versiyasi Glyukavamorin va Amilorizin kompleksidan foydalanishga asoslangan. Kraxmalning 1-navli bug'doy unidan WFP ga o'tish darajasi 73 - 75%, 1-navli bug'doy nonidan - 84 - 85, Rasm unidan - 66 - 68% ni tashkil qiladi.

Xamirda HFP dan foydalanish xamirturushni ko'tarish kuchini, shakarlarni fermentatsiyalash tezligini va gaz hosil bo'lishini ko'payishiga olib keladi, bu xamirni tayyorlash muddatini qisqartirishga imkon beradi. Xamirni tayyorlashning xavfsiz usuli bo'lsa, VFP unning og'irligi 5-10% miqdorida kiritiladi. Fermentatsiya davomiyligi 1,4-1,7 baravarga qisqaradi, nonning o'ziga xos hajmi 10-29% ga, maydalanganligi 2-4 ga, maydalangan siqilishi - nazoratga nisbatan 21-34% gacha (WFP holda), kamaytiruvchi shakarlarning miqdori - quruq moddalarning og'irligi bo'yicha 1,5-2,5% gacha. Non sekinroq eskiradi, bu kraxmal va oqsilning chuqurroq parchalanishi bilan izohlanadi.

Xamirni tayyorlashning shimgichni usuli bilan WFP ning xamirga kiritilishi xamirni fermentatsiyalash muddatini 2 soatgacha, xamirni 30 minutgacha qisqartirishga olib

keladi. VFPdan foydalanish retsept bo'yicha shakar iste'molini un og'irligi bo'yicha 2,5-5,0% gacha kamaytirishga imkon beradi.

Non-non mahsulotlarining eskirishini sekinlashtirish uchun an'anaviy ravishda ishlatiladigan am-amilaza fermenti preparatlari bilan bir qatorda bug'doy va javdar-bug'doy noni texnologiyalarida maltogen a-amilaza bilan ferment preparatlarini qo'llash mumkin. Bakterial maltogen a-amilaza o'z ichiga olgan ferment preparati maydalagichning strukturaviy va mexanik xususiyatlarini sezilarli darajada yaxshilaydi, tayyor mahsulotlarning yangiligini saqlash muddatini 7-12 kungacha oshiradi.

b-Galaktozidaza. Non mahsulotlari ishlab chiqarishda 4,2-4,7% quruq moddalar, shu jumladan 0,5-1,4% oqsil, 3,2-5,1% laktoza, shu jumladan, tvorog zardobi tez-tez kiritiladi. 0,4% yog ', minerallar va vitaminlar. Sarum pH qiymati 4-4,2 ga teng, bu ko'plab qo'ziqorin gidrolitik fermentlarining faol zonasiga to'g'ri keladi. Pishirishda laktoza sof shaklda ishlatilmaydi, chunki uning funktsional xususiyatlari: past eruvchanligi va shirinligi yo'qligi, shuningdek, inson tanasining tez-tez toqat qilmasligi.

Laktoza novvoylarning xamirturushidan fermentlanmaydi, shuning uchun u bilan birga bo'lgan muhitda ularning fermentatsiya faolligi pasayadi. Gidrolizlanmagan zardob qo'shilgan sinovda gaz hosil bo'lishining tushkunligi bor, sinov hajmi 9-13% ga kamayadi. Laktoza b-galaktozidaza fermenti (3.2.1.23: galaktozid galaktohidrolaza) bilan parchalanganida glyukoza va galaktoza hosil bo'ladi. Ushbu aralash allaqachon shirin ta'mga ega, suvda yaxshi eriydi va hayvonlar ham, mikroorganizmlar tomonidan ham so'riladi.

Laktozani gidrolizlash uchun preparatlardan foydalanish mumkin

Laktokanesin G10X va G20X, Laktoinekalin G10X, Laktofragilin G10X.

Laktokaneskin tez-tez ishlatiladi, uning tarkibida b-fruktofuranosidaza va proteaz fermentlari mavjud. U zardob laktozasini gidrolizlashga, xamirdagi sukrozni teskari o'stirishga va zardobni va un oqsillarini qisman gidrolizlashga qodir. Uni ishlatganda xamirturush, kislota va gaz hosil bo'lishining fermentatsiya faolligi oshadi va xamir fermentatsiyasining davomiyligi kamayadi.

Zardobni ishlatishning oqilona usuli bu uning asosida Laktokanesin qo'shilishi bilan 45-65% shakar eritmalarini tayyorlashdir.

Bunday holda, nafaqat laktoza gidroliziga, balki saxarozaning qisman inversiyasiga ham erishiladi. B-fruktofuranosidaza (3.2.1.26: b-D-

fruktofuranosidfruktidrolaza) eritmaning og'irligi bo'yicha 0,05-0,1% miqdorida. Ushbu ferment b-fruktofuranosidlar tarkibidagi kamaytirmaydigan b-D-fruktofuranosid qoldiqlarini gidrolitik ravishda ajratib turadi, fruktoza qoldiqlarini har xil aktseptorlarga o'tkazib yuboradi va gidrolizlar (invertlar) saxarozani glyukoza va fruktozaga o'tkazadi. Xamirturush b-fruktofuranosidazning qo'shimcha manbai bo'lib xizmat qiladi.

Saxaroza va sut zardobining konsentrlangan eritmalaridan foydalanish xamirning pishib etish jarayonini kuchaytiradi va uning reologik xususiyatlarini yaxshilaydi.

Tsellyulozalar va gemitsellulazalar. Ushbu fermentlar javdari unidan, javdar va bug'doy aralashmasidan non tayyorlashda, shuningdek tarkibida kepakli un va tarkibidagi tarkibiy polisaxaridlar miqdori yuqori bo'lgan boshqa tarkibiy qismlar.

Tsellyuloza va gemitsellulozalarning gidrolizi xamir tarkibidagi fermentlanadigan shakar miqdorini ko'paytiradi, bu esa fermentatsiya jarayonini kuchaytiradi. B-1,3-1,4-glyukanning parchalanishi xamirning yopishqoqligini pasayishiga olib keladi, bu ayniqsa javdar unidan foydalanganda juda muhimdir.

Nonning kengligi va o'ziga xos hajmi oshadi, maydalangan unchalik yopishqoq bo'lmaydi. Don qobig'ining gemitsellulozalari ksilan navlari bo'lib, ular orasida arabinoglukuronoksilan mavjud. Pentoza polisakkaridlari bug'doy unining 2,5-3% ni tashkil qiladi. Xylans kleykovina oqsillari bilan birikadi, oqsillar esa o'zlarining tabiiy tuzilishini yo'qotadi va globus tarqaladi. Denaturatsiya oqsil elastikligini yo'qotish bilan birga keladi, bu xamirning elastik xususiyatlariga salbiy ta'sir qiladi. Ksilanlarning gidrolizi ularning kleykovina oqsillari bilan birikishini oldini oladi. Ksilan gidrolizining qisman mahsulotlari suvni ushlab turish qobiliyatiga ega.

Suv bilan to'yingan, rivojlangan kleykovina asosi hosil bo'ladi. Ksiloligosakkaridlar kraxmalning kleykovina oqsillari bilan o'zaro ta'sirini oldini oladi, bu esa xamirni kesish paytida xossalarini yaxshilaydi, xamir bo'laklari turg'unligini oshiradi, pishirish paytida xamir hajmini oshiradi va nonning qotib qolish jarayonini sekinlashtiradi.

Mahalliy dorilar Cellocandin, Amilorizin keng ta'sir doirasiga ega bo'lib, gemitsellulozalarning har xil turlarini (bug'doyning arabinoglukuronoksilan, javdar arabinoksilan, jo'xori ksilan, qayinning 4-O-metil-glyukuronoksilan, arabinogalaktan, likenan, galaktomannan), tsellyuloza donalari, tsellyuloza (bug'doy va javdar kepagi, arpa uni).

Darnitsa nonini pishirishdan 1,5 soat oldin 0,005% Amilorizin qo'shilgan holda, shifokor nonlari - 0,025% Cellocandin qo'shilgan holda, pishirishdan 30-40 daqiqa oldin ijobiy natijalarga erishildi. Gemitselluloza faolligi bilan dori-darmonlarni qo'llash maydalangan tuzilishini yaxshilaydi, nonning o'ziga xos hajmini, po'stligini va qobig'ining xirillash xususiyatlarini oshiradi.

Non mahsulotlari yangiligini saqlab qolish uchun ksilanaz preparatlari amilolitiklar bilan birlashtiriladi.

Bakterial a-amilaza (Novamil preparati), maltogenik amilaza va ksilanaza (Fungamil preparati) kompleksidan unning og'irligi 0,01% dozada foydalanish maydalangan shishishni 30-40% ga, maydalangan suspenziyaning yopishqoqligi - 13-30 ga oshiradi. , maydalangan siqilish - 17—44% gacha (qadriyatlar oralig'i qadoqlashsiz 12—96 soat saqlash davriga beriladi).

Tarkibida polisakkaridlarning ko'pligi va uzoq umr ko'rishlari bilan non ishlab chiqarishning ko'payishi, pishirishda ishlatiladigan sellyuloza va gemitselluloza preparatlari doirasini kengaytirishi muqarrar. Wilzim AK, Polikanescin, Biobeik, Fermizim, Beikzym, Ultrasim, Celloviridin, Pentopan, Fungamil kabi dorilar tavsiya etiladi.

Zamonaviy novvoyxonada asosan turli navdagi un ishlatiladi, uning kimyoviy tarkibi butun donga qaraganda ancha kambag'aldir. An'anaviy ravishda o'rnatilgan donni maydalash sxemalari bilan donning oqsil, vitaminlar va hazm bo'lmaydigan o'simlik tolalariga boy bo'lgan eng qimmatli donalari olib tashlanadi.

Shu munosabat bilan dunyoning aksariyat mamlakatlari aholisi orasida don mahsulotlarining, xususan, to'liq donli nonning mashhurligi oshib bormoqda.

An'anaviy donli non ishlab chiqarish texnologiyalari donning tolaga boy va gemitsellulozaga boy tashqi qatlamini olib tashlashni o'z ichiga oladi.

Donli non ishlab chiqarish texnologiyasini takomillashtirish uchun ksilanaza o'z ichiga olgan Pentopan 500 BG selülolitik ta'sirining ferment preparatlari va ksilanaz va a-amilaza fermentlar majmuasini o'z ichiga olgan Fungamil Super AX (Novozymes, Daniya), shuningdek mahalliy dori Selloviridin ishlatiladi, ular tarkibiga sellobiogidrolaza, b-glyukanaza va ksilanaz kiradi.

50 ° C haroratda donni emdirish bosqichida fermentlar preparatlari Pentopan 500 BG uchun 0,003-0,006% dozalarda, Fungamil Super AX uchun don vaznining 0,00575-0,015% va don vaznining 0,003-0,009% dozalarida qo'shiladi. Celloviridin uchun.

Ferment preparatlaridan foydalanganda nonning vazni va o'ziga xos hajmi oshadi, chunki selülolitik fermentlar qobiqlarning kraxmal bo'lmagan polisaxaridlari va karyopsining aleuron qatlamini yo'q qilishga yordam beradi. Yo'q qilish natijasida xamirturush bilan fermentatsiya jarayonida ishlatiladigan past molekulyar mahsulotlarning to'planishi mavjud bo'lib, xamirda gaz hosil bo'lishini kuchaytiradi, ozuqaviy qiymatini oshiradi va mahsulotning yaroqlilik muddatini uzaytiradi.

Proteolitik fermentlar. Ular un kleykovina elastik xususiyatlarini tartibga solish uchun ishlatiladi.

Qisqa o'sib boradigan kleykovina bilan unni pishirish sifatini yaxshilash uchun xamir past cho'ziluvchanligi va suyultirilishidan, endo- va ekzopeptidaza proteolitik fermentlaridan foydalaniladi.

Non ishlab chiqarish uchun pH 3,5-5,5 oralig'ida ta'sir qiluvchi peptidazalar eng muhimi. O'rtacha proteoliz oddiy non unidan kleykovina uchun foydali ta'sir ko'rsatadi. Uning yopishqoqligi pasayadi, bu xamir, non hajmi va maydalangan bo'lak tuzilishiga ijobiy ta'sir qiladi.

Bakterial proteaz qo'ziqorin proteaziga qaraganda samaraliroq. Bu bakteriyalar preparatlarida oqsilni katta bo'laklarga tez parchalanishi uchun zarur bo'lgan endotip proteazlar ustunlik qilishi bilan bog'liq. Bakterial proteazdan past pishirish xususiyatiga ega bo'lgan un massasiga 0,02% dozada qo'llanganda non hajmi 37% ga oshdi va nonning umumiy ko'rsatkichi 1,5 punktga oshdi.

Novozimlar tarkibidagi mahalliy Protosubtilin G20X va Neutraza neytral bakterial proteaz preparatlari sifatida ishlatilishi mumkin.

Zamburug'li proteazalarning yormalar bilan taqqoslaganda katta afzalligi ularning ekzopeptidaza faolligi, shu sababli xamirni tayyorlash jarayonida aminokislotalarning to'planishi sodir bo'ladi. Ularning texnologik ahamiyati xamirturushni oziqlanish bilan ta'minlashda va pishirish paytida pishirilgan mahsulotlar po'stida melanoidinlar hosil bo'lishini kuchaytirishda juda muhimdir, shuning uchun u qizil va aromatik bo'ladi.

Shu nuqtai nazardan, sirtni kultivatsiya qilish natijasida olingan preparatlar afzalliklarga ega, chunki suv ostida bo'lganlar deyarli ekzopeptidaza faolligiga ega emaslar.

Murakkab qo'ziqorin fermenti preparatlarining peptidazalari kislotali muhitda pH 4.0 da eng faol bo'ladi. PH 3.3 da ularning faolligi biroz pasayadi.

Faol proteazlar bilan bir qatorda faol amilazalar mavjud bo'lgan dorilar eng samarali hisoblanadi. Bu holda nafaqat non hajmi va maydalangan siqilishi kuchayadi, balki po'stlog'ining rangi sezilarli darajada yaxshilanadi, ta'mi va xushbo'yligi yaxshilanadi va maydalangan tarkibidagi shakar miqdori oshadi.

Lipaza. Non ishlab chiqarish sanoatida yaqinda lipaza (EC 3.1.1.3: triatsilgliserolatsilhidrolaza) o'z ichiga olgan ferment preparatlari qo'llanila boshlandi,

yog 'kislotalari, mono- va digliseridlar hosil bo'lishi bilan triatsilgliseridlarning gidrolizini o'tkazish, ular emulsiya qiluvchi xususiyatlarga ega, shuningdek xamirning tarkibiy qismlari - oqsillar, kraxmal bilan murakkab birikmalar hosil qilish funktsional qobiliyati ijobiy ta'sir ko'rsatadi. xamirning xususiyatlari va tayyor mahsulotlar sifati to'g'risida.

Peroksidlarning paydo bo'lishi bilan bug'doy uni lipoksigenaza bilan erkin yog 'kislotalarining oksidlanishi ham mumkin.

Lipopan ferment preparatidan foydalanganda kleykovina xossalari yaxshilanadi, tayyor mahsulotning o'ziga xos hajmi oshadi, maydalanishning strukturaviy va mexanik xususiyatlari yaxshilanadi, uning sayqallash effekti kuzatiladi va nonning qotib qolish jarayoni sekinlashadi.

Non ishlab chiqarish texnologiyasida 60-70% triglitseridlar, 2,5% mono- va 16% digliseridlar va 9-10% yog 'kislotalarini o'z ichiga olgan qo'ziqorin lipazasi bilan gidrolizlangan moylardan foydalaniladi. Ular xamirning fizik xususiyatlarini yaxshilashga, fermentatsiyani kuchaytirishga va tayyor mahsulotlarning eskirishini sekinlashtirishga yordam beradi.

Lipopan ferment preparatidan foydalanganda kleykovina xossalari yaxshilanadi, tayyor mahsulotning o'ziga xos hajmi oshadi, maydalanishning strukturaviy va mexanik xususiyatlari yaxshilanadi, uning sayqallash effekti kuzatiladi va nonning qotib qolish jarayoni sekinlashadi.

Non ishlab chiqarish texnologiyasida 60-70% triglitseridlar, 2,5% mono- va 16% digliseridlar va 9-10% yog 'kislotalarini o'z ichiga olgan qo'ziqorin lipazasi bilan gidrolizlangan moylardan foydalaniladi. Ular xamirning fizik xususiyatlarini yaxshilashga, fermentatsiyani kuchaytirishga va tayyor mahsulotlarning eskirishini sekinlashtirishga yordam beradi.

Oksidlanish-qaytarilish fermentlari. Proteolitik fermentlar singari, bu fermentlar xamirning reologik xususiyatlarini tartibga solish uchun ishlatiladi. Ularning yordami bilan proteazlarning ta'siriga qarama-qarshi ta'sirga erishiladi: oqsillarning SH-guruhleri oksidlanishi tufayli qo'shimcha disulfid bog'lanishlari hosil bo'lishi bilan kleykovina kuchayadi. Oksidlanish-qaytarilish fermentlari ishtirokida tizimlarda hosil bo'lgan birikmalar oksidlovchi moddalar vazifasini bajaradi. Sulfhidril guruhleri oqsillarining oksidlanishi fermentativ bo'lmagan kimyoviy reaksiya sifatida davom etishi mumkin.

Kleykovinani kuchaytiruvchi effekti unning proteolitik faolligining bir vaqtda pasayishi bilan to'ldiriladi, bu proteaz faollashtiruvchisi - glutationning passiv oksidlangan shaklga o'tishi natijasida yuzaga keladi.

Oksidlanish tizimlari sifatida lipoksigenaza yoki glyukoza oksidaz va katalaz kompleksi, shu jumladan tizimlardan foydalaniladi. Redoks fermentlari asta-sekin pishirish amaliyotidan kaliy bromat kabi noorganik oksidlovchi moddalarni almashtiradi.

Lipoksigenaza ta'sirida (EC 1.13.11.12: linoleat: kislorod oksidoreduktaza) to'yinmagan yog 'kislota gidroperoksidlari hosil bo'lib, ular boshqa birikmalarni, xususan, sulfidhril bog'lari orqali oqsillarni, shuningdek karotenoid pigmentlarini qo'shimcha ravishda oksidlaydi, bu esa yorug'likning yorilishiga olib keladi. xamir. Tizimda askorbin kislota bo'lsa, oqsillarning sulfidhril guruhlarini oksidlovchisi vazifasini o'taydigan dehidroaskorbin kislota hosil bo'ladi. Bu lipoksigenaza ta'sirini kuchaytiradi. Bepul yog 'kislotalari uning uchun substrat bo'lib xizmat qiladi, shuning uchun yog'larni o'z ichiga olgan xamir tarkibiga lipaz preparatini qo'shish tavsiya etiladi.

Glyukoza oksidaza (EC 1.1.3.4: b-D-glyukoza: O<sub>2</sub>-oksidoreduktaza) katalaza bilan birgalikda ishlatiladi (EC 1.11.1.6: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oksidoreduktaza). Glyukoza glyukoza oksidaz bilan oksidlanganda glyukon kislota va faol oksidlovchi vodorod peroksid hosil bo'ladi. Oksidlanish jarayonlarida ishtirok etmaydigan ortiqcha H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ni tizimdan olib tashlash mumkin, bu katalaz yordamida amalga oshiriladi, bu peroksidni suv va kislorodga parchalaydi. Glyukoza oksidazaning oksidlanish ta'siri vodorod peroksid bo'lmagan holda oksidlanadigan askorbin kislota bilan qo'shilganda kuchayadi.

degidroform.

Glyukoza oksidazni o'z ichiga olgan tizim sukroz va maltozani xamirturush fermentlari - invertaza va maltaza gidrolizi paytida paydo bo'ladigan glyukoza ishtirokida faol ishlashi mumkin. Shuning uchun glyukoza oksidazdan foydalanish xamirturushning yuqori fermentativ faolligida samarali bo'ladi. Maltoza miqdorini oshirish uchun qo'ziqorin (maltogen) a-amilaza preparati muhitga kiritiladi.

Proteinning sulfidhril guruhlarining oksidlanishini ular bilan bog'langan ksilanlar oldini oladi. Ksilanazlar protein mavjudligini oshirish uchun ishlatiladi.

Tizim shunday rivojlanadi: glyukoza oksidaza + katalaza + askorbin kislota + qo'ziqorin a-amilaza + ksilanaza. Nonning qotishini sekinlashtirish uchun unga bakterial a-amilaza qo'shilishi mumkin.

Xamirga tarkibiy qismlarni kiritishning quyidagi tartibi tavsiya etiladi: fermentativ faol xamirturush suspenziyasi shakar, askorbin kislota va glyukoza oksidaza va katalaza preparati qo'shib tayyorlanadi, amilazalar va ksilanaza eritmasi. Ushbu kompozitsiyalar intensiv texnologiya yordamida tayyorlangan xamirga kiritiladi.

Fermentlar majmuasidan foydalanish nonning o'ziga xos hajmini 33-34% ga, Rasmda 3-4 foizga, maydalangan siqilishni - nazorat bilan taqqoslaganda 40-41% ga oshiradi, bu erda faqat askorbin kislota ishlatilgan. .

Lipoksigenaza va glyukoza oksidaza bilan oksidlanish tizimlari xamirning reologik xususiyatlariga sezilarli ta'sir qiladi: uning elastikligi oshadi, cho'ziluvchanligi pasayadi va fermentatsiya paytida gaz hosil bo'lish intensivligi oshadi.

Nonvoyxonalarning kompleks yaxshilanuvchilari (Fortuna, Topaz, Chance, Multenzyme va boshqalar) oksidlovchi tizimlar, shu jumladan lipoksigenaza va glyukoza oksidaza yordamida ishlab chiqilgan.

Ularning tarkibida Gluzim (glyukoza oksidaza + katalaza), Fungamil, Novamil, Pentopan (ksilanaz), Lipopan (lipaza), fermentativ faol soya uni (lipoksigenaza manbai) va askorbin kislotasi preparatlari qo'llaniladi.

### 10.3. Pektolitik ferment preparatlaridan vinochilikda foydalanish

Sharob tayyorlashda ishlatiladigan pektolitik, proteolitik, sitolitik ta'sirning fermentativ preparatlari zarur hosildorlikni oshiradi, sharoblarning har xil loyqaliklarga qarshi turg'unligini ta'minlaydi va mahsulot sifatini yaxshilaydi. Pektolitik fermentni tayyorlash uzumni qabul qilish bunkeriga, maydalangan idishga, maydalagandan keyin pulpa ichiga yoki sharbatga tayyorlangan yaxshilab aralashtirilgan suspenziya shaklida fermentorga kiritiladi. Pulpa bilan preparat bilan aloqa qilish vaqti kamida 1,5-2 soat davomida tavsiya etiladi

. Fermentlarni tayyorlash suspenziyasini aniq dozlash va bir xil oziqlantirishni har xil turdagi maxsus dozlash moslamalari bilan ta'minlash mumkin. Dağitıcılar bo'lmagan taqdirda, to'xtatib turish qo'lda qo'llaniladi. Muayyan hudud va ma'lum bir uzum navlari guruhi uchun preparatning kerakli dozasini tanlashda laboratoriya sharoitida sinoviy ishlov berish kerak. Pektolitik ferment preparatlarining dozasi o'sadigan maydonlarga va uzum navlariga, yil sharoitlariga, qayta ishlash texnologiyasiga qarab farq qiladi.

Sut bilan pulpa bilan uzoq vaqt aloqa qilishda (24 soat va undan ko'p) minimal dozani tanlash kerak - 0,017%, ba'zi hollarda hatto 3000 U / g faollikdagi preparatning 0,008%. Ba'zi navlar, ayniqsa shilimshiq pulpaga ega bo'lganlar (Nuh, Izabella, Moldovadagi Lidiya va Transkarpatiya), sharbatni qattiq chiqarib yuboradiganlar, preparatning yuqori dozalarini talab qiladi (0,07 - 0,08%). Shampän va stol sharob materiallarini olish uchun oq uzum navlarini qayta ishlashda optimal dozani 0,033-0,04% deb hisoblash kerak (dozalari 3000 U / g faolligi bo'lgan preparat uchun beriladi). Pektolitik ferment preparatlari ta'sirining optimal harorati 37 - 40 ° S dir.

Shu bilan birga, fermentatsiya jarayonida pulpani maxsus isitish shart emas, agar bu ushbu turdagi sharob uchun qabul qilingan texnologik sxemada talab qilinmasa. Pektolitik preparatlar 15 - 20 ° S haroratda ham samarali bo'ladi. Pektolitik ferment preparatlaridan foydalanganda 100 - 150 mg / dm<sup>3</sup> wortdan iborat sulfatizatsiya dozasi tavsiya etiladi. Wort va pulpa fermentatsiyasi paytida uzumning oqsil va polipeptidlari yo'q bo'lib ketadi. Ushbu jarayonlar turli tabiiy proteolitik fermentlar ta'sirida sodir bo'ladi. Natijada, eruvchan uzum oqsillari miqdori bir necha bor kamayadi.

Sut va pulpa fermentatsiyasi jarayonida yuz beradigan tabiiy proteoliz jarayonini *Aspergillus oryzae*, *A. flavus*, *A. awamori* qoliplaridan olinadigan proteolitik ferment preparatlarini kiritish orqali tezlashtirish mumkin.

Sharob sanoati proteolitik ferment preparatlarini qo'llash bo'yicha deyarli tajribaga ega emas, faqat tasodifiy preparatlar bo'yicha izolyatsiya qilingan tajribalar o'tkazilgan, ammo vinochilikda proteolitik ferment preparatlarini qo'llash istiqbollari juda katta.

. Enzimatik usuldan sut va sharobdan oqsillarni olib tashlash uchun samarali foydalanish mumkin. Shu maqsadda sutga 100 mg / dm<sup>3</sup> tezlikda sulfitlanganidan keyin 0,0005% miqdorida proteolitik ferment preparati qo'shiladi. Cho'kgandan so'ng, wort cho'kindidan chiqarilib, fermentlangan. Olingan sharob materiallarida oqsil miqdori ahamiyatsiz edi, bu ularning barqarorligini oshirdi. Sharob tayyorlashda turli proteolitik ferment

preparatlaridan foydalanish texnologiyasini ishlab chiqish uchun ushbu sohada keng qamrovli izlanishlarga ehtiyoj bor.

Uzum pulpasini presslashdan oldin qayta ishlash, uning shubhasiz afzalliklari tufayli mahalliy vinochilikda keng qo'llaniladi: ferment preparatlari uzum pulpasini presslashni osonlashtiradi, hosildorlikni oshiradi, uning tozalanishini tezlashtiradi va kolloid loyqalanish tendentsiyasini kamaytiradi. Pulpa ichiga tozalangan ferment preparati kiritilganda oqsil, uzum pektini va boshqa polisaxaridlarning tezroq gidrolizi sodir bo'ladi, natijada tortish sharbat hosildorligi 10-20% ga oshadi; wortning filtrlash darajasi oshiriladi.

Sharbat va sharoblarning organoleptik xususiyatlari kamaymaydi.

Ferment preparatlari uzum, pulpa yoki majburiy og'irligi bo'yicha (preparatning faolligiga qarab) 0,0005 dan 0,03% gacha bo'lgan dozalarda qo'llaniladi.

Qizil uzum pulpasini (fenollarning oksidlanishiga yo'l qo'ymaslik uchun ozgina sulfitli) fermentativ ishlov berish 45-50 ° C haroratda 4 soat davomida xamirturushsiz yuqori sifatli qizil vinolarni fermentatsiyasiz olish imkonini beradi.

Sutni pektolitik preparatlar bilan qayta ishlash natijasida metil spirtining miqdori biroz oshadi, shuning uchun bunday ishlov berish konyak sharob materiallarini ishlab chiqarishda qo'llanilmaydi.

Sitolitik fermentlar preparatlari tsellyuloza, gemitsellyuloza va boshqalarni parchalaydi, bu esa sharbat hosildorligini oshirishga yordam beradi.

Uzumni qayta ishlash va vino tayyorlash paytida uzum va xamirturush fermentlari vinochilikning barcha biotexnologik jarayonlariga ta'sir qiladi. Eng katta ta'sir sharobni shakllantirish bosqichida, ya'ni fermentatsiya paytida namoyon bo'ladi. Shuning uchun, maqsadga qarab (bir yoki boshqa turdagi vinolarni olish), vino ishlab chiqaruvchi bu jarayonlarni fermentlar faolligini inhibe qilish orqali (stol sharoblari yoki shampan vinosi materiallarini tayyorlashda) yoki aksincha, ularning faolligini rag'batlantirishda (yuqori darajada ekstraksiyalashda) sharob).

Uzum tarkibida oksidlovchi fermentlar ko'p bo'lsa, bu sharoblarning qizarib ketishiga olib keladi (oksidaz kassasi). Bunday holda, vino ishlab chiqaruvchisi maxsus choralarni qo'llashi kerak: sulfitatsiya, bentonit bilan ishlov berish, pasterizatsiya va boshqalar.

Fermentatsiya jarayonida fermentativ jarayonlar alohida biotexnologik ahamiyatga ega. Asosiy moddalar (etil spirti, karbonat angidrid) hosil bo'lishi bilan birga xamirturush fermenti tizimlari ta'sirida ikkilamchi va yon birikmalar hosil bo'ladi. Ushbu moddalarning va birikmalarining barchasi sharobning organoleptik sifatlarini shakllantirishda muhim ahamiyatga ega bo'lib, sharob aromati va guldastasining umumiy fonini yaratadi.

Fermentatik jarayonlar (oksidlanish-qaytarilish, gidrolitik va boshqalar) biologik texnologiyasida, ayniqsa, sherri va shampan kabi sharob turlari muhim rol o'ynaydi. Ushbu jarayonlar birinchi yilda shishalarning sharob bilan ishdan keyingi qarishi paytida, shuningdek doimiy shampagnizatsiya paytida, sherri xamirturush plyonkasi ostida sherli vino materiallarining qarishi paytida juda kuchli tarzda sodir bo'ladi.

Sharob ishlab chiqarish amaliyotida turli mikroorganizmlardan (asosan mog'orlardan) olingan ferment preparatlari juda keng tarqalgan.

Sanoat pektolitik dorilarining pH qiymatining optimal ta'sir doirasi 4 .–.5 ga teng. Must va vinolarning pH zonasida ferment preparatlari faolligi 70% ga etadi. Dori vositalarining ta'sir qilishi uchun optimal harorat 35. –45 45S gacha. Shuning uchun, vinochilikda pulpani isitish tavsiya etiladi. Sharob tayyorlash amaliyotida pektolitik fermentlar preparatlaridan foydalanish sutning umumiy hosildorligini, shu jumladan, tortish sharbatini hosilini 30% gacha oshiradi, sutni tozalashni 2-3 baravar tezlashtiradi.

Pulpani fermentli preparatlar bilan uni qizdirish bilan birgalikda qayta ishlash jarayonning samaradorligini sezilarli darajada oshiradi.

Pulpa isitilgunga qadar o'rtacha dozalarda (150 mg / dm<sup>3</sup> gacha) sulfatlashtirilsa, u fenol va aromatik birikmalarning oksidlanishidan saqlaydi va sharobdagi rang va nav ohanglarini saqlab qolishga imkon beradi. Muskat vinolarini ishlab chiqarishda ushbu kombinatsiyalangan davolash ijobiy natijalar beradi. Bu muskat yong'og'i aromati sezilarli darajada ko'payishiga olib keladi, u quruq sharobda yaxshi saqlanadi.

Fermentlar kompleksi, jumladan gemitsellulaza, sellyulaza, sellobiyaz, shuningdek pektolitik va proteolitik fermentlar sitolitik ferment preparatlari. Ular ishlab chiqaruvchining xususiyatlariga va uni ishlab chiqarish sharoitlariga qarab har xil faoliyat turlariga ega.

Sharob tayyorlashda sitolitik fermentlar preparatlari wort hosildorligini oshirish uchun ishlatiladi. Pulpani ushbu preparatlar bilan optimal 40 °S haroratda qayta ishlash uzumdan olinadigan hosildorlikni oshiradi, uning tiniqlanishini tezlashtiradi, polisakkaridlarning gidrolizi natijasida tarkibidagi qand miqdorini oshiradi.

Sharob tayyorlashda proteolitik ferment preparatlaridan foydalanish tayyor sharoblarda oqsil loyqalanishini oldini olishga qaratilgan. Dori-darmon, sharob moddasi yoki sharobga kiritilishi oqsil moddalarining gidroliziga va undagi amin azotining ko'payishiga olib keladi. Ushbu muolaja yordamida sharob oqsil tumaniga chidamli bo'ladi.

Sharobni proteolitik ferment preparatlari bilan qayta ishlashda vinochilikda biokimyoviy jarayonlarning samaradorligi isitish bilan birlashganda sezilarli darajada oshadi.

## 2-QISM. Laboratoriya amaliyoti

### 2.1. Fermentlarning yo'qligiga sifatli reaksiyalar

Hayvonot va o'simliklardan kelib chiqqan to'qimalarda fermentlarning yo'qligi, ularning faoliyati tomonidan sifatli reaksiyalar yordamida aniqlanishi mumkin.

#### 2.1.1. Qonda katalaz faolligini aniqlash

Katalaza - hayvon va o'simlik to'qimalarida keng tarqalgan oksidlanish-qaytarilish fermenti. Katalazning biologik roli fiziologik oksidlanish-qaytarilish jarayonlarida hosil bo'lgan vodorod peroksidning toksik moddalarga bo'linishidir va patologik sharoitda ko'payadi. Reaksiya sxemasi:

katalaza



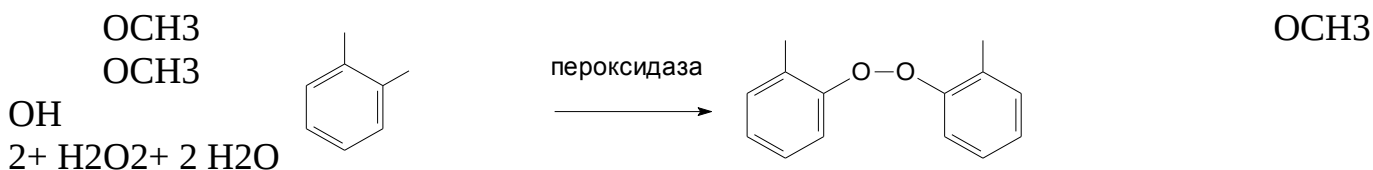
Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Defibrinlangan qon, 1% vodorod peroksid eritmasi. Qurilmalar. Sinov naychalari, pipetkalar.

Aniqlash jarayoni. Taxminan 1 ml qon probirkaga quyiladi va so'ngra 10 - 20 tomchi vodorod peroksid eritmasi qo'shiladi. Kislorod kuchli ravishda ajralib chiqadi va probirkadagi suyuqlik ko'piklanadi. Sinovni qaynatilgan qon bilan takrorlang. Farqga e'tibor bering.

## AMALIY MASHG'ULOTLAR

### 1-mavzu: Kartoshkada peroksidaza faoliyatini aniqlash

Redoks fermenti peroksidaza tabiatda keng tarqalgan. Ayniqsa, ko'p miqdorda bu ferment o'simlik to'qimalarida (horseradish, kartoshka va boshqalar) uchraydi. Hayvonlarda peroksidaza asosan qonda, mushak to'qimalarida va sutda uchraydi. Sut sanoatida peroksidaza reaksiyasi sutni pasterizatsiya qilish samaradorligini boshqarish uchun ishlatiladi. Peroksidaza ko'plab fenollarning (masalan, gidrokinon, pirogallol, guayakol, parafenilendiamin va boshqalarning) vodorod peroksid bilan oksidlanishini katalizlaydi. Shunday qilib, gvayakol kartoshka peroksidaza ishtirokida oksidlanganda reaksiyada jigarrang mahsulot hosil bo'ladi:



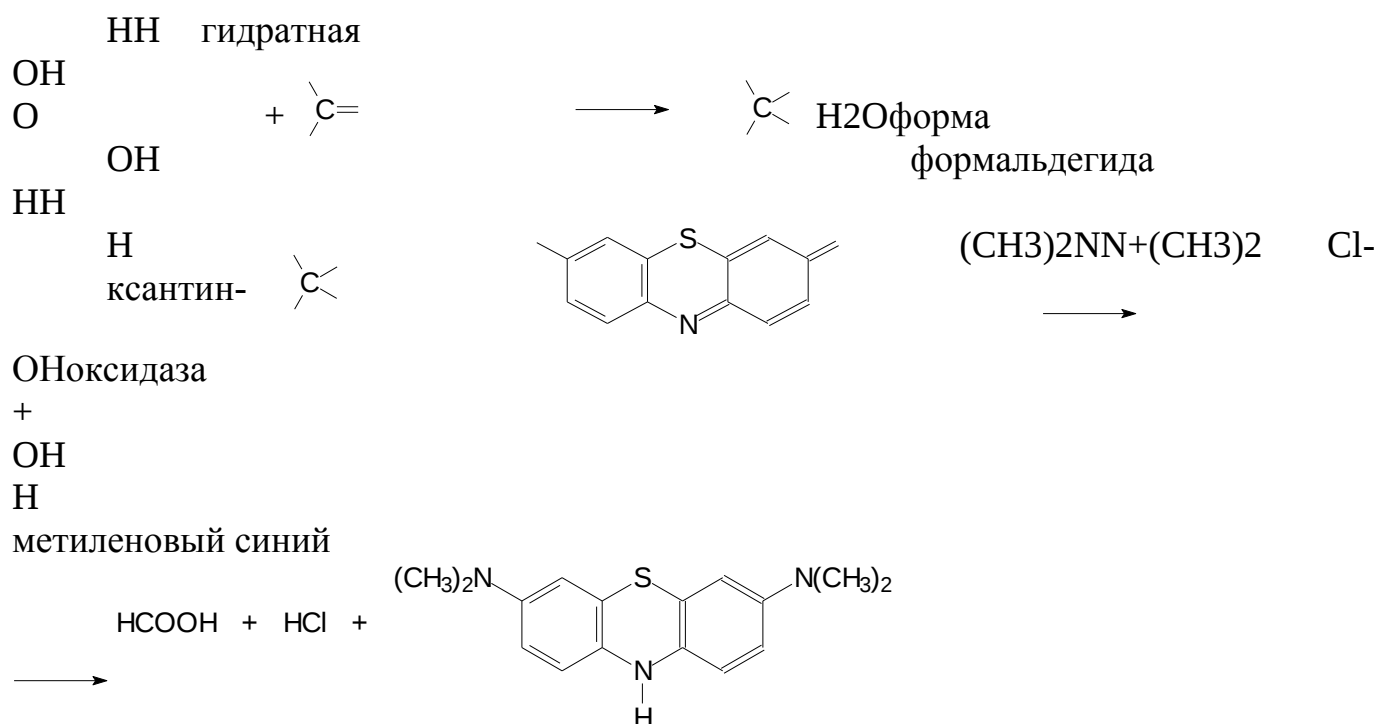
Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Xom va qaynatilgan kartoshka, 5% guayakol spirtli eritmasi, 1% vodorod peroksid eritmasi.

Qurilmalar. Pichoq, pipetka yoki tomizgich.

Aniqlash jarayoni. Kartoshkaning ingichka bo'lagiga (xom va qaynatilgan holda) 1 - 2 tomchi guayakol va vodorod peroksid eritmaları surtiladi. Gvayakolning oksidlanish mahsuloti hosil bo'lishi sababli xom kartoshkada jigarrang dog 'hosil bo'ladi. Qaynatilgan kartoshkada dog 'hosil bo'lmaydi. Natijalarni qayd etish va xom va qaynatilgan kartoshka bilan tajribalardagi farqlarni tushuntirish kerak.

### 2-XOM SUTDA KSANTINOKSIDAZ FAOLIYATINI ANIQLASH MAVZUSI

Ksantin oksidaza oksidaz deb ataladigan oksidlanish-qaytarilish fermentlari guruhiga kiradi. Oksidazlar ko'plab organik moddalarning kislorod ishtirokida oksidlanishini katalizlaydi. Shunday qilib, qonda va sigir sutida bo'lgan ksantin oksidaza purin asoslarini (gipoksantin va ksantin) siydik kislotasiga, shuningdek turli xil aldegidlarni mos keladigan karboksilik kislotalarga, masalan, formaldegiddan formik kislotaga oksidlaydi. Bunday holda, oksidlovchi substratning vodorod atomlarining akseptori kislorod yoki boshqa moddalar bo'lishi mumkin, masalan, sxema bo'yicha metilen ko'k:



rangsiz qisqartirilgan shakl

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Xom va qaynatilgan sut, 1,5% formaldegid eritmasi, 0,02% metilen ko'k eritmasi.

Qurilmalar. Sinov naychalari bo'lgan javonlar, 1 ml pipetka, suv hammomi.

Aniqlash jarayoni. Ikki probirkani oling, biriga 5 ml xom sut, ikkinchisiga 5 ml qaynatilgan sut quying. Ikkala probirkaga 1 ml formaldegid eritmasi va 4 tomchi metilen ko'k eritmasi qo'shiladi. Aralash chayqatiladi va harorati 37-40 ° S bo'lgan suv hammomiga joylashtiriladi.

Bir muncha vaqt o'tgach, birinchi probirkadagi sut metilen ko'kning ksantin oksidaz-katalizli rangsiz rangga tushganligi sababli rangsizlanadi. Bunda formaldegid oksidlanib formik kislotaga aylanadi. Qaynatilgan sut bilan ikkinchi sinov naychasida fermentning issiqlik denaturatsiyasi tufayli metilen ko'k rangining o'zgarishi bo'lmaydi.

#### 2.1.4. Tuprikdagi amilaza faolligini aniqlash

Tuprikning b-amilaza gidroliz fermenti maltoz disaxarid hosil bo'lishi bilan kraxmalning b-1,4-glikozidli bog'lanishlari gidrolizining reaksiyasini katalizlaydi. Kraxmalning bo'linishi dekstrinlar deb ataladigan oraliq gidroliz mahsulotlarini hosil bo'lish bosqichlaridan o'tadi, ular yod eritmasi bilan har xil rang beradi:

yod bilan kraxmalli ko'k

yod bilan amilekstrinlar ko'k rang

eritrodekstrinlar yod bilan qizil-jigarrang rang

yod maltozasi bilan yod bo'lmagan axrodekstrinlar yod bilan rangsiz

Kraxmalga yaqin dekstrinlar (amilodekstrinlar) yod bilan ko'k-binafsha rang beradi, eritrodekstrinlar - qizil-jigarrang, axrodekstrinlar va maltoza umuman rang bermaydi.

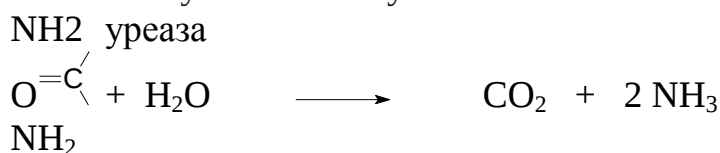
Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Tuprik 10-20 marta suyultiriladi, 1% kraxmal eritmasi, yod eritmasi.

Qurilmalar. Sinov naychalari, shisha tayoqchalar, soat stakanlari.

Aniqlash jarayoni. 5-10 ml 1% kraxmal eritmasi va 10-20 marta suyultirilgan taxminan 2 ml tuprik probirkaga quyiladi. Naychalarning tarkibi aralashtiriladi va harorati 37-40 ° S bo'lgan suv hammomiga joylashtiriladi. Keyin 2, 4, 6 va 8 daqiqadan so'ng probirkadan 1-2 tomchi kraxmal eritmasi shisha tayoq bilan olinadi va soat stakaniga bir tomchi yod eritmasi bilan aralashtiriladi. Avvaliga yod bilan suyuqlik ko'k rang beradi, so'ngra tomchilar asta-sekin quyuq jigarrang, yod bilan qizil rangga aylanadi va nihoyat ular umuman ranglanishdan to'xtaydi (yodning sariq rangi qoladi).

#### 2.1.5. Soya unidagi ureaz faolligini aniqlash

Urease - bu gidrolaza sinfining fermenti, bu karbamidning karbonat anhidrid va ammiakga gidrolizini reaksiyada katalizlaydi:



Karbamid soya fasulyasida uchraydi va ba'zi mikroskopik qo'ziqorinlar va bakteriyalar tomonidan sintezlanadi.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Soya uni, 2% karbamid eritmasi, 1% fenolftalein eritmasi.

Qurilmalar. Sinov naychalari bilan panjara, 5 ml pipetka, suv hammomi.

Aniqlash jarayoni. Ikkita probirkaga 5 ml karbamid eritmasi quyiladi va 0,5 g soya uni qo'shiladi. Ikkinchi naychaga 2 tomchi fenolftalein qo'shing. Ikkala naychaning tarkibi chayqatiladi va naychalar 5-10 daqiqa davomida 37-40 ° S haroratli suv hammomiga joylashtiriladi.

Siydik chiqarish faolligi ammiakni aniqlash orqali aniqlanadi. Birinchi sinov naychasida ammiakning chiqarilishi xarakterli hid bilan yoki kolba ochilishida nam lakmus qog'ozning ko'k rangda o'zgarishi bilan aniqlanadi. Ikkinchi sinov naychasining tarkibi ammiak hosilga qarab muhitning ishqoriy tomonga reaksiyasining siljishi amalga oshirilayotgan rangga ega bo'ladi.

#### 2.2. Fermentlarning nazoratlarini o'rganish

##### 2.2.1. Ferment ta'sir qilishning o'ziga xos xususiyati

Fermentlar katalizlangan reaksiyalar turiga ham, ular ta'sir qiladigan substratlarga ham xosdir. Shunday qilib, tuprikli amilaza oqsillarga ta'sir qilmasdan faqat polisakkaridlarning gidrolizini tezlashtiradi. Rennet sut kazeiniga ta'sir qiladi, ammo polisakkaridlarga va boshqalarga ta'sir qilmaydi.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. 1% kraxmal eritmasi, sut, so'lak 5-10 marta suyultiriladi, 0,1% yod eritmasi 0,2% kaliy yodid eritmasi, 1% rennet eritmasi.

Qurilmalar. Sinov naychalari, suv hammomi, 1 va 5 ml pipetkalar.

Aniqlash jarayoni. 4 ta probirkani oling, ularni raqamlang. 1 va 2 probirkalarga 5 ml kraxmal eritmasi, 3 va 4 probirkalarga 5 ml sut quyiladi. Keyin 1 va 3-naychalarga 1 ml suyultirilgan tupurik, 2 va 4-naychalarga esa 1 ml renat eritmasi qo'shiladi. Barcha 4

naycha harorati 37-40 ° S bo'lgan suv hammomiga 10-15 daqiqa davomida joylashtiriladi. Belgilangan vaqt o'tgach, naychalarda sut bilan sodir bo'lgan o'zgarishlar kuzatiladi va naychalarga yodning kaliy yodididan 2-3 tomchi eritmasi qo'shilishi bilan kraxmalning parchalanishi tekshiriladi. Olingan natijalar jadvalga kiritilgan. 10:

Jadval 10.

Состав реакционной среды.

| Компоненты               | 1 | 2 | 3 | 4 |
|--------------------------|---|---|---|---|
| Крахмал                  | + | + | — | — |
| Молоко                   | — | — | + | + |
| Амилаза                  | + | — | + | — |
| Сычужный фермент         | — | + | — | + |
| Изменение цвета раствора |   |   |   |   |

Eksperiment natijalari sut oqsilining qotib qolishi shpil ishtirokida kazeinning qisman gidrolizlanishi natijasida yuzaga kelishi va kraxmal faqat tuprik amilazasi ta'sirida parchalanishi bilan izohlanadi.

### 2.2.2. Fermentlarning termoluvchanligi

Fermentlarning xarakterli xususiyatlaridan biri termal barqarorlik, ya'ni. harorat o'zgarishiga ferment sezgirliigi. Ko'pgina fermentlar 70 ° C dan yuqori qizdirilganda katalitik xususiyatlarini yo'qotadilar, ya'ni. inaktiv qilingan.

Inaktivatsiya darajasi issiqlik ta'sir qilish muddatiga bog'liq. Kraxmal gidrolizining amilaza bilan tezlashishini o'rganish orqali fermentlarning termolabelligini tekshirish mumkin.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. 1% kraxmal eritmasi, tupurik 10 marta suyultiriladi, 0,1% yod eritmasi 0,2% kaliy yodid eritmasida.

Qurilmalar. Sinov naychalari, suv hammomi, 1 va 5 ml pipetkalar.

Aniqlash jarayoni. 5-8 daqiqa davomida qaynatilgan 1 ml ga yaqin suyultirilgan tupurik probirkalarning biriga, ikkinchisiga taxminan 1 ml qaynatilmagan suyultirilgan tupurik quyiladi. Ikkala probirkaga 3 ml kraxmal eritmasi quyiladi. Naychalarning tarkibi aralashtiriladi va quvurlar harorati 37-40 ° S bo'lgan suv hammomiga 10 daqiqa davomida joylashtiriladi.

Keyin ikkala probirkaga 2-3 tomchi yod eritmasi qo'shiladi va kraxmal gidrolizining borishi haqidagi aralashmalar rangidan xulosa chiqariladi.

### 3-ATROF-MUHIT PH NING FERMENTLARNING FAOLLIGIGA TA'SIRI

Turli xil fermentlar uchun fermentning eng faol bo'lgan pH qiymatlari (eritmaning kislotali) mavjud (pH tegmaslik).

Masalan, pepsin uchun tegmaslik pH 1,5-2,5, ishqoriy fosfataza uchun pH 9-10 va hokazo. Tuprikli amilaza uchun tegmaslik pH 6,8; kislotali va ishqoriy muhitda amilaza faolligi pasayadi. Tuprikli amilaza uchun optimal pH har xil pH qiymatlarida kraxmal gidroliz darajasini aniqlash orqali o'rnatilishi mumkin. Kraxmalning parchalanishi uning yod eritmasi bilan reaksiyasi bilan baholanadi.

Ma'lum bir pH qiymatida kraxmalning parchalanishi to'liq sodir bo'ladi, ammo bu nuqtadan kislotali yoki ishqoriy muhitga o'tishda kraxmal parchalanishi qisman sodir bo'ladi yoki kraxmal umuman bo'linmaydi.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Tuprik 10-20 marta suyultiriladi, 1% kraxmal eritmasi, yod eritmasi, pH 3.0, 7.0 va 9.0 bo'lgan bufer eritmalari.

Qurilmalar. Sinov naychalari, termostat yoki 37-40 ° S suvli hammom bilan jihozlangan panjara.

Aniqlash jarayoni. 3 ta suyultirilgan tuprik uchta probirkaga quyiladi. Sinov naychalariga pH qiymati 3,0 bo'lgan 1 ml bufer eritma qo'shing; 7.0 va 9.0 navbati bilan va 3 ml kraxmal eritmasi. Naychalarning tarkibi aralashtiriladi va harorati 37-40 ° S bo'lgan suv hammomiga joylashtiriladi.

10 daqiqadan so'ng probirkalar chiqariladi, har biriga 2-3 tomchi yod eritmasi qo'shiladi va kraxmal gidroliz darajasi suyuqlik rangiga qarab baholanadi. Kuzatish natijalari jadvalga kiritilgan. 2 va amilaza fermenti ta'sirining optimal pH qiymati to'g'risida xulosa qiling.

Jadval 11.

A-amilazning optimal pH qiymatini o'rganish.

| Probirka nomeri | pH eritmasi | Yod bilan bo'yash |
|-----------------|-------------|-------------------|
| 1               | 3,0         |                   |
| 2               | 7,0         |                   |
| 3               | 9,0         |                   |

### 4-MAVZU: FERMENTLARNING FAOLLIGIGA TA'SIR QILUVCHI OMILLAR (AKTIVATORLAR VA INHIBITORLAR)

Aktivatorlar va inhibitorlar to'g'ridan-to'g'ri yoki bilvosita (allosterik) fermentning faol joyiga ta'sir qiladi va uning katalitik faolligini o'zgartiradi. Aktivatorlar ko'pincha I yoki II guruh metal ionlari, ba'zi anionlar, glutation tripeptid va boshqalar. Inhibitorlar noorganik tuzlar, oraliq yoki oxirgi reaksiya mahsulotlari, substratlarning struktur analoglari, ba'zi

oqsillar va boshqa moddalar bo'lishi mumkin. Aktivatorlar va inhibitorlarning ta'sirini amilaza faolligi misolida kuzatish mumkin.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Tuprik 3-5 marta suyultiriladi, 1% kraxmal eritmasi, 1% natriy xlorid eritmasi, 1% mis sulfat eritmasi, yod eritmasi.

Qurilmalar. Sinov naychalari, 1 va 5 ml pipetkalar bilan jihozlangan panjara.

Aniqlash jarayoni. 3 ta suyultirilgan tuprik uchta probirkaga quyiladi. Birinchi probirkaga 1 ml natriy xlorid eritmasi, ikkinchisiga 1 ml 1% mis sulfat eritmasi, uchinchisiga 1 ml suv soling. Shundan so'ng, har bir naychada 1 ml kraxmal eritmasi o'lchanadi va xona haroratida 15 daqiqa davomida qoldiriladi.

Keyin har bir probirkadan 0,5 ml tarkibidagi moddalarni boshqa probirkalarga oling, u erga bir tomchi yod eritmasi qo'shing va rangini kuzatib boring. Xuddi shu narsa 5 minut oralig'ida ikki marta amalga oshiriladi.

Natijalar jadvalda qayd etilgan. 3 va xulosalar chiqaring.

| Время инкубации,<br>мин | краска<br>с йод |                   |                  |
|-------------------------|-----------------|-------------------|------------------|
|                         | NaCl            | CuSO <sub>4</sub> | H <sub>2</sub> O |
| 5                       |                 |                   |                  |
| 10                      |                 |                   |                  |
| 15                      |                 |                   |                  |

### 2.3. Fermentlar faolligini miqdoriy aniqlash usullari

Fermentlarning faolligi odatda substratni yo'qotish tezligi yoki reaksiya mahsulotlarining to'planish tezligi bilan belgilanadi. Katal (kat) fermentlar faolligining birligi sifatida qabul qilinadi, bu 1 soniyada 1 mol substratning konversiyasini katalizlaydigan ferment miqdoriga teng. Bundan tashqari, bir nechta birlik ishlatiladi, masalan, 1 nkat (nanokatal), ya'ni. 1 10<sup>-9</sup> mushuk. Fermentlar faolligining xalqaro birligidan kengroq foydalaniladi. Xalqaro bo'linmalardagi faollik mikromollarda substratning 1 minutga aylantirilgan miqdoriga to'g'ri keladi: 1E = 1 mmol / min.

Maxsus faollik - bu faollikning tozalangan ferment massasiga yoki oqsil massasiga nisbati. U mushuk / kg yoki U / mg bilan ifodalanadi.

## 15-MAVZU: O'SIMLIK URUG'INING LIPAZ FAOLLIGINI ANIQLASH

Gidrolitik ferment lipaza hayvon va o'simlik to'qimalarida keng tarqalgan. Ayniqsa, uning ko'p qismi oshqozon osti bezi, mushak to'qimalarida, turli o'simliklarning urug'larida uchraydi; shuningdek, u mog'or va ba'zi bakteriyalar tomonidan hosil bo'ladi. Lipaza yog'larning glitserol va yog 'kislotalariga parchalanish reaksiyasini katalizlaydi, bu odatda birinchi holatda yog' kislotasi qoldig'ining bo'linishi bilan boshlanadi:



Olingan yog 'kislotalarini gidroksidi bilan zararsizlantirish mumkin. Lipaza faolligi ma'lum bir vaqt ichida hosil bo'lgan erkin yog 'kislotalarini titrlash uchun ishlatiladigan gidroksidi miqdori bilan baholanadi.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Pasterizatsiya qilingan sut, oshqozon osti bezi lipazasi, 0,1N va 0,01N natriy gidroksid eritmalari, 0,1% fenolftalein eritmasi.

Qurilmalar. Konusli kolbalar, 100 ml, graduslangan pipetka, 1 ml, suv hammomi, 37 ° C da termostat.

Aniqlash jarayoni. Kolbada 50 ml pasterizatsiyalangan sutni o'lchab, unga 3-5 tomchi fenolftalein tomiziladi va 30 sekund ichida biroz pushti rang yo'qolmaguncha 0,1 N NaOH eritmasi bilan zararsizlantiriladi. Keyin kolba 3-5 daqiqa davomida 37-40 ° S haroratda bo'lgan suv hammomiga joylashtiriladi va keyin unga 3 ml lipaz eritmasi qo'shiladi (vaqtni payqab). Kolbadagi moddalar yaxshilab aralashtiriladi, 5 ml aralashmani konus shaklidagi kolbaga olib, oqar suv oqimi ostida sovutiladi va mikropipetkadan 0,01N NaOH eritmasi bilan titrlanadi. Olingan natijalar vertikal ravishda titrlash uchun ishlatilgan 0,1 N NaOH eritmasi miqdorini va gorizont ravishda inkubatsiya vaqtini chizish orqali ifodalanadi.

A faolligi mmol / min da quyidagi formula yordamida hisoblanadi:

$$A = (V_3 - V_0) / 0,9.$$

### 2.3.2. Tripsin faolligini aniqlash

Tripsin gidrolazalar sinfiga, peptid gidrolazalar (proteolitik fermentlar) ning subklassiga kiradi. U oqsillar va polipeptidlardagi peptid bog'lanishlarining bo'linish reaksiyasini katalizlaydi. Tripsinning faolligini ushbu ferment bilan inkubatsiya qilingan kazein tarkibidagi amin azotining ko'payishi bilan baholash mumkin.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Kazein eritmasi, tripsin eritmasi, 0,1 n natriy gidroksid eritmasi, formalin eritmasi (formol), 1% fenolftalein eritmasi.

Qurilmalar. Konusli kolbalar, 100 ml, pipetka 10 ml, suv hammomi, 37 ° C da termostat.

Aniqlash jarayoni. Kolbada 50 ml kazein eritmasini o'lchab, suv hammomida 35-37 ° S gacha qizdiring va 2 ml tripsin qo'shing. Zudlik bilan 10 ml eritma olinadi va unda amin azoti formol titrlash orqali aniqlanadi. Kazein va tripsin bilan kolba 37 ° C da termostatga joylashtiriladi, so'ngra 30, 60 va 90 daqiqadan so'ng 10 ml eritma olinadi va olingan namunalarda omin azot miqdori aniqlanadi. Omin azotining ko'payishi grafik ravishda amin azotining miqdorini vertikal ravishda va inkubatsiya vaqtini gorizont ravishda chizish orqali ifodalanadi). A faolligini mkmol / min ga hisoblang

formula:  $A = (V_3 - V_0) / 0.18$  Amin azotini formol titrlash bilan aniqlash.

10 ml sinov eritmasiga 5-6 tomchi fenolftalein qo'shiladi va 0,1 N NaOH eritmasi bilan ozgina pushti ranggacha (hajmini yozmasdan) titrlanadi. Keyin eritmaga 2 ml formol qo'shiladi va yana 0,1 N NaOH eritmasi bilan bir oz pushti ranggacha (hajmini yozib) titrlaydi. Formul qo'shilgandan keyin iste'mol qilingan gidroksidi miqdori 1,4 ga ko'paytirilib, amin azotining mg miqdorida olinadi (1 ml 0,1 n NaOH eritmasi 1,4 mg amin azotiga to'g'ri keladi).

### 2.3.3. Amilaza faolligini aniqlash usullari

#### 2.3.3.1. Amilaza faolligini ketma-ket suyultirish usuli bilan aniqlash.

Usul barcha qo'shilgan kraxmalni standart sharoitlarda (optimal pH va harorat) to'liq parchalaydigan eng kichik amilaza miqdorini aniqlashga asoslangan. Tuprikning amilaza faolligi 0,1% kraxmal eritmasi miqdori bilan ifodalanadi, u 30 daqiqa davomida 37 ° C da 1 ml suyultirilmagan tupurik bilan parchalanadi. Odatda tuprikning amilaza faolligi 160 - 320 ga teng.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. 10 marta suyultirilgan tupurik (1 ml tuprik 9 ml suv bilan aralashtiriladi), 0,1% kraxmal eritmasi, yod kaliyidagi yod eritmasi.

Qurilmalar. Sinov naychalari bo'lgan raft, 1 ml pipetka, 37 ° S haroratda termostat.

Aniqlash jarayoni. 10 ta probirkaga 1 ml suv quyiladi. Keyin birinchi naychaga 10 marta suyultirilgan 1 ml tuprik qo'shing va yaxshilab aralashtiring. Keyin birinchi naychadan 1 ml suyuqlik ikkinchi naychaga o'tkaziladi va u ham yaxshilab aralashtiriladi. Undan 1 ml suyuqlik uchinchi probirkaga va hokazolarga o'tkaziladi, oxirgi (o'ninchi) probirkadan 1 ml aralashma quyiladi. Har bir naychaga 1 ml kraxmal eritmasi qo'shiladi va aralashtiriladi. Barcha naychalar 37 daqiqa davomida 30 minut termostatga joylashtiriladi. Kuluçkadan keyin naychalar musluk suvi bilan soğutulur va 1-2 tomchi yod eritmasi qo'shiladi. Probirkalardagi suyuqlik sariq, pushti va binafsha rangga aylanadi. Kuzatish natijalari jadvalga kiritilgan. 13:

Jadval 13.

Suyultirish usuli bilan ferment faolligini aniqlash.

| Окраска с йодом | Разведение слюны в пробирках |          |          |          |          |          |           |           |           |            |
|-----------------|------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|------------|
|                 | 1/2                          | 1/4      | 1/8      | 1/16     | 1/32     | 1/64     | 1/12      | 1/25      | 1/51      | 1/102      |
|                 | 0<br>(1)                     | 0<br>(2) | 0<br>(3) | 0<br>(4) | 0<br>(5) | 0<br>(6) | 80<br>(7) | 60<br>(8) | 20<br>(9) | 40<br>(10) |
| Желтая          |                              |          |          |          |          |          |           |           |           |            |
| Розовая         |                              |          |          |          |          |          |           |           |           |            |
| Фиолетовая      |                              |          |          |          |          |          |           |           |           |            |

Kraxmal gidrolizi to'liq o'tgan suyuqlikning sariq rangidagi oxirgi probirkasini belgilang va tuprikning amilaza faolligini hisoblang.

Misol. Aytaylik, tupurik 160 marta suyultirilgan to'rtinchi probirkada sariq rang paydo bo'ldi. Suyultirish qiymatini 2 ga ko'paytiramiz (tajribadagi kraxmal eritmasi ml da), biz bu eritma uchun amilaza sonini olamiz  $160 \cdot 2 = 320$ , ya'ni. 1 ml suyultirilmagan tupurik tarkibidagi amilaza ta'siri ostida 320 ml 1% kraxmal eritmasi bo'lindi.

#### 2.3.3.2. Fotoklorimetrik usul bilan alfa-amilaza faolligini aniqlash.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. 10 marta suyultirilgan tupurik (1 ml tuprik 9 ml suv bilan aralashtiriladi), 0,15% indikatorli kraxmal eritmasi, yod kaliyidagi yod eritmasi ( $D_{400} = 0,22 \pm 0,01$ ). Kraxmal eritmasini tayyorlash: 1,5 g indikatorli kraxmalni torting, 100 ml hajmdagi kolbaga o'tkazing, taxminan 30 ml distillangan suv soling, opalans paydo bo'lguncha doimiy aralashtirib qaynab turgan suv hammomiga soling. Kolbani sovutib, ustiga 10 ml atsetat tampon eritmasi (pH 4.7) qo'shing, distillangan suv bilan kolbadagi hajmini 100 ml ga etkazing.

Qurilmalar. Sinov naychalari, 50 ml lik kolbalar, 1 va 10 ml pipetkalar, 37 °S haroratdagi termostat, fotoelektrik kolorimetr bilan jihozlangan tokcha.

Belgilanishi: 5 ml tekshiriladigan ferment eritmasi (masalan, tuprikning 10 marta suyultirilgan eritmasi) 5-7 daqiqa davomida 37 ° C haroratda termostatda saqlanadi, so'ngra 10 ml kraxmal eritmasi qo'shiladi. Termostatni 37 °S da 10 daqiqa ushlab turing. Aralashdan 0,25 ml olinadi, 50 ml lik kolbaga joylashtiriladi, bu erda ilgari 25 ml yod reagenti qo'shilgan ( $D_{400} = 0,22 \pm 0,01$ ). Qatlam qalinligi 10 mm bo'lgan kyuvetdagi spektrofotometrda 670 nm to'lqin uzunligidagi optik zichlikni o'lchang.

A-amilaza faolligi quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$(D_k - D_o) / D_k \cdot 0.1 = C$ , bu erda

$0,02 < C < 0,07$

$D_k$  - boshqarish eritmasining optik zichligi;

$D_o$  - tekshirilayotgan eritmaning optik zichligi;

$C$  - sinov va boshqarish eritmalarining optik zichligi nisbatini ifodalaydigan o'lchovsiz qiymat.

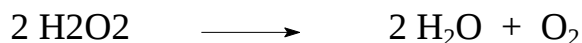
$a$  - naslchilik.

Amilolitik faollik =  $(7.26 \cdot C - 0.03766) / a$ .

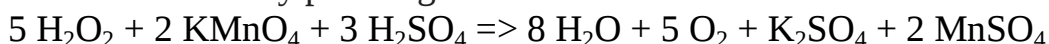
#### 2.3.4. Katalaza faolligini aniqlash usullari.

Katalaza fermenti xom sutda, ayniqsa, katalaza miqdori og'iz suti va mastit bilan kasallangan hayvonlardan olingan sutda uchraydi. Katalaza, shuningdek, odam va hayvonlar qonida, va o'simlik antioksidant tizimining tarkibiy qismlaridan biri bo'lgan har qanday o'simlik va hayvon to'qimalarida mavjud. Katalaza vodorod peroksidning suvga va molekulyar kislorodga parchalanishiga sabab bo'ladi:

katalaza



Katalaza faolligini ma'lum bir tajriba sharoitida 30 daqiqada yo'q qilingan milligramm vodorod peroksid soni bilan ifodalash mumkin. Vodorod peroksid mavjudligini aniqlash uchun titrlash kaliy permanganat kislotali muhitda ishlatiladi:



##### 2.3.4.1. Sutning katalaz faolligini usul bilan aniqlash

A.N. Bax va S.R. Zubkova

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. 2 marta suyultirilgan xom sut (5 ml sut 5 ml suv bilan aralashtiriladi), 1% vodorod peroksid eritmasi, 10% sulfat kislota eritmasi, 0,1 n kaliy permanganat eritmasi.

Qurilmalar. 100 ml konusli kolbalar, 5 va 10 ml gradusli pipetkalar, 1 ml pipetkalar.

Aniqlash jarayoni. Ikki konusli kolbalarda 7 ml distillangan suv olinadi. Keyin ulardan biriga 2 marta suyultirilgan 1 ml xom sut, ikkinchisiga 1 ml suyultirilgan, lekin oldin qaynatilgan sut qo'shiladi. Ikkala kolbaga 1 ml 1% vodorod peroks eritmasi qo'shiladi va 30 daqiqaga qoldiriladi.

Keyin katalaza ta'sirini to'xtatish uchun har bir kolbaga 3 ml 10% sulfat kislota qo'shiladi va vodorod peroksidning qoldiq miqdori kaliy permanganatning 0,1 n eritmasi bilan och pushti rang paydo bo'lguncha titrlanadi. Nazorat va eksperimental titrlash o'rtasidagi farq, ferment ishtirokida ajratilgan vodorod peroksid miqdoriga teng bo'lgan permanganat miqdorini topish uchun ishlatiladi.

Misol. Nazorat namunasini titrlash uchun 8 ml, tajriba uchun 2 ml 0,1 N  $\text{KMnO}_4$  eritmasi ishlatilgan deb taxmin qilaylik. 1 ml 2 marta suyultirilgan sut tarkibidagi katalaz bilan parchalanadigan vodorod peroksid miqdori  $8 - 2 = 6$  ml ni tashkil qiladi yoki  $6 \cdot 1,7 = 10,2$  mg (1 ml 0,1 n  $\text{KMnO}_4$  eritmasi 1,7 mg peroksid vodorodga teng). Binobarin, 1 ml xom sut tarkibida 30 daqiqada  $10,2 - 2 = 8,2$  mg vodorod peroksni parchalashga qodir katalaza miqdori mavjud.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Kartoshka, 1% vodorod peroksid eritmasi, 10% sulfat kislota eritmasi, 0,1 n kaliy permanganat eritmasi.

Qurilmalar. Volumetrik kolbalar 100 ml va konusli kolbalar 200 ml, 5 va 20 ml gacha bo'lgan pipetkalar, voronkalar, byuretkalar.

Aniqlash jarayoni. 1 g xom kartoshkani ohakda kvarts qumi bilan maydalab, asta-sekin 2-3 ml suv soling. Muhitning kislotaliligini kamaytirish uchun karbonat angidrid pufakchalari chiqishi to'xtaguncha spatulaning uchiga kaltsiy karbonat qo'shing. Poundinglangan massa miqdoriy hajmdagi kolbaga o'tkaziladi va suyuqlik hajmi 100 ml gacha suv bilan keltiriladi.

Aralash 30-60 daqiqa davomida turib, keyin buklangan filtr orqali filtrlanadi. 200 ml bo'lgan ikkita konusning kolbalarida, o'lchash pipetkasi bilan 20 ml ekstrakti oling va ulardan biri qaynatiladi (nazorat namunasi). Ikkala kolbaga 2 ml 1% vodorod peroksid eritmasi qo'shiladi va xona haroratida 30 daqiqa davomida qoldiriladi. Keyin katalaza ta'sirini tugatish uchun har bir kolbaga 3 ml 10% sulfat kislota qo'shiladi va vodorod peroksidning qoldiq miqdori 0,1 n kaliy permanganatning eritmasi bilan och pushti rang paydo bo'lguncha titrlanadi.

Nazorat va eksperimental titrlash o'rtasidagi farq, ferment ishtirokida ajratilgan vodorod peroksid miqdoriga teng bo'lgan permanganat miqdorini topish uchun ishlatiladi.

Misol. Nazorat namunasini titrlash uchun 8 ml, tajriba uchun 2 ml 0,1 N  $\text{KMnO}_4$  eritmasi ishlatilgan deb taxmin qilaylik. Katalaza bilan parchalanadigan vodorod peroksid miqdori  $8 - 2 = 6$  ml ni tashkil qiladi yoki  $6 \cdot 1,7 = 10,2$  mg (1 ml 0,1 N  $\text{KMnO}_4$  eritmasi 1,7 mg vodorod peroksidga teng).

Binobarin, 1 g xom kartoshka tarkibida 30 daqiqada  $10,2 \cdot 5 = 51$  mg vodorod periksni parchalashi mumkin bo'lgan katalaza miqdori mavjud. Shunday qilib,  $m(H_2O_2) = (V_{\text{control}} - V_{\text{experiment}}) \cdot 1,7 \cdot 5$

### 2.3.5. Renal faollikni aniqlash

Rennet sutni pishirish qobiliyatiga ega va tvorog va pishloq ishlab chiqarishda keng qo'llaniladi. Rennning faolligi ixtiyoriy birliklarda ifodalanadi, ular 1 g ferment ta'sirida  $35^\circ\text{C}$  haroratda 40 minut davomida susayadigan sut miqdorini tavsiflaydi.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Xom sut, 1% rennet eritmasi (chang).

Qurilmalar. 100 ml stakan, 1 ml gradusli pipetka, sekundomer, suvli hammom (tajriba davomida hammom harorati  $35^\circ\text{C}$  bo'lishi kerak).

Aniqlash jarayoni. 50 ml sut stakanga quyiladi va  $35^\circ\text{C}$  haroratli suv hammomiga joylashtiriladi. 3-5 daqiqadan so'ng sutga 0,5 ml 1% rennet eritmasi qo'shing, tezda aralashtiring va sekundomerni yoqing.

Stakanni muloyimlik bilan silkitib yoki shisha tayoq bilan sutga tegizish orqali sutning ivishini kuzatib boring; po'stlar va pıhtınin paydo bo'lishi pıhtılaşma boshlanishini ko'rsatadi. Pıhtılaşma davomiyligi soniya hisoblagich yordamida qayd etiladi, ya'ni sutga shovqin paydo bo'lgan paytdan boshlab po'stlar paydo bo'lguncha vaqt. Renet faolligi quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$a \cdot 40$

$X = \frac{\quad}{0,005 \cdot n}$

bu erda X - an'anaviy bo'linmalardagi renalning faolligi (kub); a - olingan sut miqdori, ml; n - sut koagulyatsiyasining davomiyligi, daqiqa.

Misol. 0,005 g ga to'g'ri keladigan 50 ml sutga 0,5 ml 1% rennet eritmasi qo'shing. 4 daqiqa davomida siqilgan sut. Fermentlarning faolligi quyidagilarga teng bo'ladi:

$50 \cdot 40$

$X = \frac{\quad}{0,005 \cdot 4} = 100\,000 \text{ y.e.}$

Shuning uchun 1 g rennet  $35^\circ\text{C}$  haroratda 40 daqiqa davomida 100 kg sutni koagulyatsiya qiladi.

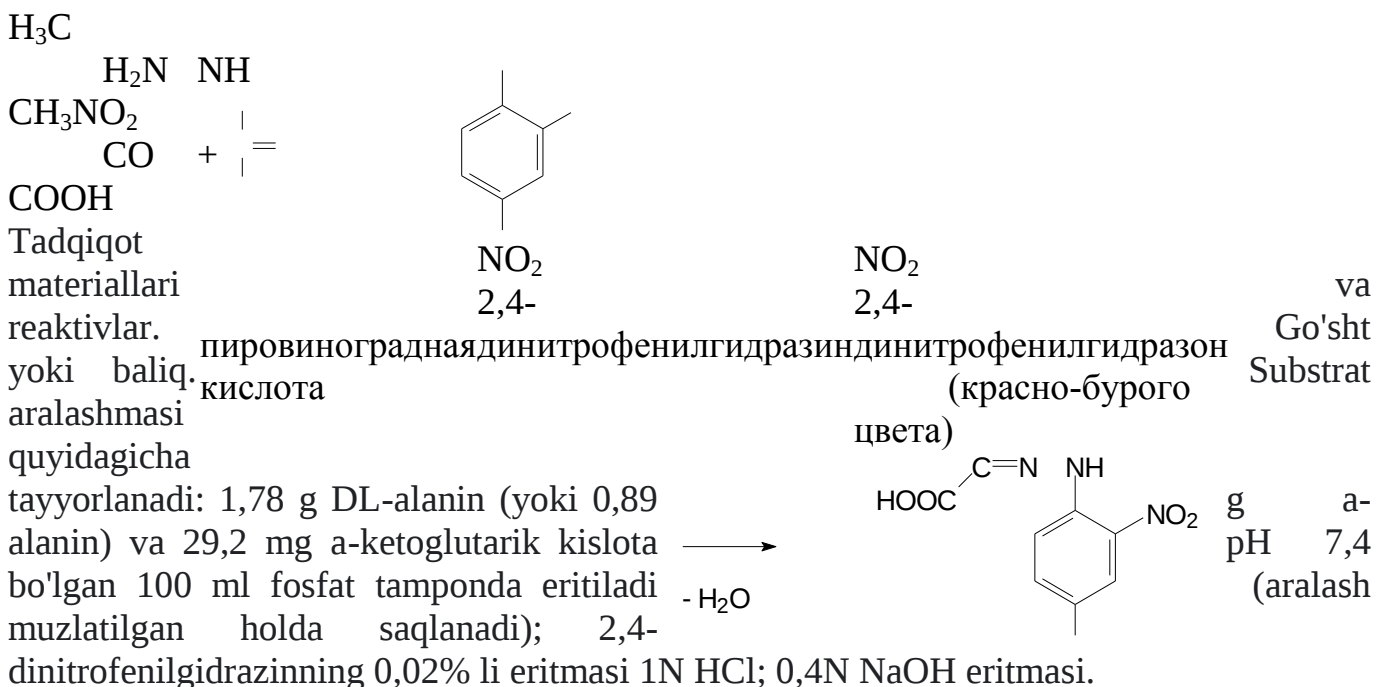
### 2.3.6. Hayvonlarning mushak to'qimalarida alanin aminotransferaza faolligini aniqlash

Aminotransferazlar (transaminazlar) aminokislotalarning aminokislotalardan keto kislotalarga molekulararo o'tkazilishini katalizlaydi va piridoksal fosfat bu reaksiyada aminoguruhning oraliq akseptori vazifasini bajaradigan koenzim bo'lib xizmat qiladi. Masalan, alanin aminotransferaza (ALT) aminoguruhning alanindan a-ketoglutarik kislotaga o'tishini katalizlaydi:



Hosil bo'lgan piruvik kislota miqdori bo'yicha ferment faolligini baholash mumkin. Piruv kislotalari kolorimetrik ravishda 2,4 dinitrofenilgidrazin bilan rang reaksiyasi bilan aniqlanadi va bu rang hosil bo'lishiga olib keladi.

Sxema bo'yicha 2,4-dinitrofenilhidrazon:



Qurilmalar. D = 560 nm bo'lgan yashil filtrli va ish masofasi 10 mm bo'lgan kyuvetalar bilan FEK-N-57 fotoelektrik kolorimetri; 38 ° S haroratda termostat.

Taraqqiyot. Texnik tarozida taxminan 0,4 g go'sht yoki baliqni torting (0,01 g aniqlikda) va 4 ml suv qo'shgandan so'ng uni kvarts qumi bilan ohakda maydalang. Olingan homogenat qog'oz filtri orqali filtrlanadi. Ikki probirkaga 0,5 ml yangi eritilgan substrat aralashmasi qo'shiladi, biriga 0,2 ml suv (nazorat), ikkinchisiga 0,2 ml homogenat filtrat qo'shiladi. Ikkala naychadagi moddalar yaxshilab aralashtiriladi va + 38 ° S haroratda 30 minut davomida termostatga joylashtiriladi.

Shundan so'ng 0,5 ml 0,02% 2,4-dinitrofenilgidrazinning eritmasi ikkala naychaga qo'shiladi va xona haroratida 15 daqiqa davomida qoldiriladi. So'ngra har bir naychaga 5,0 ml natriy gidroksid eritmasi qo'shiladi, aralashtiriladi va boshqaruv eritmasiga nisbatan ishchi eritmaning optik zichligi o'lchanadi.

Alanin aminotransferaza faolligi ixtiyoriy birliklarda ifodalanadi. Faoliyat birligi sifatida 1 daqiqada 1 mmol piruv kislotasining hosil bo'lishi olinadi. Piruvik kislota miqdori piruvik va  $\alpha$ -ketoglutarik kislotalarning dinitrofenilhidrazonlarini o'z ichiga olgan har xil konsentratsiyadagi bir qator standart eritmalar yordamida tuzilgan kalibrlash egri chizig'idan topiladi. Faoliyat (A) formula bo'yicha hisoblanadi

$$A = \frac{C}{M \cdot t}$$

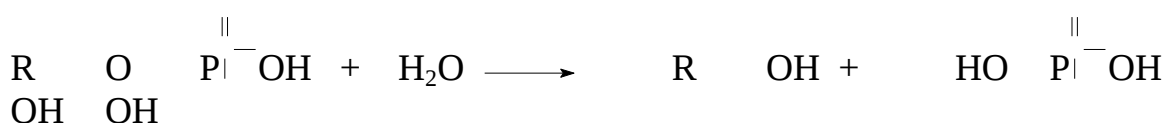
bu erda C - pirol kislotasi mmoldagi miqdori;

M - go'sht yoki baliqning grammdagi vazni, 20 ga bo'linadi (chunki tajribada hosil bo'lgan gomogenatning 1/20 qismi ishlatiladi); t - inkubatsiya vaqti (30 min).

### 2.3.7. Fosfatazalarning faolligini aniqlash usullari

Fosfatazalar - bu hayvonlar va o'simliklar to'qimalarida mavjud bo'lgan va reaksiyadagi fosfor kislotasi efirlari va alkogollari yoki fenollari molekulalaridan fosfat qoldig'ining parchalanishini katalizlovchi gidrolaza sinfining fermentlari:

Fosfataza



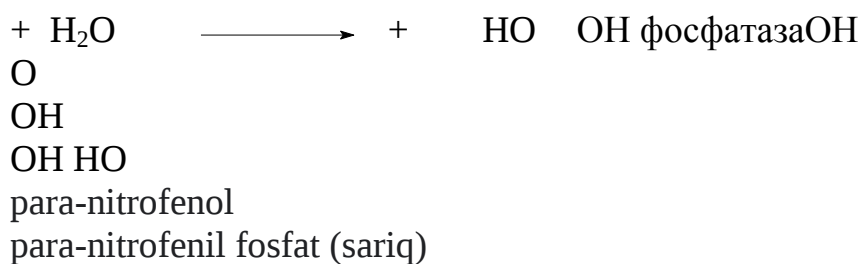
Optimal pH qiymatiga ko'ra fosfatazalar kislotali yoki ishqorli bo'lishi mumkin. Ular to'qimalar va hujayralardagi lokalizatsiya bilan farq qiladi. Kislota fosfataza faolligini aniqlash kolbasa sifatini nazorat qilishda va ishqoriy - pasterizatsiya qilingan sutda ishlatilishi mumkin.

#### 2.3.7.1. Go'sht va kolbasa tarkibidagi kislota fosfataza faolligini aniqlash

Pishgan kolbasa ishlab chiqarishda go'shtni issiqlik bilan ishlov berish jarayonida kislotali fosfataza to'liq yo'q qilinadi (buning uchun 20 daqiqa ta'sir qilish bilan 80 ° S harorat talab etiladi). Shu sababli, pishirilgan kolbasa tarkibidagi ushbu fermentning qoldiq faolligini aniqlash uni ishlab chiqarish jarayonida mahsulotlarning sifatini nazorat qilish uchun ishlatilishi mumkin bo'lgan termal rejimning buzilishini ko'rsatadi.

Kislota fosfatazasini aniqlash usuli uning natriy tuzi sxema bo'yicha sariq rangga bo'yalgan para-nitrofenil fosfatning gidrolizini para-nitrofenol hosil bo'lishi bilan katalizatsiyalash qobiliyatiga asoslangan:





Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Go'sht, qaynatilgan kolbasa. Bir hil 1N sirka kislotasi eritmasi va besh xajmli 1N natriy asetat eritmasi aralashtirilib tayyorlanadigan atsetat tampon eritmasi pH 5.4. Natriy gidroksid eritmasi (40%). Substrat eritmasi: 0,8 g para-nitrofenil fosfatning bariy tuzini 100 ml 0,001 n xlorid kislotada eritib oling, eritma cho'kindidan filtrlanadi va agar sariq rangga ega bo'lsa, uni ajratuvchi voronkada 2-3 marta silkiting. dietil efir bilan efirdan ajratilgan rangsiz suvli qatlam olinmaguncha. Substrat eritmasini qorong'i shishada sovuqda saqlang.

Qurilmalar. Sinov naychalari, termostat, voronkalar, qog'oz filtrlari.

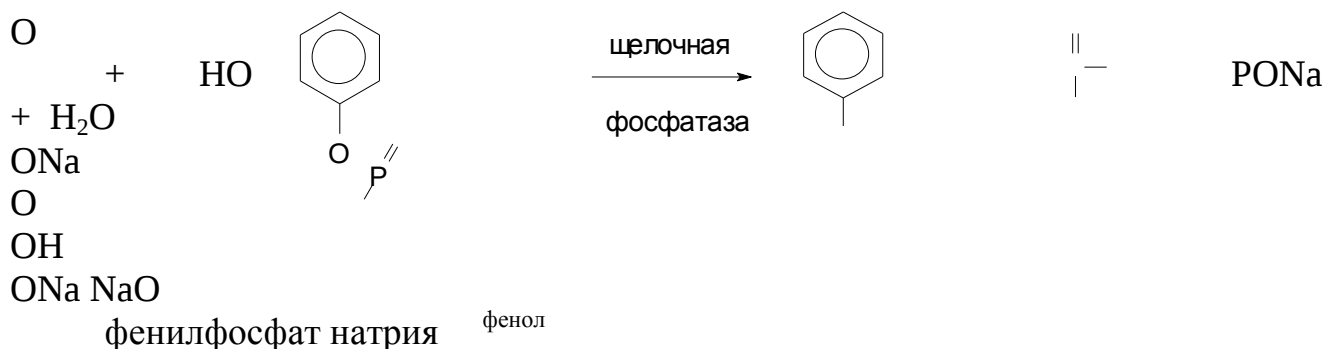
Aniqlash jarayoni. 5 ml suv bilan ohakda 2 g qaynatilgan kolbasa (mahsulot ichidan namuna olinadi) maydalang. Shuningdek, 2 g go'shtni 5 ml suv bilan kvarts qumi bilan ohakda maydalang. Ikkala gomogenat ham buklangan filtr orqali filtrlanadi, olingan 1 ml filtdan ikkita probirkaga quyiladi, 2 tomchi asetat tampon va 0,5 ml substrat eritmasi qo'shiladi. Keyin naychalar termostatni ichiga 40 ° C da 1 soat davomida joylashtiriladi. Shundan so'ng har bir naychaga 1 tomchi 40% NaOH eritmasi qo'shiladi.

Fosfataza faolligini miqdorini aniqlash ko'k rangli filtr yordamida fotokolorimetrik usulda amalga oshirilishi mumkin. U para-nitrofenolning bir qator eritmaları uchun tuzilgan kalibrlash grafigi bo'yicha eritmaning optik zichligi qiymati asosida aniqlanadi.

#### 2.3.7.2. Sutdagi ishqoriy fosfataza faolligini aniqlash

Ishqoriy fosfataza 63 ° C haroratda 30 minut ta'sir qilish bilan to'liq inaktivlanadi, ya'ni. sut, qaymoq yoki fermentlangan sut mahsulotlarini pasterizatsiya qilish uchun ishlatiladigan sharoitlarda.

Ishqoriy fosfatazani aniqlash usuli uning fenol hosil bo'lishi bilan fenilfosfor kislotasining natriy tuzining gidrolizini katalizatsiyalash qobiliyatiga asoslanadi, bu sxema bo'yicha 4-aminoantipirin ko'rsatkichi bilan pushti rangli kompleks beradi:



Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Pasterizatsiya qilingan va xom sut, substrat eritmasi (natriy fenil fosfatning 4 aminoantipirin bilan aralashmasi, uni tayyorlash uchun, aniqlashdan oldin A va B eritmalarini 1: 9 nisbatda aralashtiring). Eritma: 1.25 g fenil fosfat natriy tuzi 100 ml bufer eritmasida eritiladi (40 g ammoniy xlorid 200 ml distillangan suvda eritiladi, 348 ml 25% suvli ammiak qo'shiladi va umumiy hajmi Suv bilan 1 l). B eritmasi: 0,8 g 4aminoantipirin 900 ml distillangan suvda eritiladi), sink-mis oqsil cho'kmasi (30 g rux sulfat va 6 g mis sulfat 1 litr distillangan suvda eritiladi).

Qurilmalar. Sinov naychalari, termostat, voronkalar, qog'oz filtrlari.

Aniqlash jarayoni. Ikki probirkaga 3 ml xom va pasterizatsiyalangan sut quyiladi, 2 ml substrat eritmasi qo'shiladi, probirkadagi moddalar aralashtiriladi va harorati 40 - 45 ° C bo'lgan suv hammomiga (yoki termostatga) joylashtiriladi. 30 daqiqa. Keyin har bir naychaga 5 ml rux-mis oqsil cho'ktiruvchisi qo'shiladi, aralashtiriladi, 10 daqiqa davomida termostatga joylashtiriladi, naychalar termostatdan olinadi va oqsil cho'kmasi ustidagi eritmaning rangi qayd etiladi.

Fosfataza faolligi mavjud bo'lganda (xom sut yoki sifatsiz pasterizatsiya) eritma pushti yoki qizil rangga aylanadi va agar pasterizatsiya sifati yaxshi bo'lsa, u rangsiz qoladi.

### 2.3.8. Hayvonlarning mushak to'qimalarida kreatin fosfokinaza faolligini aniqlash

Kreatin fosfokinaz (CPK) - bu sxema bo'yicha fosfat qoldig'ining ATP dan kreatinga, yoki aksincha, kreatin fosfatdan ADP ga o'tishini katalizlaydigan transferaza sinfining fermenti:



CPK faolligini aniqlash usuli uning kreatin fosfatning ADP bilan aralashmasidan kreatin hosil bo'lishini katalizatsiyalash qobiliyatiga asoslanadi va kreatin ishqoriy muhitda a-naftol bo'lmaganida diatsetil bilan rangli birikma hosil qiladi. Rangli mahsulot miqdori 535 nm to'lqin uzunligida fotokolorimetrik tarzda aniqlanadi.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Mushak to'qimasi bir hil bo'lib, pH 6,5, 0,008 M ADP eritmasi bilan 0,1 M tRasm-maleik tampon, tRasm-maleik tamponda 0,048 M magnezium asetat eritmasi, trazm-maleik tamponda 0,16 M kreatin fosfat eritmasi, ishqoriy aralash (suvli eritma, tarkibida 6%) NaOH va 16% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), ishqoriy aralashmadagi a-naftolning 1% li eritmasi (tajribadan oldin tayyorlangan), diatsetilning 0,025% li eritmasi (quyidagicha tayyorlanadi: 6 g dimetilglyoksimni 200 ml 5N sulfat kislota eritmasida eritib, 100 ° C da distillangan; hosil bo'lgan eritma muzlatgichda saqlanadi va tahlildan oldin ishchi eritma uni 20 marta suyultirish yo'li bilan tayyorlanadi), kalibrlash egri chizig'ini qurish uchun 10 ml tRasm maleik buferidagi 1 mg kreatin eritmasi.

Qurilmalar. 535 nm yorug'lik filtrlari sinov naychalari, termostat, fotokolorimetr.

Aniqlash jarayoni. 0,4 g go'shtni kvarts qumi bilan ohakda maydalang, ustiga 0,4 ml suv soling va filtrlang. Ikki probirkada 0,7 ml tRasm-tampon eritmasi, 0,2 ml kreatin fosfat eritmasi va 0,3 ml ADP eritmasi o'lchanadi. Ikkala naycha 37 ° C da 5 daqiqa davomida isitiladi. Keyin bir naychaga 0,4 ml go'shtli gomogenat filtrat, ikkinchisiga 0,4 ml suv qo'shiladi va har ikkala naycha ham 37 ° C haroratda 30 minut termostatga joylashtiriladi. Keyin 1 ml naftol eritmasi va 0,5 ml diatsetil ishchi eritmasi qo'shing va reaksiyani yakunlash uchun naychalarni 30 daqiqa qorong'i joyda joylashtiring.

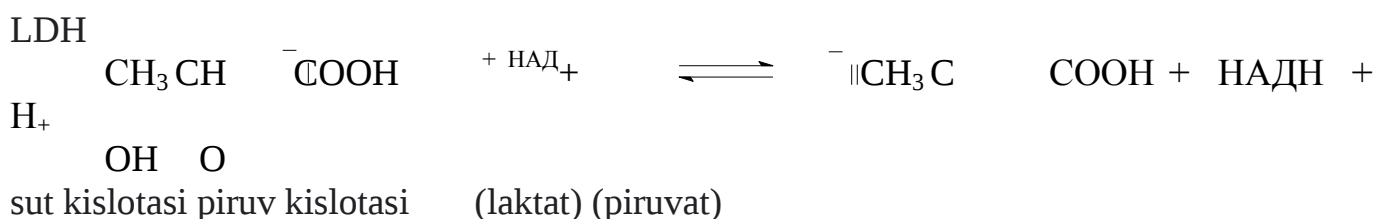
Keyin eritmaning optik zichligini 535 nm to'lqin uzunligida, tarkibida ferment bo'lmagan nazorat eritmasiga nisbatan o'lchang. Hosil bo'lgan kreatin miqdori standart aralashma yordamida tuzilgan kalibrlash grafigi bilan aniqlanadi, u 1 ml standart kreatin eritmasi, 1 ml naftol eritmasi va 0,5 ml diatsetilning ishchi eritmasi aralashtiriladi. Olingan aralash qorong'i joyda 30 daqiqa davomida saqlanadi va uning optik zichligi suvga nisbatan o'lchanadi. Ferment faolligi (A) 1 g mushak to'qimalariga mkmol / g minutda ifodalanadi va quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$A = \frac{5 \cdot Q}{131 \cdot t}$$

bu erda Q - kreatin fosfokinaza reaksiyasi paytida hosil bo'lgan mkg tarkibidagi kreatinning miqdori; t - inkubatsiya vaqti bir necha daqiqada; 131 - kreatinning molekulyar og'irligi.

### 2.3.9. Varaktburg usuli bilan laktat dehidrogenaza faolligini aniqlash

Laktat dehidrogenaza (LDH) oksidoreduktaza sinfidagi ferment bo'lib, NAD + koenzimining ishtirokida sut kislotasining piruv kislotasiga oksidlanishini katalizlaydi, shuningdek piruvatni laktatgacha kamaytirishning teskari jarayoni:



LDH faolligini o'lchash, piruvatning kamayishi paytida NADH ning kamaytirilgan shakli spektrofotometrik ravishda 340 nm yorug'lik to'lqinida optik zichlikni (D) o'lchash yo'li bilan amalga oshiriladi.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Qon sarum; 0,01 M natriy piruvat eritmasi (1,1 mg natriy piruvatni 1 ml distillangan suvda eritib yuboring); 0,2 M fosfat tampon, pH qiymati 7,8; 0,001% NADH eritmasi (5 mg NADH ni 5 ml 0,2 M fosfat tamponda pH 7,8 bilan eritib yuboring).

Qurilmalar. 340 nm yorug'lik filtrli spektrofotometr, qatlam qalinligi 1 sm va hajmi 3 ml bo'lgan kyuvetalar, sekundomer.

Aniqlash jarayoni. 0,1 ml zardob va 2,9 ml fosfat tampon nazorat kyuvetasiga qo'shiladi, aralashtiriladi va taqqoslash kyuveti sifatida spektrofotometr kamerasiga joylashtiriladi. 0,1 ml zardob, 0,2 ml NADH eritmasi va 2,6 ml fosfat tampon boshqa kyuvetaga qo'shiladi. 2 daqiqadan so'ng 0,1 ml 0,01 M natriy piruvat eritmasi qo'shiladi, aralashtiriladi va vaqt sekundomer bilan hisoblanadi. Keyin D qiymatlarini har daqiqada 3-5 daqiqa davomida yozib oling.

D ning vaqtga grafik bog'liqligi tuziladi va hisoblash grafining dastlabki qismiga binoan amalga oshiriladi, bu erda D ning t ga mutanosib bog'liqligi saqlanadi. Keyin quyidagi formula bo'yicha LDH (A) faolligini 1 ml sarum uchun mkmol / min hisoblang:

$$A = \Delta D \cdot 10000 / (\Delta t \cdot 2,07)$$

bu erda D - bu ma'lum vaqt oralig'idagi optik zichlikning o'zgarishi  $\Delta t$ .

#### 2.3.10. "Tripsin faolligini aniqlash" mavzusidagi interaktiv laboratoriya mashg'uloti

##### I. Eksperimental ish uslubi

Tripsin gidrolazalar sinfiga, peptid gidrolazalarning (klasseoliz fermentlari) kichik sinfiga kiradi. U oqsillar va polipeptidlar tarkibidagi peptid bog'lanishining bo'linish reaksiyasini katalizlaydi.

Ushbu ishda biz sut oqsili kazeinning parchalanish reaksiyasi (V) tezligining ferment [E] (tripsin) va substrat [S] (kazein) kontsentratsiyasiga bog'liqligini o'rganamiz. Kazeinning parchalanishining tripsin (V) bilan reaksiya tezligini ushbu ferment bilan inkubatsiya qilingan kazein tarkibidagi amin azotining ko'payishi bilan baholash mumkin. Fermentlarning faolligi (A, mg / min) vaqt birligida ferment tomonidan parchalanadigan substrat miqdoridan hisoblanadi.

Tadqiqot materiallari va reaktivlar. Kazein eritmasi, tripsin eritmasi, 0,1 n natriy gidroksid NaOH eritmasi, formalin eritmasi (formol), 1% fenolftalein eritmasi.

Qurilmalar va materiallar. Konusli kolbalar, 100 ml, pipetka 10 ml, suvli hammom, 37 ° C da termostat, filtr qog'ozi.

Aniqlash jarayoni. X ml kazein eritmasi kolbada o'lchanadi, suv hammomida 35-37 ° C gacha qizdiriladi va Y ml tripsin eritmasi qo'shiladi (o'qituvchining ko'rsatmasiga binoan reaksiya aralashmasi distillangan suv bilan kerakli hajmga keltiriladi) . Darhol 5 ml eritmani oling va tarkibidagi amin azotini formol titrlash ( $t_0$ ,  $V_0$ ) bilan aniqlang. Kazein va tripsin bilan kolba 37 ° C da termostatga joylashtiriladi, so'ngra  $t_1$ ,  $t_2$  va  $t_3$  daqiqadan so'ng 5 ml eritma olinadi va namunalarda amin azotining miqdori aniqlanadi (navbati bilan  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$ ).

Omin azotining ko'payishi (mg) grafik jihatdan ifodalanadi (amin azotining miqdorini vertikal ravishda va inkubatsiya vaqtini gorizontal ravishda chizish). Ferment faolligi (A, mg / min) quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$A = (V3 - V1) / (t3 - t1)$$

Formin titrlash orqali amin azotini aniqlash. 5 ml sinov eritmasiga 5-6 tomchi fenolftalein qo'shiladi va 0,1 N NaOH eritmasi bilan ozgina pushti ranggacha titrlanadi. Keyin eritmaga 2 ml formol qo'shiladi va yana 0,1 N NaOH eritmasi bilan bir oz pushti ranggacha titrlanadi.

Formul qo'shilgandan keyin iste'mol qilingan gidroksidi miqdori 1,4 ga ko'paytirilib, amin azotining mg miqdorida olinadi (1 ml 0,1 n NaOH eritmasi 1,4 mkg amin azotiga to'g'ri keladi).

## II. O'qituvchi uchun uslubiy ko'rsatma

1. Laboratoriya ishlari "Fermentlar" mavzusidagi ma'ruzadan so'ng, "Fermentlarning tasnifi" mavzusidagi amaliy mashg'ulotdan so'ng amalga oshiriladi. Enzimatik reaksiyalar ". Darsning davomiyligi 4 soat.

6. Talabalardan ma'lum ma'lumotlarni ko'rsatib, Internetda tripsinning tuzilishi va xususiyatlari haqida ma'lumot topishi so'raladi:

✓ fermentlar tuzilishi;

✓ Fermentning faol markazi;

✓ Fermentlarning optimal harakati (muhit, harorat, pH qiymati); ✓ Ferment ta'sirining o'ziga xos xususiyati.

3. O'qituvchi talabalar guruhini ikkita kichik guruhga ajratadi. Har bir kichik guruh ikkitadan jamoalarga bo'lingan. Har bir kichik guruhga ekspert va yordamchi tayinlanadi.



3. Hakamlar tripsin ma'lumotlarini tahlil qilib, tinglovchilarga qisqa xabar berishadi.

4. Har bir kichik guruhga quyidagilar kiradi:

1-kichik guruh sut oqsili kazeinni parchalanishi (V) reaksiyasi tezligining ferment [E] (tripsin) konsentratsiyasiga bog'liqligini tekshiradi;

2-kichik guruh sut kazeinining oqsilining reaksiya tezligining (V) substrat konsentratsiyasiga [S] (kazein) bog'liqligini tekshiradi.

5. 1-kichik guruh 14-jadvalga muvofiq eksperimentlarni yuklashni amalga oshiradi, unda eksperiment natijalarini hisoblash natijalarini ham kiritadi.

Jadval 14.

Tripsin faolligining fermentlar konsentratsiyasiga bog'liqligi.

| № бригады | Загрузка опыта | Результаты эксперимента (V) (количество аминного азота, мкг) | A, мкг/мин |
|-----------|----------------|--------------------------------------------------------------|------------|
|           |                |                                                              |            |

|   | Xмл<br>раствора<br>казеина | Y<br>мл<br>раствора<br>трипсина | H <sub>2</sub> O<br>(дист.)<br>мл | t <sub>0</sub> | t <sub>1</sub><br>(30<br>мин) | t <sub>2</sub><br>(60<br>мин) | t <sub>3</sub><br>(90<br>мин) |  |
|---|----------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--|
| 1 | 50                         | 2                               | -                                 |                |                               |                               |                               |  |
| 2 | 25                         | 2                               | 25                                |                |                               |                               |                               |  |
| 3 | 10                         | 2                               | 40                                |                |                               |                               |                               |  |

3. 2-kichik guruh 15-jadvalga muvofiq eksperimentlarni yuklashni amalga oshiradi, unda eksperimental natijalarni hisoblash natijalarini ham kiritadi.

Jadval 15.

Tripsin faolligining substrat kontsentratsiyasiga bog'liqligi.



| №            | Загрузка опыта                 |                                     |                                      | Результаты эксперимента (V)<br>(количество аминного азота, мг) |                                 |                                 |                                 |                                 |                                 | A,<br>мкг<br>/ |
|--------------|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------|
| брига<br>-ды |                                |                                     |                                      |                                                                |                                 |                                 |                                 |                                 |                                 | ми<br>н        |
|              | Xмл<br>раствор<br>а<br>казеина | Y<br>мл<br>раствор<br>а<br>трипсина | H <sub>2</sub> O<br>дист.<br>,<br>мл | t <sub>0</sub><br>0<br>ми<br>н                                 | t <sub>1</sub><br>15<br>ми<br>н | t <sub>2</sub><br>30<br>ми<br>н | t <sub>3</sub><br>45<br>ми<br>н | t <sub>4</sub><br>60<br>ми<br>н | t <sub>5</sub><br>90<br>ми<br>н |                |
| 4            | 50                             | 4                                   | -                                    |                                                                |                                 |                                 |                                 |                                 |                                 |                |
| 5            | 50                             | 2                                   | 2                                    |                                                                | -                               |                                 | -                               |                                 |                                 |                |
| 6            | 50                             | 1                                   | 3                                    |                                                                | -                               |                                 | -                               |                                 |                                 |                |

3. Jadvallar sinf taxtasida har bir jamoaning tajribalari natijalari bilan to'liq to'ldirilgan.

Shaxsiy hisobotlarda talabalar o'z guruhining ko'rsatmalariga binoan hujayralarni eksperiment natijalari bilan to'ldirishlari kerak.

A fermenti faolligini hisoblash har bir jamoa tomonidan o'zlarining tajribalari ma'lumotlariga ko'ra amalga oshiriladi.

4. V / t bog'liqlik grafiklari:

✓ har bir talaba jamoaning eksperiment natijalari bo'yicha individual hisobot tuzadi;

✓ har bir jamoa sinf doskasidagi kichik guruh uchun bir xil bo'lgan grafikni chizadi.

10. Kichik guruh mutaxassislari eksperimental ma'lumotlarning grafik taqdimoti asosida olingan natijalarni tahlil qiladilar. O'qituvchi yordamida ular eksperimental natijalarning nazariyadan mumkin bo'lgan og'ishlarini muhokama qiladilar.

11. Har bir kichik guruh talabalari kichik guruh tajribalari natijalari bo'yicha xulosa tuzadilar, ekspert xulosaning yagona versiyasini shakllantiradi.

Har bir talaba kichik guruh xulosasini shaxsiy hisobotda qayd etadi.

10. Har bir kichik guruh talabalari umuman eksperimental natijalar bo'yicha umumiy xulosani tuzadilar, mutaxassislar formulalarni birlashtiradilar va bitta nashrda umumiy xulosani tuzadilar. Har bir talaba umumiy xulosani individual hisobotga kiritadi.

11. Har bir talaba uchun individual (ball) belgisi jamoaning har bir a'zosi quyidagi shartlarni bajarishga tayyor bo'lganda beriladi:

✓ jamoaning eksperimentlari natijalarini, guruh va kichik guruhning eksperimental natijalari bo'yicha xulosalarni, shuningdek ish bo'yicha umumiy xulosani o'z ichiga olgan individual hisobotning mavjudligi;

✓ dars mavzusi bo'yicha o'qituvchining og'zaki savollariga yoki test sinovlariga javoblar; Shaxsiy baholash guruhda ishlash qobiliyatini va natijalarni muhokama qilishda faol bo'lishni o'z ichiga oladi.

#### 2.3.11. Peroksidaza preparatlari faolligini aniqlash

O'simliklar hujayralaridagi metabolik jarayonlar reaktiv kislorod turlarining shakllanishi bilan birga keladi, undan himoya hujayradan past va yuqori molekulyar birikmalarni (glutation, askorbin kislotasi, taurin va gipotaurin, siydik kislotasi) o'z ichiga olgan antioksidant tizim tomonidan amalga oshiriladi. ).

Antioksidant mudofaa tizimi tarkibiy qismlarining ta'siri asosan quyidagi sxema bo'yicha erkin radikallar hosil bo'lishini to'xtatishgacha kamayadi:

- superoksid radikal anion ( $\bullet O_2^-$ ):  $O_2 + e^- \rightarrow \bullet O_2^-$  - gidroperoksid radikal  $HO_2 \bullet$ :

$O_2 + e^- + H^+ \rightarrow HO_2 \bullet$  - пероксид водорода vodorod peroksid  $N_2O_2$ :

$H_2O_2$ :  $O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$  - gidroksid radikal

$\cdot$ :  $O_2 + 3e^- + 3H^+ \rightarrow HO \bullet + H_2O$

Bundan tashqari, tarkibiy qismlar to'qimalarda erkin radikal jarayonlari va lipid peroksidatsiyasining normal darajasini ta'minlashga yordam beradi.

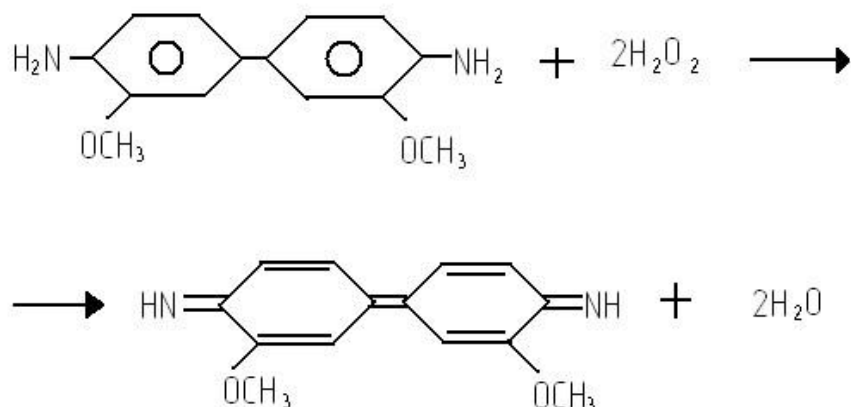
Reaktiv kislorod turlari hujayralarda nafaqat stress holatida, balki o'simlik o'sishining normal sharoitida ham muhim signalizatsiya funktsiyalarini bajaradi. ROS mitoxondriyal DNK sintezini faollashtiradi va shu bilan hujayraning nafas olish faoliyatini boshqaradi. Stress effektlari (past harorat, ultrabinafsha nurlar, kimyoviy birikmalar va boshqalar) oksidlanish jarayonlarini boshlashi mumkin.



Antioksidant tizimning tarkibiy qismlaridan biri bu peroksidaza fermentidir. Peroksidaza - tirik organizmlarda keng tarqalgan ferment. Tabiatda ko'p funktsiyali bo'lib, bu oqsil o'sishi, morfogenezi va stressdan himoya qilish kabi o'simlik hayotining ko'plab jarayonlarida ishtirok etadi. Ferment oksidoreduktaza sinfiga kiradi va vodorod peroksid ( $H_2O$ ) yordamida turli xil polifenollar, alifatik va aromatik aminlar, shuningdek yog 'kislotalari (yog' kislotasi peroksidaza), sitoxrom (sitoxrom peroksidaza), glutation (glutation peroksidaza) oksidlanishini katalizlaydi. organik peroksidlar.

Eng keng tarqalgan va batafsil o'rganilgan o'simliklarning peroksidazasi (asosan horseradish ildizlaridan), uning protez guruhi gemoglobin gemasiga yaqin. Peroksidaza substratlari fenollar, fitohormonlar, sitoxrom c, NADPH, triosalar, askorbat, flavonoidlar va boshqalar bo'lishi mumkin.

Peroksidazning katalitik faolligini aniqlash usuli sxema bo'yicha o-dianisidinning vodorod peroksid bilan oksidlanish reaksiyasiga asoslangan:



Fermentatik reaksiya tezligi fotoelektrokolorimetrdagi (FEC) oksidlanish mahsulotini 460 nm to'lqin uzunligida yutish orqali nazorat qilinadi. Ish 2 bosqichda amalga oshiriladi. 1-bosqichning maqsadi o'simlik to'qimalarida peroksidaza (PO) faolligini aniqlash; turli o'simlik turlarida uning qiymatini solishtiring (1-3, 7a-betlar). 2-bosqichning maqsadi fermentativ reaksiyaning kinetik xususiyatlarini aniqlash (1, 4 - 7b-bandlar).

Reaktivlar va materiallar:

O'simlik moddasi (yuqori o'simliklarning barglari yoki ildizlari); fosfat tampon pH 6,7, distillangan suv; 100 ml hajmli kolba, chinni eritma, filtr qog'oz, sekundomer  
Qurilmalar: FEK, filter 460 nm yorug'lik filtri, ish masofasi 2 sm bo'lgan uchta kyuvet.

Rivojlanish:

Taxminan 200 mg o'simlik materialining tortilgan namunasi (massani aniq yozib olish kerak) oz miqdordagi (taxminan 5 ml) 0,06 M fosfat tamponli, pH 6,7 bo'lgan ohakda maydalanadi. Tuproq massasi miqdoriy ravishda 100 ml hajmdagi kolbaga o'tkaziladi, xuddi shu tampon bilan belgiga o'rnatiladi, yaxshilab aralashtiriladi va 15 daqiqaga qoldiriladi. Keyin eritma er-xotin filtrli qog'oz orqali filtrlanadi. Filtrat (ekstrakt) ferment faolligini aniqlash uchun ishlatiladi.

Ferment faolligi FECda 460 nm da o'lchanadi.

Optik zichlikni o'lchash uchun uchta 8 ml kyuvetadan foydalaniladi (boshqaruv va ikkita kimyoviy nusxa). Uchta kyuvetaning har biriga quyidagilar qo'shiladi:

0,3 ml o-dianisidin,

1 ml 0,06 M fosfat tampon, pH 6,7, 1 ml ekstrakt.

Shundan so'ng, nazorat kyuvetasiga 2 ml distillangan suv qo'shiladi, u FEK ichiga o'rnatiladi va yorug'lik nuriga kiritiladi. Optik zichlikni "0" ni boshqarish kyuvetasiga o'rnatish uchun qo'pol va ingichka nolni sozlash tugmalaridan foydalaning.

1. Eksperimental kyuvetalardan biri FEK'a ichiga o'rnatilgan va yorug'lik nuriga kiritilgan. Avtomatik pipetka yordamida 1 ml 0,3% vodorod peroksid eritmasi eksperimental kyuvetaga kiritiladi va shu bilan birga sekundomer yoqiladi. Absorbsiya qiymatlarini har 20 soniyada yozib oling.

5. 7 - 10 ballni olib tashlash kerak. Xuddi shu tarzda, ikkinchi sinov hujayrasida absorbsiya o'zgarishini o'lchang.

6. D460 optik zichligini t vaqtiga qarab belgilang. Grafikda chiziqli kesma (AB) topilgan va optik zichlikning o'zgarishi tezligi hisoblanadi:  $D460 = (D460B - D460A) / (tB - tA)$ . (D440 raqamli hisoblanadi, grafikadan o'lchanmaydi!)

7. Peroksidaza (APO) faolligi quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$A_{\text{ПО}} = \frac{D_{460} \cdot N}{m_{\text{сыр}} \cdot l_{\text{кюв}}} \quad \left( \frac{\text{ед. опт. плотн.}}{\text{g}} \right) \quad \text{(pishloq g) / (sek), bu erda:}$$

D460 - optik zichlikning o'zgarish tezligi [birlik. ulgurji savdo sal. / sek]

N - suyultirish

mcheese. - namunaning nam og'irligi [g]

lcuve. - kyuvet qalinligi [sm]; (ushbu tajribada l = 2 sm)

Substratning turli xil kontsentratsiyasida (o-dianisidin) o'lchovlarni o'tkazing (1-bandga qarang). Enzimatik reaksiya tezligini v substratning turli xil konsentrasiyalarida mollar / sek (M / sek) da hisoblang, [S],

(M). V ga qarshi [S] grafigini tuzing.

O'zaro qiymatlarni hisoblang:

$1/v$ ,  $(M^{-1} \cdot c)$  и  $1/[S]$ ,  $M^{-1} \cdot 1 / [1]$  ga nisbatan grafigini tuzing [S].

Jadval 16.

Reaksiyaning kinetik xususiyatlari: reaksiya tezligining substrat kontsentratsiyasiga bog'liqligi

| №<br>п/п | [S] (M) | 1/[S]<br>M-1 | v<br>Моль/сек<br>(M/c) | 1/v<br>(M <sup>-1</sup> ·c) | Константа<br>Михаэлиса<br>KM |
|----------|---------|--------------|------------------------|-----------------------------|------------------------------|
|          |         |              |                        |                             |                              |
|          |         |              |                        |                             |                              |
|          |         |              |                        |                             |                              |
|          |         |              |                        |                             |                              |
|          |         |              |                        |                             |                              |

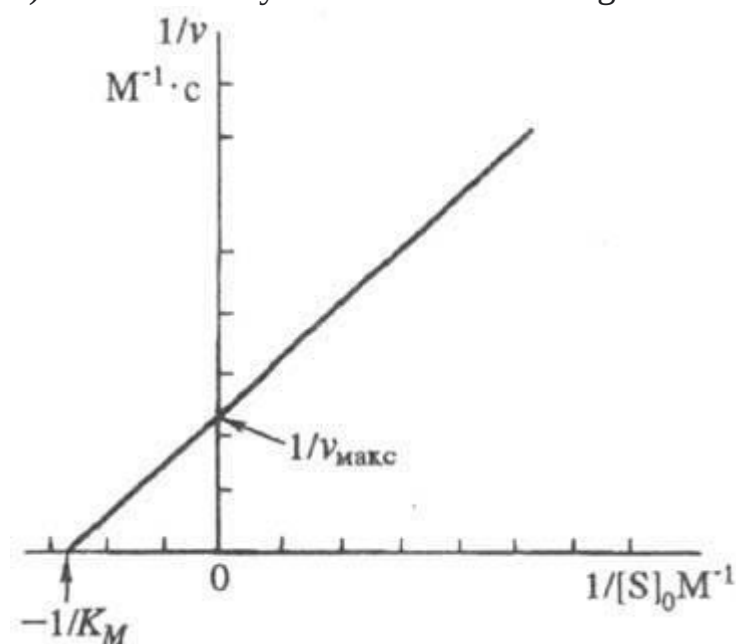
|  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|

5. Rasmdagi misolga binoan  $K_M$  va  $V_{max}$ -ni ikki tomonlama o'zaro ta'sir usuli bilan aniqlang (Lineweaver-Burke usuli). o'n sakkiz.

6. Xulosalarda:

a) hisoblangan ferment faolligini ko'rsatish, turli organlarda / o'simlik turlarida ferment faolligini taqqoslash, o'simlik to'qimalarida ferment funktsiyalari haqidagi ma'lumotlarga asoslanib, farqlarning mumkin bo'lgan sabablarini tushuntirish;

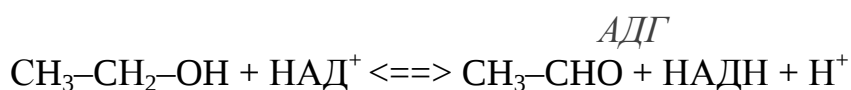
b) kinetik xususiyatlarini ferment faolligi bilan taqqoslash.



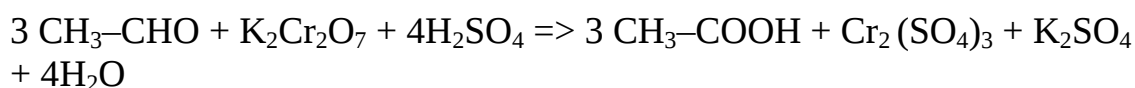
Rasm. 18.  $K_M$  va  $V_{max}$  ni ikki tomonlama o'zaro ta'sir usuli bilan aniqlashga misol.

### 2.3.12. Xamirturush tarkibidagi spirtli dehidrogenlarning faolligini aniqlash

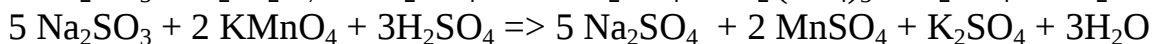
Spirtning atsetaldegidga oksidlanishini katalizlovchi fermentga spirtli dehidrogenaza (ADH) deyiladi:



Ushbu reaksiya qaytariluvchi va qarama-qarshi reaksiya xamirturush hujayralarida alkogolli fermentatsiyaning oxirgi bosqichidir. Ushbu ferment faolligini miqdoriy aniqlash, hosil bo'lgan atsetaldegid miqdorini kaliy dixromat bilan oksidlanish orqali aniqlashga asoslangan:



Keyin kaliy dihidromat kaliiy permanganat bilan titrlangan ortiqcha natriy sulfit bilan kamayadi:



Materiallar va reaktivlar: xamirturush; 1% etil spirt, 1% CuSO<sub>4</sub> eritmasi, 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eritmasi, 0,1 N K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> eritmasi, 0,1 N Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> eritmasi (u tajribadan oldin darhol 3,25 g quruq natriy sulfitni 500 ml suvda eritib tayyorlanadi) va 0, 1 N KMnO<sub>4</sub> eritmasi. Ovqatlar va vilkalar pichoqlar. 50 sm<sup>3</sup> hajmli kolba; 100 dan 150 sm<sup>3</sup> gacha bo'lgan konusning kolbasi; pipetkalar; byuretkalar, qog'oz filtri; bilan chinni ohak pestle.

Aniqlash jarayoni. 2 g xamirturushni ohakda maydalang. Tuproq massasi miqdoriy ravishda distillangan suv bilan 50 sm<sup>3</sup> hajmdagi kolbaga o'tkazilib, suyuqlik hajmini belgiga etkazadi. Olingan eritma 5 daqiqa davomida quyiladi, so'ngra aralash qog'oz filtri orqali filtrlanadi.

Nazorat titrlash: 1 ml xamirturushli homogenat filtrat kolbaga 1 ml 1% etil spirt bilan aralashtiriladi, fermentni inaktiv qilish uchun 2 tomchi 1% CuSO<sub>4</sub> eritmasi qo'shiladi, 2 ml 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> va 20 ml 0,1 n K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. Aralash xona haroratida 15 daqiqa davomida qoldiriladi. Keyin 25 ml 0,1 n Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> quyiladi, shu bilan eritmaning rangi to'q sariqdan yashil rangga aylanadi va 0,1 n KMnO<sub>4</sub> bilan kaliy permanganatning binafsha rangi yo'qolmaguncha titrlanadi.

Eksperimental titrlash: 1 ml xamirturushli homogenat filtrat kolbaga 1 ml 1% etil spirti bilan aralashtiriladi va suv harorati 35-40 °S bo'lgan suv hammomida 30 daqiqa davomida joylashtiriladi. Keyin fermentni inaktiv qilish uchun 2 tomchi 1% CuSO<sub>4</sub> eritmasi, 2 ml 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> va 20 ml 0,1 n K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> qo'shing. Aralash xona haroratida 15 daqiqa davomida qoldiriladi. Keyin 25 ml 0,1 n Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> quyiladi, shu bilan eritmaning rangi to'q sariqdan yashil rangga aylanadi va 0,1 n KMnO<sub>4</sub> bilan kaliy permanganatning binafsha rangi yo'qolmaguncha titrlanadi.

V<sub>contr</sub> - V<sub>experiment</sub>). 0,1

$$A(A_{\text{ДГ}}) = \frac{\quad}{2 \cdot 30 \cdot 0,04} \quad \text{МКМОЛЬ / Г МИН}$$

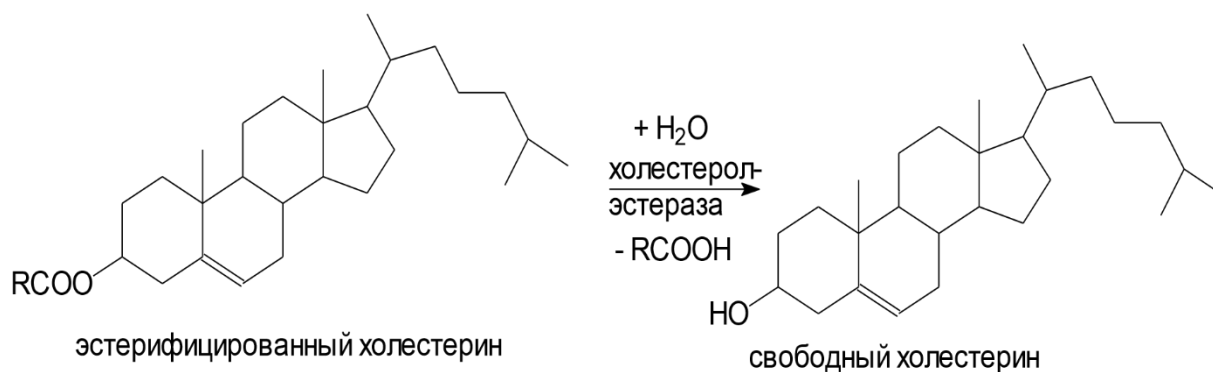
Bu erda 0,1n - eritmalarning konsentratsiyasi, g - etanolning ekvivalenti, 30 minut vaqt, 0,04 - 1 ml filtratdagi xamirturush massasi.

## 2.4. Fermentlarning analitik ishlatilishi

### 2.4.1. Sarumdagi umumiy xolesterolni aniqlash

Usul printsipli. Umumiy xolesterolin erkin va esterlangan xolesteroldan iborat.

Birinchi reaksiyada esterlangan xolesterolin, xolesterolin esteraz fermenti ta'sirida (aniqlash to'plamiga kiritilgan) erkin xolesterolga aylanadi:

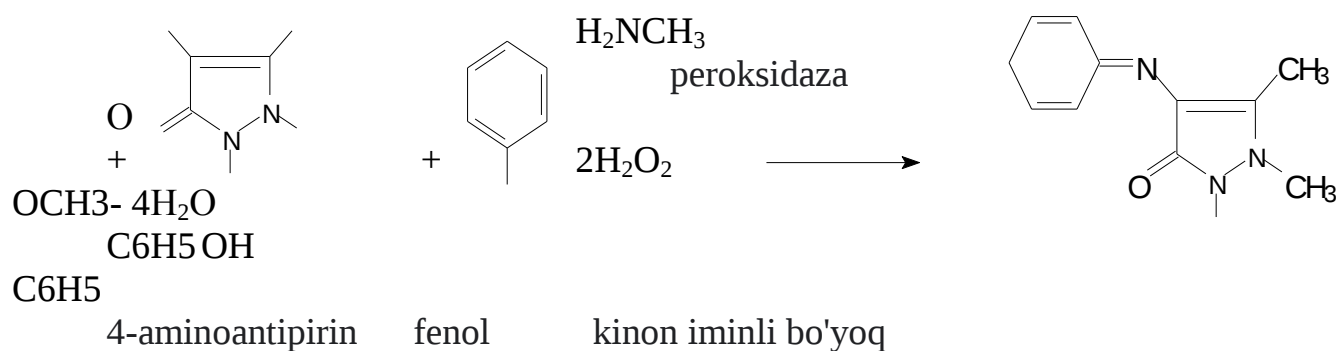


Keyin xolesterin oksidaz fermenti ishtirokida erkin xolesterin sxema bo'yicha kislorod bilan oksidlanadi:

xolesterin (xolesterin) 4-xolesten-3-bir

Olingan vodorod peroksid, peroksidaza fermenti ishtirokida oksidlovchi azo birikmani 4-ga olib keladi.

aminoantipirin va fenol rangli birikma hosil qilish uchun (kinon iminli bo'yoq):



Reaktsiya aralashmasining rang intensivligi xolesterin konsentratsiyasiga mutanosib va 500 nm to'liq uzunligida fotokolorimetrik tarzda aniqlanadi.

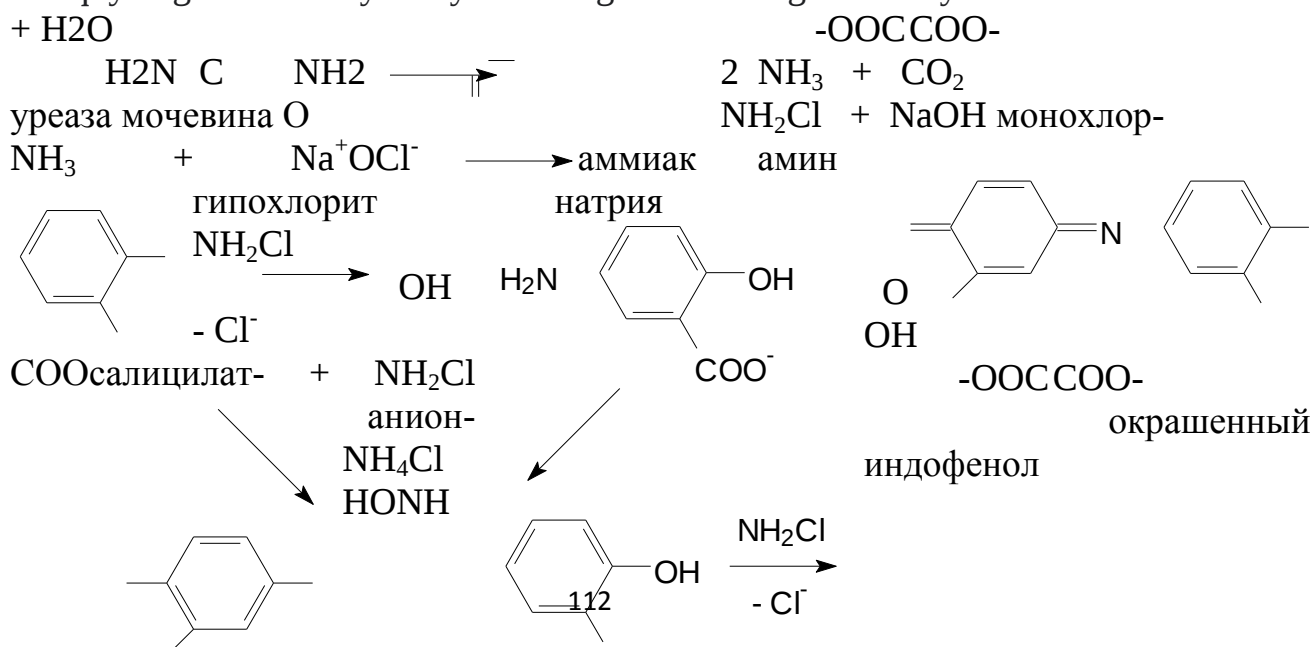
Aniqlash jarayoni. 0,1 ml qon zardobi va 2 ml fermentlar va reaktivlar aralashmasi (to'plamdagi monoreagent) probirkaga aralashtiriladi va xona haroratida 25 daqiqa ushlab turiladi.

Keyin optik zichlik 500 nm da o'lchanadi, 100% uzatishda 0,1 ml distillangan suv aralashmasi bilan 2 ml fermentlar va reagentlar aralashmasi olinadi. Bundan tashqari, kalibrlash namunasi tayyorlanadi, uning yordamida hisoblash amalga oshiriladi. Buning uchun to'plamdan 0,1 ml xolesterolning kalibrlash eritmasi aralashtiriladi, unda uning konsentratsiyasi 5,17 mmol / l ni tashkil qiladi, shuningdek 2 ml fermentlar va reagentlar aralashmasidan iborat. Uning yutilish qobiliyati ham aralashgandan 25 minut o'tgach o'lchanadi. Xolesterin miqdorini hisoblash quyidagi formula bo'yicha amalga oshiriladi:

D namunalari

Xolesterol = \_\_\_\_\_ \* 5,17 mmol / L

Kalibrlash



Rang intensivligi namunadagi karbamid konsentratsiyasiga mutanosib va 595 nm to'lqin uzunligida fotometrik tarzda o'lchanadi (570-620 nm filtrdan foydalanish mumkin).

Aniqlash jarayoni. Probirkaga 0,1 ml sinov zardobini o'lchab, unga 0,9 ml suv soling (10 marta suyultirish), aralashtiring, boshqa probirkaga 0,1 ml oling va 0,1 ml ureaz eritmasi qo'shing (to'plamdagi 1-reaktiv). Keyin u xona haroratida 5 daqiqa ushlab turiladi, shundan so'ng 1 ml 2 va 3 reagentlar (satsilat-nitroprussid reagenti va natriy gipoxlorit) qo'shiladi. Namuna aralashtiriladi va xona haroratida 15 daqiqa davomida qoldiriladi.

Keyin hosil bo'lgan eritmaning optik zichligi 600 nm da o'lchanadi, bo'sh namunani 100% uzatishda oladi, bu erda suyultirilgan sarum o'rniga 0,1 ml suv olinadi. Karbamid tarkibini hisoblash ma'lum miqdordagi karbamid konsentratsiyasi (8,33 mmol / l) bilan kalibrlash namunasi yordamida amalga oshiriladi, u bilan sarum bilan bir xil operatsiyalar bajariladi. Karbamid konsentratsiyasi quyidagi formula bo'yicha topiladi:

D namunalari

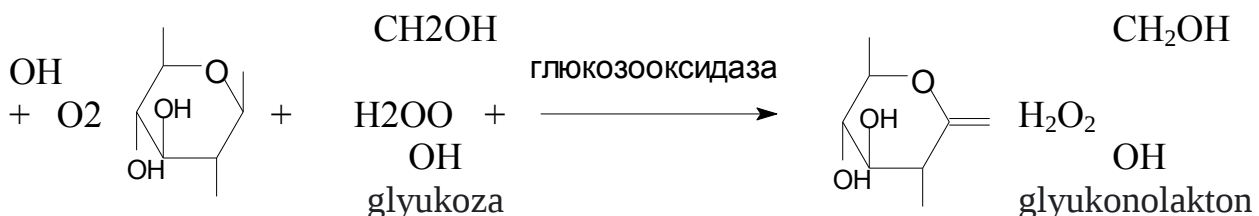
$$\text{Karbamid} = \text{_____} * 8,33 \text{ mmol / L}$$

Kalibrlash

Natijani baholash. Oddiy zardobdagi karbamid miqdori 2,5-8,3 mmol / L ni tashkil qiladi. Normadan oshib ketish o'tkir yoki surunkali buyrak etishmovchiligini ko'rsatadi (agar 16-20 mmol / l dan ortiq bo'lsa). Agar 35 dan ortiq bo'lsa - og'ir buyrak etishmovchiligi va agar 50 dan ortiq bo'lsa, unda buyrak komasi paydo bo'ladi. Yuqori proteinli dietada ham o'sish mumkin. Jigar uni etarlicha karbamidga aylantirmasa va ammiak qonda to'planib qolsa, oqsil ochligi bilan, shuningdek jigar etishmovchiligi bilan pasayish kuzatilishi mumkin.

#### 2.4.3. Glyukoza oksidaza usuli bilan qon glyukoza konsentratsiyasini aniqlash

Usul printsipti: glyukoza oksidaza ta'sirida b-D-glyukoza reaksiyada D-glyukonolaktongacha oksidlanadi:



Natijada paydo bo'lgan vodorod peroksid, peroksidaza fermenti ishtirokida 4aminoantipirin va fenolning oksidlovchi azo birikmasiga yordam beradi va rangli birikma hosil qiladi.

(kinon imine bo'yoq) sxema bo'yicha





13. Fermentatik reaksiya tezligining fermentning konsentratsiyasiga bog'liqligi grafigini bering.
14. Fermentatik reaksiya tezligining substrat konsentratsiyasiga bog'liqligi grafigini tavsiflang.
15. Mixailis konstantasining fizik ma'nosini aytib bering.
16. Mixailis konstantasining grafik ta'rifi qanday bog'liqlikka imkon beradi?
17. Fermentli reaksiya tezligining ferment konsentratsiyasiga nisbatan chizig'ini ko'chiring va sharhlang.
18. Mixaylis-Menten tenglamasini konvertatsiya qilish natijasida Lineweaver-Burke tenglamasini keltiring.
19. Lineweaver-Burke tenglamasi grafigidan fermentativ reaksiyaning qanday kinetik xususiyatlarini aniqlash mumkin?
  
21. Fermentlarning xalqaro tasnifi qanday tamoyilga asoslanadi.
22. Oksidoreduktazalar sinfidagi fermentlarning umumiy tavsiflarini bering.
23. Transferazalar sinfidagi fermentlarning umumiy tavsiflarini bering.
24. Hidrolazalar sinfidagi fermentlarning umumiy tavsiflarini bering.
25. Lizalar sinfidagi fermentlarning umumiy tavsiflarini bering.
26. Izomerazalar sinfidagi fermentlarning umumiy tavsiflarini bering.
27. Ligaza sinfidagi fermentlarning umumiy xususiyatlarini keltiring.
28. Hidrolazalarning sut sanoatida ishlatilishiga misollar keltiring.
29. Hidrolazalarni pishirishda ishlatilishiga misollar keltiring.
30. Hidrolazalarni go'shtni qayta ishlashda ishlatilishiga misollar keltiring.
31. Kraxmaldan glyukoza olish uchun qaysi fermentlar ishlatiladi?
32. Immobilizatsiya qilingan fermentlar nima?
33. Fermentlarni immobilizatsiya qilish uchun qanday tashuvchilar ishlatiladi?
34. Immobilizatsiya qilingan fermentlarni oziq-ovqat texnologiyalarida ishlatilishiga misollar keltiring.
35. Rekombinant fermentlar nima?

#### **IV. Ilova**

ICHKI MATERIALLARNING TARKIBI

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

O'ZBEKISTON QISHLOQ XO'JALIGI VAZIRLIGI

TOSHKENT DAVLAT AGRAR UNIVERSITETI

Universitet

"Talab qilaman»

O'quv ishlari prorektori

\_\_\_\_\_ S.Y.Islamov

" \_\_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 201\_\_shahar

#### **AMALIY ENZIMOLOGIYA ENZIMOLOGIYA**

#### **SILLABUS INTIZOM**

Mavzu o'qituvchisi

Murod Sobirovna Sobirovna

Toshkent-2020

Sillabus intizom

Toshkent davlat agrar universiteti

Intizom haqida ma'lumot

Fan shifri: (AMAEM1405)

Amaliy fermentologiya nomi

Semestr / yil: 1-semestr / 2020-2021 o'quv yili

Kafedra: Agrobiotexnologiya

soat / kreditlar soni: 6 ECTS (60 tomoshabin soati)

Ma'ruza va amaliy mashg'ulotlar laboratoriya jami baholash

30 30 0 4 150

Mavzu bo'yicha darslarning joylashuvi:

Audit vaqti: jadvalga muvofiq

Talablar:

Kafedra: agrobiotexnologiya kafedrası

O'qituvchi haqida ma'lumot

O'qituvchi: Murodova S. S.

Kafedraning joylashgan joyi: TDAU, meva-sabzavotchilik fakulteti binosi blok-2

Telefon: 71-239-28-53 ishchi

Mobil: 97 462 83 03

E-mail: ssmuradova@rambler.ru

Fanning maqsadi "amaliy enzimologiya" fanining rivojlanishining asosiy bosqichlari haqida ma'lumot berish, fermentlarning katalitik ta'siridan foydalangan holda zamonaviy biotexnologik jarayonlarni yaratish qobiliyatini rivojlantirishdir; enzimologiya amaliy muhandisligi bo'yicha mavjud yutuqlar va jihatlarning umumiy tushunchalarini olish.

Intizom vazifasi-fermentlar ishlab chiqaruvchilari bilan ishlash uchun fermentlarni ajratish, qattiq va suyuq ozuqa moddalarida fermentlar ishlab chiqaruvchilarini ko'paytirish ko'nikmalarini rivojlantirish;ishlab chiqaruvchilarni ko'paytirish va fermentlarni olish uchun ozuqa moddalarining tarkibi;madaniy suyuqlikdan fermentlarni ajratish usuli;

Magistrlar intizomini o'zlashtirish natijasida:

- \* fermentlar va hujayralarni barqarorlashtirish va immobilizatsiya qilishning asosiy tamoyillari va usullarini bilish;
- \* ishlab chiqarishda immobilizatsiyalangan fermentlar va hujayralarni bilish va ulardan foydalanish va meva va sabzavotlarni qayta ishlash;
- \* immobilizatsiyalangan mikroblar va o'simlik hujayralari asosida biologik faol moddalarni olish qobiliyatiga ega bo'ling;
- \* suvsiz organik tizimlarda fermentlarni qo'llash orqali reaksiyalar va biokatalitik jarayonlarning qonunlarini bilish;
- \* suvsiz organik tizimlarda fermentlarni qo'llash orqali reaksiyalar va biokatalitik jarayonlarning qonunlarini bilish;
- \* glyukoza-fruktoza sharbatini olishni bilish; L-amino kislotalar va L-asparajin kislotasini olish; laktoza bo'lmagan sut ishlab chiqarishda ferment muhandisligi jarayonlarini amalga oshirish va boshqarish usullarini bilish va amalda qo'llanilishi mumkin bo'lgan ko'nikmalarga ega bo'lish.

VI. Ta'lim texnologiyalari va usullari:

- \* Amaliy ta'lim;
- \* Jarayonga yo'naltirilgan ta'lim;
- \* Munozara
- \* Mustaqil ta'lim;
- \* Taqdimot;
- \* Portfeldagi yozuvlarni kiritish;
- \* So'rov o'tkazish.

V. intizom tarkibi

Dars mavzusi ma'ruza, amaliy va seminar mashg'ulotlari rejasi soat

Dars mashg'ulotlari amaliy mashg'ulotlar

1. Kirish. Amaliy enzimologiya fanining maqsadi va vazifalari kartoshkada peroksidaza faolligini aniqlash 2 2
2. Amaliy enzimologiya asoslari ksantinoksidaz faoliyatini aniqlash xom sut 2 2
3. Mikroorganizmlar fermentlari 2 fermentlarining faolligiga o'rta pH ning ta'siri 2
4. Enzimatik preparatlarni ishlab chiqarish texnologiyasi fermentlarning faolligiga ta'sir qiluvchi omillar (inhibitorlar va aktivatorlar). 2 2
5. Fermentlarni immobilizatsiya qilish bromzian-faollashtirilgan oqsillarni 2 2 agarosi bilan bog'lash
6. Fermentlarni barqarorlashtirishning asosiy tamoyillari 2 fermentlarining o'ziga xosligi 2
7. Meva-sabzavot mahsulotlarini qayta ishlash texnologiyalarida fermentlarni qo'llash haroratning fermentlarning faoliyatiga ta'siri 2 2
8. Glyukoza-fruktoza siropi ishlab chiqarishda fermentlarni qo'llash 2 2 o'simlik organlari va mahsulotlarida peroksidaza faolligini aniqlash
9. Immobilizatsiyalangan fermentlar va hujayralar yordamida ishlab chiqarish jarayonlari amilaza fermentining kraxmal 2 2 ga ta'sirini o'rganish
10. O'simlik xom ashyosi biokonversiyasi kartoshka katalazining faolligini aniqlash 2 2
11. Usuli bilan sut katalaz faoliyatini aniqlash sut zardobida laktoza bepul sut va shakar olish

A. N. Bach va S. R. Zubkova 2 2

12. Milliy iqtisodiyot uchun immobilizatsiyalangan fermentlarning ahamiyati 2 shirdon fermenti faoliyatini aniqlash 2
13. Fermentlar-kraxmal va boshqa moddalar ajratish katalizatorlar o'simliklar va don urug'lari(Smit va Roy usuli) organlarida amilaz faoliyatini aniqlash. 2 2
14. Oziq-ovqat moddalari ishlab chiqarishda lipaz foydalanish o'simliklar va ularning urug'larda lipaz ferment faoliyatini aniqlash. 2 2
15. Tsellyulozolitik mikroorganizmlar va fermentlar o'simliklar va ularning qayta ishlash mahsulotlari ferment ureaz faoliyatini aniqlash. 2 2

Jami 30

#### IV. Mustaqil ta'lim va mustaqil ish

1. Faol mikroorganizmlarning shtammlarini olish usullari.

2. Oziq-ovqat ishlab chiqarishda mikroorganizmlarning roli.
3. Oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarishda amilaza va glyukoizomeraz fermentlarining roli.
4. O'simlik fermentlari
5. Mikroorganizmlarning fermentlarining umumiy xususiyatlari.
6. Mikroorganizmlarning fermentativ lizisi.
7. O'simlik xom ashyosining fermentativ gidrolizi.
8. Ferment preparatlari.
9. Qishloq xo'jaligida ishlatiladigan ferment oziq-ovqat mahsulotlari.
10. Fermentlarni immobilizatsiya qilishning jismoniy usullari.
11. Fermentlarni immobilizatsiya qilishning kimyoviy usullari.
12. Suyuq ozuqa moddalarida fermentlarni ishlab chiqarish.
13. Amilaza va proteaz fermentlarini qo'llash sohalari.
14. Glyukoza ishlab chiqarishda glyukoizomeraza fermentidan foydalanish.
15. Tibbiyotda mikrobial fermentlarni qo'llash.
16. Kerakli xususiyatlarga ega rekombinatli fermentlarni olish.
17. Yangi oziq-ovqat moddalari va biologik faol moddalar ishlab chiqarishda fermentativ reaksiyalardan foydalanish.

## VII. Adabiyot

### Asosiy adabiyot

1. Shleikin Ag, Skvortsova N. N., Blandov N. N. amaliy fermentologiya. – Sankt-Peterburg: ITMO universiteti, 2019. – 160 s.
2. O'tish: Saytda Harakatlanish, Qidiruv Ish dasturi, usul.  
mustaqil ish uchun ko'rsatmalar, nazorat vazifalari va testlar  
240902-mutaxassislik va 240900-fakultet yo'nalishlari talabalari  
yozishmalar va tashqi ishlar. - Sankt-Peterburg. O'tish: saytda harakatlanish,  
qidiruv - 35 bilan.
3. Biotexnologiya: Ucheb. universitetlar uchun qo'llanma. 8 kn da./ Ostida.  
Egorova N. S., Samuilova V. D. M.: Oliy maktab, 1997. – 228 p..

4. I. V. Berezin, V. K. Antonov, K. Mortinek. – M: Moskva davlat universiteti nashriyoti, 1986, t. 1, 296 s. T. 2, 358 s.
5. Amaliy enzimologiyaga kirish / Ed. – M: Moskva davlat universiteti nashriyoti, 1982, 386 s.
6. Biotexnologiya mahsulotlarini ajratish va tozalash. Uslubiy qo'llanma / Avto. O'tish: Saytda Harakatlanish, Qidiruv: BSU, 2014. – 256 p.
7. O'tish: Saytda Harakatlanish, Qidiruv O'tish: saytda harakatlanish, qidiruv  
Qo'shimcha adabiyotlar
1. O'tish: Saytda Harakatlanish, Qidiruv Molekulyar biotexnologiya. Printsipalar va ilovalar. Ingliz tilidan. O'tish: Saytda Harakatlanish, Qidiruv -584 p. o'quv-uslubiy qo'llanma.
2. Ev Novozhilov, Dn poshina Ev Novozhilov, dn kimyoviy qayta ishlash uchun tsellyuloza ishlab chiqarishda biotexnologiya (umumiy nuqtai) o'simlik xom ashyosi kimyosi. 2011. №3. P. 15-32.
3. Amos K. Dwamena . Seung Han Woo . Chang Sup Kim. Enzyme immobilization on porous chitosan hydrogel capsules formed by anionic surfactant gelation. Biotechnol Lett (2020) 42:845–852 <https://doi.org/10.1007/s10529-020-02829-w>.

### **Axborot manbalari**

1. [www.gov.uz](http://www.gov.uz) - O'zbekiston Respublikasi hukumat portali.
2. [www.Lexuz](http://www.lexuz.uz) - O'zbekiston Respublikasi qonun hujjatlari ma'lumotlari milliy bazasi
3. National Center for Biotechnology Information (NCBI)
4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
5. European Molecular Biology Laboratory Nucleotide Sequence
6. <http://www.ebi.ac.uk/embl/>
7. Swiss-Prot Database
8. [http://www.ebi.ac.uk/ebi\\_docs/swissprot\\_db/swisshome.html](http://www.ebi.ac.uk/ebi_docs/swissprot_db/swisshome.html)
9. Protein Information Resource
10. <http://pir.georgetown.edu>
11. Protein Data Bank
12. <http://www.rcsb.org/pdb/>
13. CAST: A Server for Identification of Protein Pockets & Cavities

14. <http://sunrise.cbs.umn.edu/cast/cast.html>
15. Protein Structure Prediction Center
16. <http://predictioncenter.llnl.gov/Center.html>
17. The Predict Protein server
18. <http://www.embl-heidelberg.de/predictprotein/predictprotein.html>
19. The Dali server – net work service for comparing protein structures in 3D
20. <http://www2.ebi.ac.uk/dali>

## VIII. Baholash

Intizomni yakuniy baholash uch yo'nalish bo'yicha baholarga asoslanadi:

(1) darslarga tayyorgarlik va faol ishtirok etish (10%).

Kurs jarayonida muntazam ishtirok etishdan tashqari, talabalar dars boshlanishidan oldin onlayn o'quv materiallari bilan tanishishlari kerak. Har bir talabadan ma'ruzalar va amaliy mashg'ulotlarda faol ishtirok etish talab etiladi.

(2) auditorlik faoliyati (10%)

Har hafta ma'ruzalar asosida 1 ta amaliy mashg'ulotlar o'tkaziladi. Har bir amaliy mashg'ulot uchun topshiriqlar keyingi darsda bajarilishi kerak. Amaliy mashg'ulotlar bo'yicha vazifalarni bajarish (10%).

(3) yakuniy baholash (80%) (baholash turi, vaqt, baholash mezonlari).

Magistrlar bilimini baholash tizimi

A (93-100)

A- (86-92)

B+ (82-85)

B (77-81)

B- (71-76)

C+ (67-70)

C (60-66)

C- (56-59)

D (55 -50)

E (0 – 49)

Oliy va o'rta maxsus, kasb-hunar ta'limi o'quv-metodik birlashmalarining 202\_ yil muvofiqlashtiruvchi kengashi Majlisining bayonnomasi bilan tasdiqlangan" \_\_\_\_ " \_\_\_\_ " \_\_\_\_".

O'zbekiston Respublikasi oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligining qarori bilan tasdiqlangan 202\_ " \_\_\_\_ " \_\_\_\_ " \_\_\_\_", asosiy oliy ta'lim muassasasi tomonidan tasdiqlangan.

Ushbu mavzu bo'yicha o'quv dasturi Toshkent davlat agrar universiteti ilmiy Kengashining " \_\_\_\_ " 202\_ yil Majlisi bayonnomasi bilan tasdiqlangan" \_\_\_\_ " \_\_\_\_".

Syllabus of Science Toshkent davlat agrar universitetida ishlab chiqilgan  
AMALIY FERMENTOLOGIYA BO'YICHA TARQATMA MATERIALLAR

| Классификация ферментов |                                                                         |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Оксидоредуктазы         | Катализирует окислительно-восстановительные реакции                     |
| Трансферазы             | Катализирует перенос атомов или групп атомов от одной молекулы к другой |
| Гидролазы               | Катализирует реакции гидролиза                                          |
| Лиазы                   | Катализирует расщепление связей C-C, C-O, C-N, C-S, C-H                 |
| Изомеразы               | Катализирует реакции изомерации                                         |
| Лигаза                  | Катализирует присоединение молекул друг к другу                         |

## Шифр фермента по КФ – 4 числа



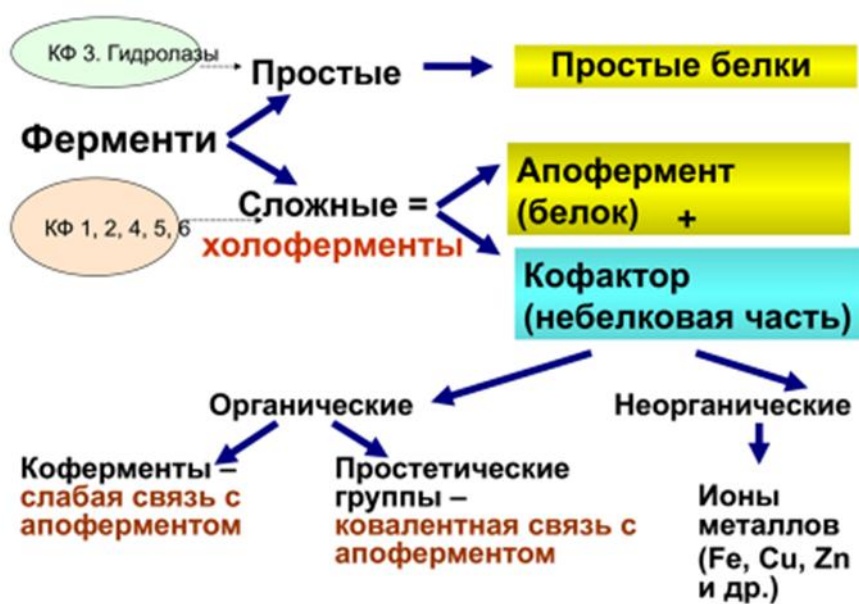
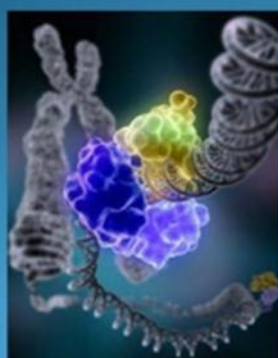
8

## Химическая природа ферментов – белки!!!



12

# Ферменты

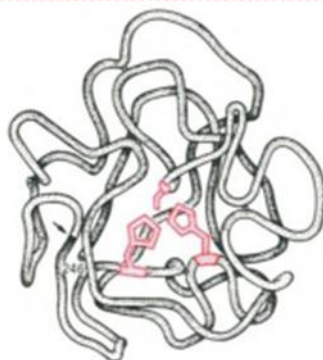


13

**Активный центр** – участок молекулы фермента, в котором происходит связывание и превращение субстрата.

☹️ **комплементарный**  
субстрату

☹️ **7-15 аминокислот**

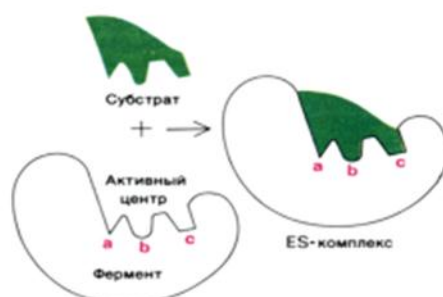


Активный центр химотрипсина<sup>14</sup>

**Теория Фишера, 1894 г.**



**“Ключ-замок”** –  
*E и S полностью*  
**комплементарны**



15

### Структура активного центра:

- контактный (якорный) участок – связывает S
- каталитический участок - превращает S



- OH (сер, тре)  
- SH (цис)  
- NH (гис)  
- COOH (глу, асп)  
- NH<sub>2</sub> (арг, лиз)

У сложных ферментов в активном центре  
есть кофакторы

17

### Пять семейств пищевых энзимов



<http://vedenskaya.club/enzimy/>

## Условные обозначения в ЭНЗИМОЛОГИИ

**E** – фермент, энзим (“enzyme”)

**S** – субстрат - вещество, на которое действует фермент

**P** – продукт реакции



## Номенклатура ферментов

### 1.Рабочая (удобная)

☎ субстрат + «-аза»

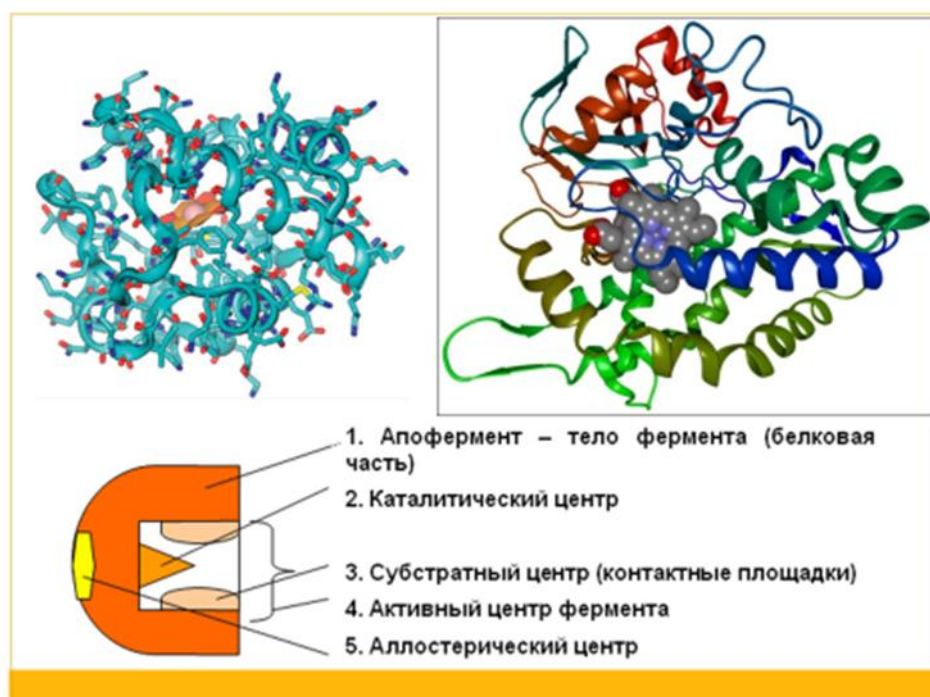
мальтоза + «-аза» = мальтаза

☎ субстрат + тип реакции + «-аза»

лактат + дегидрогенизация + «-аза» =  
лактатдегидрогеназа (ЛДГ)

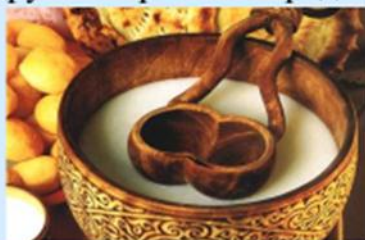
☎ тривиальное название

пепсин, тромбин, ренин



## Использование ферментов

- Ферментативную активность бактерий и грибов широко используют в промышленности для приготовления уксусной, молочной, щавелевой, лимонной кислот; молочных продуктов (сыр, ацидофилин, кумус); в виноделии, пивоварении и других отраслях народного хозяйства.



- Ряд ферментов микроорганизмов широко используется в медицине и биологии для получения различных веществ (аутолитические, протеолитические), в генной инженерии (рестриктазы, лигазы).



- Протеазами удаляют волосной покров из кожи животных, снимают желатиновый слой из киноплёнки.
- Ферменты, которые обеспечивают брожение, используются для получения бутанола, ацетона, необходимых для проведения хроматографических исследований, этилового спирта, масляной кислоты.



- Микроорганизмы используются в виноделии, производстве пива, при изготовлении вершкового масла, силосовании кормов, квашении овощей.



- Из дрожжей получают белково-кормовые добавки для выкармливания скота. Как питательную среду использует парафин - отходы нефти.
- С помощью микроорганизмов и их ферментных систем в медицинской промышленности получают гормоны гидрокортизон, преднизолон, многообразные алкалоиды.



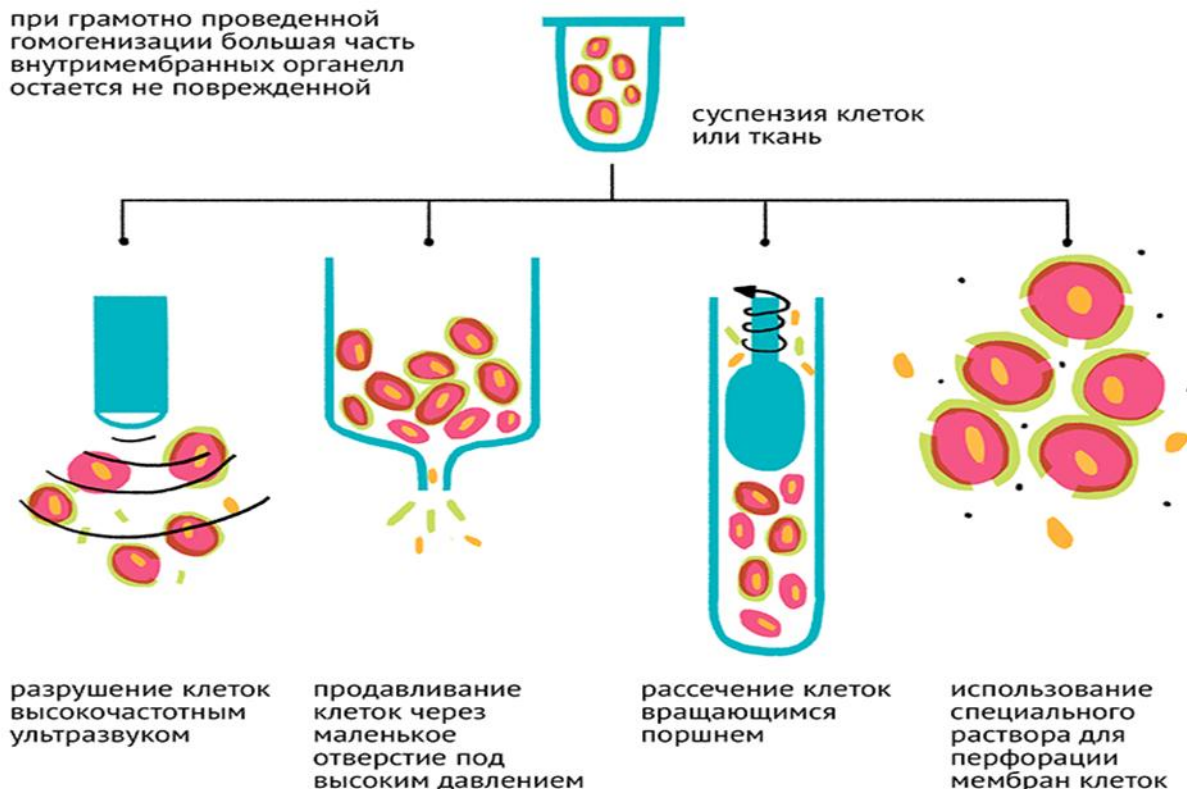


- Пропионибактерии, актиномицеты синтезируют витамины (B12).
- Из **стрептококков** получили фибринолизин, стрептодорназу и стрептокиназу, которые разрушают тромбы в кровеносных сосудах.
- Поскольку способность образовывать ферменты определенной специфичности присущая всем микроорганизмам, это широко используется в лабораторной практике для идентификации бактерий.

- Ферменты микроорганизмов используют в генетической инженерии (рестриктазы, лигазы и др.) для получения различных биологически активных веществ, а также важных продуктов в легкой, пищевой и других отраслях промышленности, медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве.



при грамотно проведенной гомогенизации большая часть внутримембранных органелл остается не поврежденной



## Преимущества биоконверсии (по сравнению с «химией»)

- 1) Катализаторы**  
(ферменты)  
синтезируются микроорганизмами в одну стадию.
- 2) Биоконверсия**  
энергетически более выгодна, чем химические превращения.



## Возможные варианты конверсии сырья

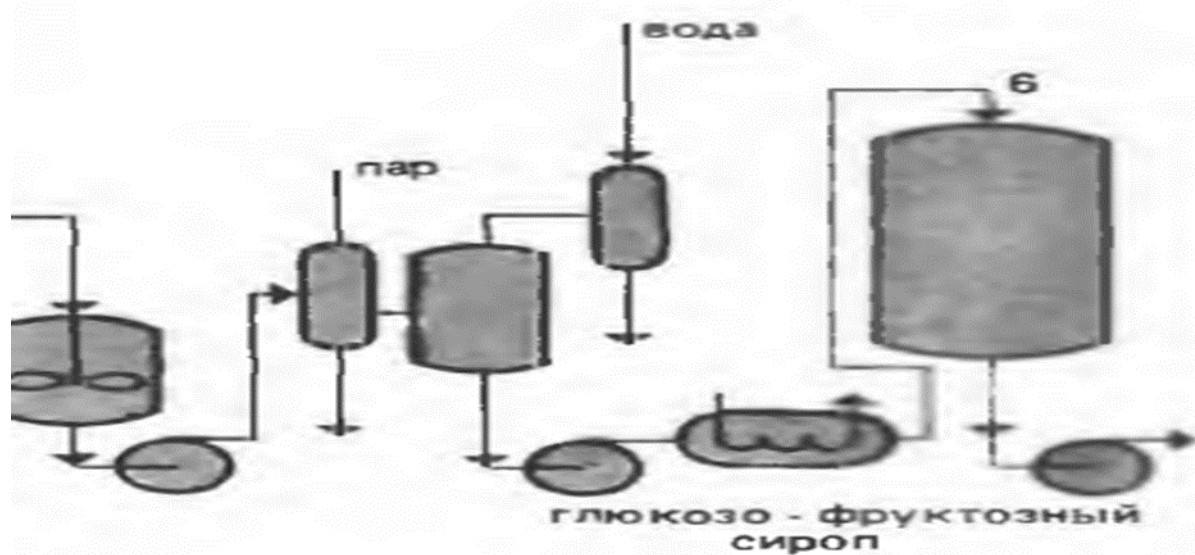
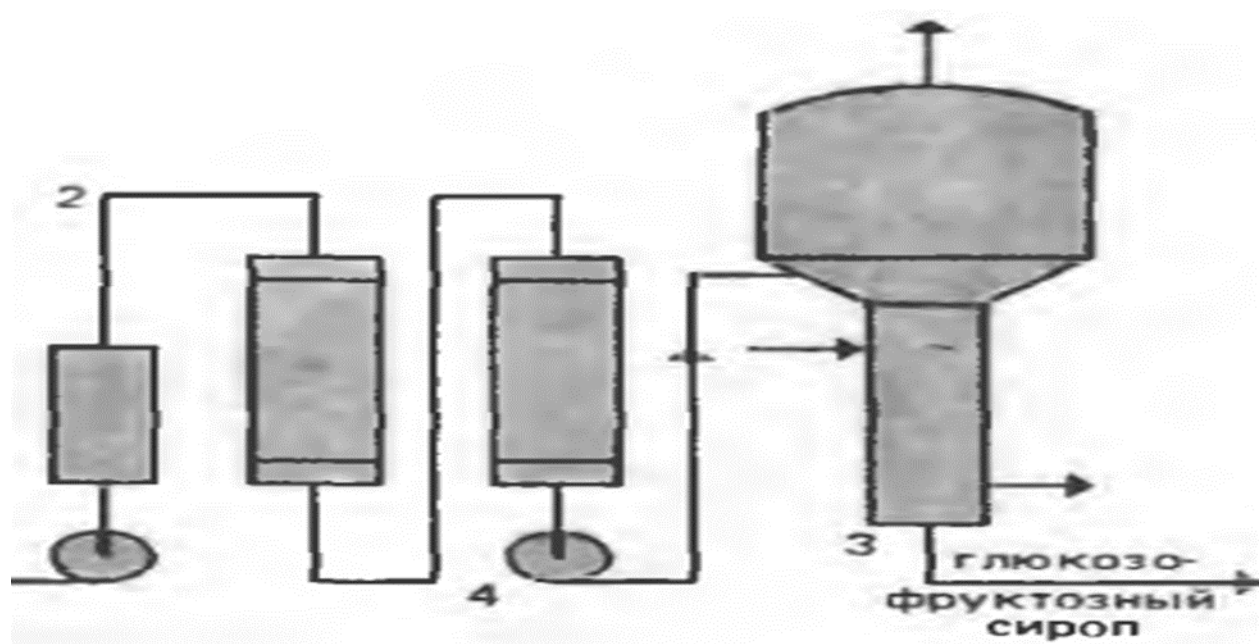


7

## Виды и объемы использования ОТХОДОВ



15





Yakuniy nazorat masalalari (ik)

1. Enzimologiya ajralmas qismi hisoblanadi

= Botanika

= Mexanika

= Fizika

+ Biokimyo

2. Birinchi marta "katalizator" atamasidan foydalanilgan»

= Lavoisier

=Gay Lussac

= Veler

+Berzelius

3. Katalizning asosiy tamoyillari quyidagicha shakllantirilgan

=18 ichida.

+19 ichida.

=136

=20 ichida.

21 ichida.

4. Fermentlar mavjud

=Miyelin

=Mureine

+ Plazmolemma

= Xitin

5. Enzimatik faoliyat o'ziga xos emas

= Prokaryotlar

=Eukaryotam

= Arxeologiya

+ Cephaline

6. Fermentlarning kimyoviy tabiati isbotlangan

+ Buhnerom

= Fisher tomonidan

= Paster

= Liebich

7. Kristal shaklida ferment birinchi marta olingan

=Neubergom

+ Samnerom

= Cone

= Bernar

8. Biologik katalizatorlar

= Pentosanami

= Sterollar

+ Oqsillar

=Eikosanlar

9. Tufayli hujayralardagi mavjudligi uchun compartmentation

+ Membranalar

=Sitozol

= Kislrod

=Suv

10. Membran hosilalariga quyidagilar kiradi

= Pektinlar

= Histon

+ Mitokondriya

= Virionlar

11.Eukaryotlarning sitosolida fermentlar joylashgan

=To'qima nafas olish

+Yog ' kislotalari sintezi

= b-oksidlanish

= Trikarboksilik kislotalarning aylanishi

12. Mitokondriyal matritsada sodir bo'lmaydi

=Piruvatning oksidativ dekarboksilasyonu

+ Laktik kislota piruv kislotasini tiklash

=Substrat fosforillanish

= Sitrat sintezi

13. Ribozim deyiladi

+ Nukleotid tabiat katalizatorlari

=Riboz lotin

= Vitaminlar

= Glikoproteinlar

14. Fermentlar mavjud emas

=Hujayra yadrolari

=Golgi Apparati

=Plazma membranalari

= Nafas oladigan havo

15. Fermentlar manbalari emas

+ O'simlik hujayralarining devorlari

= Hayvonlarning ichki organlari

= Mikroorganizmlar madaniyati

= O'simlik sharbatlari

16. Fermentlar o'ziga xosdir

+ Reaksiyalarni tezlashtirish

= Yangi reaksiyalarga sabab

= Balansni almashtirish

= Yakuniy mahsulotlarning bir qismi

17. Hujayra fermentlarining faoliyati bog'liq emas

+ Plazmid DNK

= Membrana fosfolipidlar

= Substrat kontsentratsiyasi

= pH

18. Fermentlar quyidagilar bilan ajratiladi

= Qaynoq

+ Tushirish

= Yuqori samarali gaz-suyuqlik xromatografiya

= Elektroliz

19. Oziq-ovqat sanoatida fermentlar uchun ishlatilmaydi

+ Oqsil sintezi

= Ichimliklarni tozalash

= Yumshoq go'sht

= Pishloq ishlab chiqarish

20. Eng yirik sanoat dasturlari mavjud

= Transferaz

+ Hidrolaz

= Sintetazlar

=LiAZ

21. Protein bo'lmagan katalizatorlardan farqli o'laroq, fermentlar

+ Yanada samarali

=Kamroq aniq

=Tizimdagi muvozanatni almashtirish

=Ko'proq termostabil

22. Fermentlar ba'zi molekulalardir

= Aminokislotalar

= Peptidlar

+ Oqsillar

= Lipidlar

23. Barcha fermentlar tuzilishga ega emas

= Asosiy

=Ikkinchi darajali

= Uchinchi

+ Chorak

24. Faol ferment markazi

= Molekula markazida joylashgan

= Koenzim deb ataladi

+ Apoenzim

= Aminokislotalar va prostetik guruhlarining qoldiqlaridan iborat

25. Aloqa sohasida sodir bo'lmaydi

=Substrat qo'shilishi

=Substrat molekulasining yo'nalishi

+ Substratning kovalent modifikatsiyasi

=Substrat bilan yaqinlik

26. Katalitik saytda emas

+ Allosterik effekt mavjud

=Mahsulot hosil bo'ladi

=Fermentni qayta tiklaydi

= Koenzim o'zgartirildi

#### 27. Allosteric markazi

= Faol yonida joylashgan

+Faol markazdan olib tashlandi

=Substrat bilan bog'lanadi

= Reaksiya tezligiga ta'sir qilmaydi

#### 28. Koenzim-bu

=Fermentning oqsil qismi

+Faol markazning past molekulyar komponenti

=Fermentning tartibga solish qismi

= Fermentning faol bo'lmagan shakli

#### 29. Katalizator

= Reaksiya muvozanatiga ta'sir qiladi

+Bir faol to'g'ridan-to'g'ri va teskari reaksiyani tezlashtiradi  
markazi

=Reaksiya mahsulotlari bilan o'zaro ta'sir qiladi

= Aktivizatsiya energiyasini o'zgartirmaydi

#### 30. Cheklangan proteoliz

+Fermentlarni faollashtirish mexanizmi

=Muayyan haroratda sodir bo'lgan reaksiya

=Qisqa muddatli reaksiya

=Cheklangan substratlar to'plami bilan reaksiya

#### 31. Izoenzimalar farq qiladi

= Aloqalar izomeri

+ Kichik birliklarni o'rnatish

= Katalizator mexanizmi

=Substrat o'ziga xosligi

#### 32. Izoenzimalar mavjud emas

=Organ o'ziga xosligi

+ Bir xil molekulyar tuzilish

= Kinetik farqlar

= Allosterik ta'sirlar

33. Koshlandning uyg'unlashuv nazariyasiga ko'ra

=Faol markazning konformatsiyasi o'zgarmaydi

+ Katalitik guruhlar fermentda harakat qiladi

=Substrat va ferment qulf uchun kalit sifatida mos keladi

=Substrat fermentning tuzilishiga ta'sir qilmaydi

34. Ferment va substrat molekulalari o'rtasida hech qanday bog'liqlik yo'q

+ Peptid

=Vodorod

=Elektrostatik

= Hidrofobik

35. Metall fermentlarning substrat bilan o'zaro ta'siri quyidagilarni o'z ichiga oladi

aloqa

=Disulfid

= Glikozid

+ Muvofiqlashtiruvchi

= Muhim

36. Profillar

+ Fermentlarning faol bo'lmagan predmetlari

=Denature qilingan fermentlar

=Fermentlar molekulalarining qismlari

=Oqsil bo'lmagan komponentlar

37. O'ziga xoslik yo'q

Nisbiy

Mutlaq

+ Qisman

=Guruh

38. Nisbatan o'ziga xos fermentlar

+ Konvertatsiya qilishning mumkin bo'lgan reaksiyalaridan birini katalizlaydi substratlar

=Turli kimyoviy reaksiyalarni tezlashtiring

=Reaksiyalarni faqat bitta substrat bilan katalizlang

=Turli xil sharoitlarda turli xil kimyoviy moddalar katalizlanadi reaksiyalar

39. Yuqori o'ziga xos fermentlar

=Izotoplarni "ajratish" mumkin emas

+ A - va b-anomaliyalarga nisbatan selektivlikni ko'rsatadi

= Optik izomerlarni farqlamang

= Effekt ta'siri bilan tartibga solinmaydi

40. Fermentlarni tozalash bunga olib keladi

+ Molekulyar faollikning qisman yo'qolishi

=Ikkilamchi strukturaning o'zgarishi

= O'ziga xoslikni o'zgartirish

= Inhibitorlari sezuvchanlik kamaytirish

41. Katalizator

=Aktivizatsiya energiyasini oshiradi

+ Aktivizatsiya energiyasini pasaytiradi

= Issiqlik ta'sirini oshiradi

= Issiqlik ta'sirini kamaytiradi

42. Tufayli ferment yuqori samaradorligi

=Substratning adsorbsiyasi

+ Ferment-substrat komplekslarini shakllantirish

=Tizimda erkin energiyani oshirish

=Kamaytirish  $\Delta S$

43. Enzimatik reaksiya tezligi bog'liq emas

=Substrat kontsentratsiyasi

= pH

=Harorat

+ Koenzim molekulyar massasi

44. Reaksiya ishtirokchilarining qaysi biri shakllanishi qaytar?

=E S

=ES

=P

=S

45. Fermentlar reaksiyalar tezligini maksimal darajada oshirishi mumkin ... bir marta

=2

=5

=10

+10-20

46. Ferment o'tish holati-substrat kompleksi mos keladi

=Oliy energiya faollashtirish

+ Past energiya faollashtirish

=Oliy  $\Delta H$

=Yuqori energiya to'sig'i

47. Michaelis Tenglama-Menten

+ Fermentning konsentratsiyasiga bog'liqligini bildiradi substrat

= Reaksiyaning barcha bosqichlarini hisobga oladi

= Reaksiyaning ikkinchi bosqichini tasvirlaydi-e va P shakllanishi

=Es kompleksining ta'lim bosqichini hisobga olmaydi

48. Michaelis sobit soni teng

= Reaksiya tezligi

=To'g'ridan-to'g'ri va teskari reaksiya sobit nisbati

=Fermentning molekulyar faolligi

+  $V=V_{max}/2$  uchun substrat konsentratsiyasi

49. Es kompleksining ajralib turadigan sobit  
+ Fermentning substratga yaqinligi o'lchovidir  
= Reaksiya tezligini belgilaydi  
= Es kompleksining qaytarilmas parchalanish bosqichini tavsiflaydi  
= Reaksiya mahsulotiga bog'liq
50. Holdane-Briggs Tenglamasi  
+ Hosil bo'lgan mahsulotlarning tezligiga ta'sirini hisobga oladi  
reaktsiyalar  
= Michaelis-Menten qoidalariga zid keladi  
= Bepul e va P shakllanishini hisobga olmaydi  
= Km ni hisobga olmaydi
51. Linuiver-Bark tenglamasi aniqlash uchun ishlatiladi  
ferment faoliyati  
= Reaksiya tezligi  
= ES-kompleksi ta'limi  
+ Km va Vmax raqamli qiymatlari  
= Km ni hisobga olmaydi
52. Bimolekulyar reaksiyalarda  
= Ferment va aktivator ishtirok etadi  
= Kimyoviy guruhlar bir birikmadan  
boshqa  
+ Yangi moddalar sintez qilinmaydi  
= Bir substrat aylanadi
53. Bimolekulyar reaksiyalar reaksiyalarni o'z ichiga olmaydi  
= Sintez  
= Oksidlanish  
= Tiklash  
+ Izomerizatsiya
54. Bimolekulyar reaksiyalar mexanizm orqali sodir bo'lishi mumkin  
+ Bitta almashtirish

= Yo'q qilish

=Uchta almashtirish

= Inversiya

55. Er-xotin almashtirish uchun odatiy emas

= "Ping pong" turi mexanizmi»

=Ikki tomonlama reaksiya

+ Faol markaz bilan bir vaqtning o'zida ikkita aloqa mavjud  
substrat

=Har bir daqiqada bir substrat ferment bilan bog'liq

56. Bimolekulyar turli substratlar uchun km qiymatlari

reaktsiyalar bo'lishi mumkin

+ Ko'rinishda

= Noaniq

=Har doim bir xil

= Cheksiz kichik

57. Yagona almashtirish reaksiyalari-bu emas

=Bimolekulyar reaksiyalar

=Ikkita EAB substratli ferment kompleksining shakllanishi

+ EAB kompleksining parchalanishi C va reaksiya mahsulotlarini hosil qiladi  
D

=Monomolekulyar reaksiyalar

58. Spirtli dehidrogenaz bilan katalizlangan reaksiya,

+CH<sub>3</sub> CH<sub>2</sub> OH + ustida + ↔ CH<sub>3</sub> COH + ustida HAD H + h<sup>+</sup>,

=Monomolekulyar

=Bimolekulyar

=Supramolekulyar

=Vitamin B5 konsentratsiyasiga bog'liq emas

59. Ferment konsentratsiyasi

= Reaksiya tezligiga ta'sir qilmaydi

+ Reaksiya tezligiga sezilarli ta'sir ko'rsatadi

= Dastlabki reaksiya tezligi bilan bog'liq emas

=  $K_m$  qiymatini belgilaydi

60. Dastlabki reaksiya tezligi

+ Ferment miqdori o'lchovidir

= Ferment miqdoriga bog'liq emas

= Faqat substrat konsentratsiyasiga bog'liq

=  $K_S$  qiymati bilan belgilanadi

61. pH ta'sir qiladi

+ Faol markazda funktsional guruhlarining ionlanish darajasi

= Reaksiya issiqlik ta'siri

= Faollashtirish energiyasi

= Energiya to'sig'i

62. pH harakat qilmaydi

= Proton-donor guruhlar

= Proton-qabul qiluvchi guruhlar

= Katalitik uchastkaning ionizatsiyasi

+ Faol markazning asosiy tuzilmasi

63. Atrof-muhitning pH o'zgarishi ta'sir qilmaydi

= Substratning ionlanishi

= ES kompleksining ionlashtirilishi

= Ferment denaturasyon tezligi

+ Reaksiya issiqlik ta'siri

64. Optimal pH qiymatlari

= To'g'ridan-to'g'ri va teskari reaksiyalar uchun har doim bir xil

+ To'g'ridan-to'g'ri va teskari reaksiyalar uchun farq qilishi mumkin

= Har xil ferment ta'sirida har doim bir xil

substratlar

= Har xil fermentlar ta'sirida har doim bir xil

substrat

65. pH barqarorligi

+ PH qiymati, unda ferment o'z faoliyatini saqlab qoladi  
muayyan vaqt

= Reaksiya tezligi maksimal bo'lgan pH qiymati

=pH, unda kompleks barqaror

=Substratning atrof-muhitning pH o'zgarishiga qarshilik

66. pH-ferment barqarorlik bog'liq emas

=Dori shakllari

=Ferment tozalash darajasi

= Atrof-muhit tarkibi

+Km

67. pH-bu

+ Vodorod ionlari konsentratsiyasining salbiy logaritmi

= Protonlar soni

= Gidroksil ionlarining konsentratsiyasi

= Ionlanish darajasi

68. Eng fermentlarning optimal pH qiymati

pH oralig'i

=1-5

+6-8

=9-11

=12-14

69. Optimal pH pepsin qadriyatlarga mos keladi

+1,5-2,5

=3-7

=8-10

=11-14

70. Amilaza pH ning optimal miqdori teng

=1-4

=4,1-7,1

+7,2-7,4

=7,5-12

71. Kislota va gidroksidi fosfatazlar farq qilmaydi

= Optimum pH

+ Mahalliyashtirish

= Katalizli reaksiya turi

=Faol funktsional guruhlarining ionlanish darajasi  
markazi

72. Ko'pgina fermentlarning maksimal faolligi

harorat oralig'ida (°C)

=0-20

+25-35

=35-45

=50-100

73. Harorat ta'sir qilmaydi

=Es kompleksining bo'linish tezligi

+ Fermentning substratga yaqinligi

=Reaksiya tarkibiy qismlarini ionlashtirish jarayoni

= Apoenzimning asosiy tuzilishi

74. Ta'sirni tavsiflovchi Arrhenius tenglamasi

reaksiya tezligi uchun harorat amal qiladi

+ Harorat egri chap, yuqoriga qismi uchun  
fermentativ reaksiya

=Ferment faoliyati bilan bog'liq barcha egri  
harorat

=Faqat fermentativ bo'lmagan reaksiyalarga

= Tezlikni qaramlik egri o'ng, pastga qismiga  
haroratdan fermentativ reaksiya

75. Q10 harorat koeffitsienti xarakterlaydi

+ Harorat ko'tarilganda reaksiyani tezlashtirish

= Faollashtirish energiyasi

=Energiya to'sig'i

= Issiqlik ta'siri

76. Non-fermentativ kimyoviy reaksiyalar uchun Q10 qiymati

teng

=0-1

+4-5

=6-10

10-12

77. Fermentativ reaksiyaning Q10 qiymati

=0-1

+1-2

=2-3

=4-5

78. Harorat qaramligining pastga (o'ng) filiali

izohlangan

+ Ferment oqsili denatürasyonu

=Mahsulot shakllanishi

=Es kompleksining parchalanishi

=Substratni mahsulotga aylantirish

79. Optimal harorat bog'liq emas

=Fermentning termal barqarorligi

= pH muhiti

=O'rta tuz tarkibi

+ Faoliyatni aniqlash usuli

80. Ferment preparatining termostabilligi

+ Fermentni tozalash bilan kamayadi

=Substrat ta'siri ostida o'zgarishi mumkin emas

= Fraksiyonasyondan mustaqil

=Ferment manbasiga bog'liq emas.

81. Aktivatorlar deyiladi

+Ferment faolligini oshiruvchi moddalar

Substratni inaktiv qiluvchi omillar

Reaktsiya sodir bo'lmagan moddalar

Koenzimalar

82. Faollashtiruvchi

=Ferment bilan qayta tiklanmaydi

=Faol markazning bir qismi

=Faqat allosterik tarzda harakat qiling

+Faol va allosterik tarzda harakat qilishi mumkin  
markazlari

83. Fermentlarning faollashtiruvchilari orasida quyidagilar mavjud emas

=Glutation

+Riboflavin

=  $\text{Ca}^{2+}$

=Cl –

84. Faollashtiruvchi vositalar

+ Faol markazni shakllantirishda ishtirok etish

=Substratni ulash

=Ferment kovalent modifikatsiyasi

= Koenzim inaktivatsiyasi

85. Aktivatorlar mumkin emas

=Ferment-substrat kompleksini barqarorlashtirish

=Ferment konformatsiyasini barqarorlashtirish

+ Reaktsiyani katalizatsiya qilish

=Allosterik ferment faolligini oshiradi

86. A-amilaza faollashtiruvchi hisoblanadi

= $\text{Na}^+$

=Glutation

+Cl –

= $\text{Cu}^{2+}$

87. Tiol fermentlarining faollashtiruvchi vositasi

= Kaltsiy

+ Qayta tiklangan glutation

= Selen

=Dehidroaskorbin kislotasi

88. Kaltsiy ionlari faollashmaydi

=Adenilat siklazu

+ Pepsin

= Kalpainlar

=Protein kinazu

89. Kovalent bilan fermentning faollashuviga misol

o'zgartirish reaktsiya emas

= Fosforilaz b ning fosforillanishi

Pepsinogendan pepsin shakllanishi

= Ximotripsinogenning cheklangan proteolizasi

+ Glikogensintetaz fosforillanish

90. Allosterik faollashtirish quyidagi tarzda amalga oshiriladi

=Aktivatorni faol markazga ulash

=Salbiy ligandning allosterikaga qo'shilishi

markazi

=Apoenzimning kovalent modifikatsiyasi

+ Regulyator uchun ijobiy modulatorning harakatlari

ferment markazi

91. Inhibisyon sodir bo'lmaydi

=Qaytar

=Qaytarilmas

= Raqobat

+ Nisbiy

92. Fermentning inhibisyonu harakat paytida sodir bo'lmaydi

ingibitori

= Faol markaz

= Allosteric markazi

+ Reaktsiya mahsuloti

= Ferment-substrat majmuasi

93. Salbiy teskari turi bo'yicha jarayon inhibitörü

aloqa xizmat qilishi mumkin

+ Yakuniy mahsulot

= Substrat

= Metall ion

= Vitamin

94. Qaytarilmas inhibitsiyon bo'lishi mumkin

= Raqobat

= Raqobatsiz

= Raqobatbardosh emas

+ Kovalent

95. Raqobat inhibitori sifatida xizmat qilishi mumkin

= Metall ion

+ Substratning analoglari

= Reaktsiya mahsuloti

= Sintez repressori

96. Raqobatbardosh bo'lmagan Inhibitor bilan bog'lanishi mumkin

= Faol markaz

= Ferment-substrat majmuasi

+ SH-sistein qoldiqlari guruhlari

= Koenzim

97. Raqobatsiz inhibitsiyon bilan Inhibitor

bilan bog'laydi

= Katalitik maydon

= Aloqa maydoni

+ Ferment-substrat majmuasi

= Allosteric markazi

98. Raqobat inhibisyonu bilan

+ Km Ko'tariladi

=Km Kamayadi

=Vmax Ko'tariladi

=Vmax Kamayadi

99. Raqobatbardosh bo'lmagan inhibisyon bilan

=Km Ko'tariladi

=Km Kamayadi

=Vmax Ko'tariladi

+ Vmax Kamayadi

100. Raqobat inhibitörleri

+ Faol markazdan substratlar bilan almashtiriladi

= Dori sifatida ishlatilmaydi

= Faol markaz qayta tiklanmaydi

= Koenzimni qayta tiklash

101. Quyidagi qoidalaridan biri mos kelmaydi

fermentlarni tasniflash

=Fermentlar 6 sinflarga bo'linadi

=Ferment nomi substrat nomini, turini o'z ichiga oladi

= katalizli reaksiya va "aza" ning oxiri»

=Har bir fermaga 4 xonali shifr beriladi

+Fermentlarning barcha ahamiyatsiz nomlari bekor qilindi

102. Amaldagi xalqaro tasnifga ko'ra

fermentning muntazam nomi o'z ichiga olmaydi

=Substrat nomi

= Reaksiya turi

+ Reaksiya mahsulot nomi

= "Aza" ning oxiri»

103. Enzim shifrini o'z ichiga olmaydi

= Sinf

=Pastki sinf

= Tartib raqami

+ Izoenzim soni

104. Shifrlashning ikkinchi raqami, odatda, degan ma'noni anglatadi,

Donorning tabiati

= Qabul qiluvchi tuzilishi

= Katalizli reaksiya turi

= Koenzim turi

105. Fermentlarning birinchi klassi deyiladi

= Izomeraz

=Dehidrogenaz

+ Oksidoreduktaza

=Amilaza

106. Fermentlarning ikkinchi klassi deyiladi

= Peptidazlar

=LiAZ

= Fosfatazlar

+ Transferazlar

107. Uchinchi sinf katalizator barcha fermentlarni birlashtiradi

reaktsiyalar

+ Hidroliz

= Sintez

= Oksidlanish

= Tiklash

108. To'rtinchi sinfda tezlashtiradigan fermentlar mavjud

reaktsiyalar

+Ikki tomonlama aloqalar yoki

ikki tomonlama aloqalar

=Muayyan guruhlarini uzatish

= Karboksilasyon

= Fosforillanish

109. Beshinchi sinf fermentlari katalizator emas

+Polimerlarga alohida monomerlarni ulash

molekulalar

=Kimyoviy guruhlarining intramolekulyar uzatilishi

=Molekulalarning geometrik konfiguratsiyasini o'zgartirish

= Cis-trans izomerlarining shakllanishi

110. Oltinchi sinf fermentlari reaksiyalarni katalizlaydi

=To'qima nafas olish

=Deaminatsiya

=Organik birikmalarning izomerik shakllari shakllanishi

+ Makroerjik gidroliz bilan bog'liq sintez

aloqalar

111. Reaksiya katalizatori: etanol+ NAD +  $\rightarrow$

asetaldegid + NAD<sub>2</sub>H sinfga tegishli

=Transferaz

= Sintetaz

+Oksidoreduktaz

= Izomeraz

112. Reaksiya: izositrat  $\rightarrow$  süksinat + glioksilat

sinf fermentini katalizlaydi

= Gidroliz

+ LiAZ

=Transferaz

=Oksidoreduktaz

113. Reaksiya: alanin + 2-oksoglutarat  $\rightarrow$  piruvat + glutamat

katalizatorlar

+ Transfer

=Dehidrogenaz

=Glutaminsintetaz

= Transglutaminaz

114. Oksidaz reaksiyalarni katalizlaydi, unda qabul qiluvchi xizmat qiladi

=Vodorod

+ Kislorod

=Ammiak

=Oksik kislota

115. Reaksiyalar:  $rr1 + HOH \rightarrow ROH + R1H$  katalizator

=Oksidoreduktaza

=Transferaz

+ Hidrolaz

=LiAZ

116. KF 5.1.1.1.1 bo'lgan enzim katalizatorlar reaksiya

=Alanin + 2-oksoglutarat  $\rightarrow$  piruvat + glutamat

=Izositrat  $\rightarrow$  süksinat + glioksilat

+L-alanin D d-alanin

=Etanol + NAD +  $\rightarrow$  asetaldegid + NADH

117. Reaksiya:  $sukroz + H_2O \rightarrow a,D\text{-glyukopiranoz} + b, D\text{fruktofuranoz}$  fermentni katalizlaydi

= b-Fruktofuranozidaz

= Invertaz

=Saxaroza

+ Glyukoza oksidaz

118. Ferment faoliyati

=Reaksiya vaqtida substratning kamayishi bilan aniqlash mumkin emas

=Mahsulot miqdori ortishi bilan aniqlanmagan

vaqt birligi

+ Bu miqdor bilan bog'liq reaksiya tezligi

ferment

=ES kompleksining kontsentratsiyasi bilan belgilanadi

119. 1 Catal-bu

=Katalizator konsentratsiyasi, 1 mol / l

=Ferment holda reaksiya tezligi

+ 1 Molli substratni aylantiruvchi ferment faoliyati

ikkinchi

Bir ferment molekulasining faoliyati

120. Xalqaro (standart) faoliyat birligi

ferment-bu

+ Transformatsiyani katalizlaydigan ferment miqdori

1 daqiqa uchun 1 mikronli substrat

=1 mg proteinga tegishli faoliyat

=Bir molekula tomonidan aylantirilgan substrat molekulalarining soni

vaqt birligi uchun katalizator

= Molekulyar katalizatorning faoliyati

ommaviy

O'z-o'zini sinab ko'rish testlari

Mavzu 1. Enzimologiya ilmiy fan sifatida.

1. Enzimologiya ajralmas qismidir

O'simlikshunoslar

Mexanika fizikasi

Biokimyo

2. Birinchi marta "katalizator" atamasi ishlatilgan

Lavuazye

Gey lussak

Vohler

Berzeliy

3. Katalizning asosiy tamoyillari shakllantirildi

18-asr

19-asr  
20-asr 21 c.

4. Fermentlar tarkibida mavjud

Myeline

Mureine

Plazmolemma

Xitin

4. Fermentativ faollik xos emas

Prokaryotlar

Eukaryotlar

Archeyam

Kefalinam

5. Fermentlarning kimyoviy tabiati isbotlangan

Buchner Fischer

Paster

Libebig

6. Ferment birinchi marta qobiq shaklida olingan

Noyberg

Sumner

Kuehne

Bernard

7. Biologik katalizatorlar

Pentozanlar

Sterinlar

Oqsillar

Eikosanami

8. Bo'linga ajratish hujayralar tarkibida bo'lishiga bog'liq

Membran

Sitosol

Kislorod

Suv

9. Membran shakllanishiga quyidagilar kiradi

Pektinlar

Gistonlar

Mitoxondriya

## Virionlar

10. Fermentlar eukaryotlarning sitozolida lokalize qilingan  
To'qimalarning nafasi Yog 'kislota sintezi  $\beta$  - oksidlanish  
Trikarboksilik kislota aylanishi

4. Matritsada mitoxondriya sodir bo'lmaydi  
Piruvatning oksidlovchi dekarboksillanishi  
Piruvik kislota sutgacha kamaytirish  
Substrat fosforillanish  
Sitrat sintezi

5. Ribozimlar deyiladi  
Nukleotid katalizatorlari  
Riboza hosilalari  
Vitaminlar  
Glikoproteinlar

6. Fermentlar tarkibida mavjud emas  
Hujayra yadrolari  
Golgi apparati  
Plazma membranalari  
Nafas chiqaradigan havo

7. Fermentlarning manbalari bunday emas  
Hujayra devorlarini o'simlik  
Hayvonlarning ichki organlari  
Mikroorganizm madaniyati  
O'simlik sharbatlari

8. Fermentlar reaksiyalarni tezlashtirishga moyil  
Yangi reaksiyalarni keltirib chiqaring  
Shift balans  
Yakuniy mahsulotlarning bir qismi bo'ling

4. Uyali fermentlarning faolligi bog'liq emas  
Plazmid DNK  
Membrana fosfolipidlari Substrat konsentratsiyasi pH

5. Fermentlar tomonidan ajratib olinadi  
Qaynatish  
Tuzlanish  
Yuqori sifatli gaz-suyuqlik xromatografiyasi  
Elektroliz

6. Oziq-ovqat sanoatida fermentlar ishlatilmaydi

Protein sintezi

Ichimliklarni tozalash

Go'shtni tenderga berish

Pishloq ishlab chiqarish

7. Eng katta sanoat dasturlari

Transferazalar

Gidrolazalar

Sintetazlar

Lizalar

Mavzu 2. Fermentlarning tarkibiy va funktsional tashkil etilishi.

1. Protein bo'lmagan katalizatorlardan, fermentlardan farqli o'laroq

Keyinchalik samarali

Kamroq aniq

Tizimdagi muvozanatni o'zgartirish

Ko'proq termostabil

2. Fermentlar bu ayrimlarning molekulalari

Aminokislotalar

Peptidlar

Oqsillar

Lipidlar

3. Fermentlarning hammasi ham tuzilishga ega emas

Birlamchi

Ikkilamchi

Uchinchi darajali

To'rtlamchi davr

4. Fermentning faol markazi

Molekulaning markazida joylashgan

Koenzim deb nomlangan

Bu apoenzimdir

5. Aminokislota qoldiqlari va protez guruhlaridan iborat

Aloqa sohasida sodir bo'lmaydi

Substratning PRAZ aloqasi

Substrat molekulasining yo'nalishi

Substratning kovalent modifikatsiyasi

Substratga yaqinlashish

1. Katalitik qismda qilmang  
Allosterik effektorlar ishlaydi  
Mahsulot hosil bo'ladi  
Fermentni qayta tiklaydi  
Koenzim o'zgartirilgan

2. Allosterik markaz  
Faolning yonida joylashgan  
Faol markazdan olib tashlandi  
Substrat bilan bog'lanadi  
Reaksiya tezligiga ta'sir qilmaydi

3. Koenzim bu  
Fermentning oqsil qismi  
Faol joyning past molekulyar og'irligi  
Fermentlarni tartibga soluvchi sayt  
Fermentning harakatsiz shakli

1. Katalizator  
Reaksiya muvozanat konstantasiga ta'sir qiladi  
Bitta faol markazda oldinga va orqaga reaksiyalarni tezlashtiradi  
Reaksiya mahsulotlari bilan o'zaro ta'sir qiladi  
Aktivizatsiya energiyasini o'zgartirmaydi

2. Cheklangan proteoliz  
Fermentlarni faollashtirish mexanizmi  
Muayyan haroratdagi reaksiya  
Qisqa muddatli reaksiya  
Cheklangan substratlar to'plami bilan reaksiya

3. Izozimlar bir-biridan farq qiladi  
Obligatsiyalar izomeriyasi  
Subbirlklarning to'plami  
Kataliz mexanizmi  
Substratning o'ziga xosligi

4. Izozimlar Organning o'ziga xos xususiyatiga ega emas  
Xuddi shu molekulyar tuzilish  
Kinetik farqlar  
Allosterik ta'sir

5 Induksiya qilingan Koshland yozishmalar nazariyasiga ko'ra  
Faol markaz konformatsiyasida hech qanday o'zgarish bo'lmaydi  
Fermentdagi harakatlanuvchi katalitik guruhlar  
Substrat va ferment qulfning kalitiga o'xshaydi  
Substrat fermentning tuzilishiga ta'sir qilmaydi

1. Ferment va substrat molekulari o'rtasida bog'lanishlar hosil bo'lmaydi  
Peptid  
Vodorod  
Elektrostatik  
Hidrofobik

2. Metallofermentlarning substrat bilan o'zaro ta'siri bog'lanishlarni o'z ichiga oladi  
Disulfid  
Glikozid  
Muvofiqlashtirish  
Murakkab efir

3. Fermentlar  
Fermentlarning faol bo'lmagan prekursorlari  
Denatüre qilingan fermentlar  
Ferment molekularining parchalari  
Protein bo'lmagan tarkibiy qismlar

4) o'ziga xoslik yo'q  
Nisbiy

Mutlaqo  
Qisman  
Guruh

1. Nisbatan o'ziga xos fermentlar  
Substratlarning o'zgarishi mumkin bo'lgan reaksiyalaridan faqat bittasini kataliz qiling  
Har xil kimyoviy reaksiyalarni tezlashtiring  
Faqat bitta substrat bilan reaksiyalarni kataliz qiling Turli xil sharoitlarda har xil turdagi kimyoviy reaksiyalarni kataliz qiling

2. Juda o'ziga xos fermentlar  
Izotoplarni "ajrata olmaydi"  
A- va b-anomerlari uchun selektivlikni ko'rsating  
Optik izomerlarni ajratib qo'ymang  
Effektorlar harakati bilan tartibga solinmagan

3. Fermentlarni tozalash olib keladi  
Molekulyar faollikni qisman yo'qotish  
Ikkilamchi tuzilmaning o'zgarishi

O'ziga xoslikning o'zgarishi  
Inhibitorlarga nisbatan sezgirlikning pasayishi

Mavzu 3. Fermentlarning ta'sir qilish mexanizmi.

1. Katalizator

Aktivizatsiya energiyasini oshiradi  
Aktivizatsiya energiyasini pasaytiradi  
Issiqlik ta'sirini oshiradi  
Issiqlik ta'sirini pasaytiradi

2. Fermentning yuqori samaradorligi tufayli

Substrat adsorbsiyasi  
Ferment-substrat komplekslarini hosil bo'lishi  
Tizimda bo'sh energiyani ko'paytirish  
 $\Delta S$  ning pasayishi

3. Fermentatik reaksiya tezligi substratning pH harorati konsentratsiyasiga bog'liq emas

Koenzimning molekulyar og'irligi

4. Reaksiya ishtirokchilaridan qaysi birining shakllanishi qaytariluvchan?

E  
S  
ES  
P

5. Fermentlar iloji boricha reaksiyalar tezligini oshirishi mumkin

... bir marta

2018-04-01 121 2

besh

10

1020

1. Ferment-substrat kompleksining o'tish holati mos keladi

Yuqori faollashuv energiyasi  
Faollashtirish energiyasining pastligi  
 $\Delta H$  dan yuqori  
Yuqori energiya to'sig'i

2. Mixailis-Menten tenglamasi

Ferment ta'sirining substrat konsentratsiyasiga bog'liqligini ifodalaydi  
Reaksiyaning barcha bosqichlarini hisobga oladi  
Reaksiyaning ikkinchi bosqichi - E va P hosil bo'lishini tavsiflaydi

ES kompleksining shakllanish bosqichini hisobga olmaydi

1. Mayklis doimiysi son jihatdan teng

Reaksiya darajasi

Oldinga va orqaga reaksiya konstantalarining munosabati

Fermentning molekulyar faolligi

$V = V_{\max} / 2$  da substrat konsentratsiyasi

1. ES kompleksining dissotsilanish konstantasi

Fermentning substratga yaqinligini o'lchovidir

Reaksiya tezligini aniqlaydi

ES kompleksining qaytarilmas parchalanish bosqichini xarakterlaydi

Reaksiya mahsulotiga bog'liq

2. Xelden-Briggs tenglamasi

Olingan mahsulotlarning reaksiya tezligiga ta'sirini hisobga oladi

Mixailis-Mentenning qoidalariga zid keladi

Erkin E va P hosil bo'lishini hisobga olmaydi  $K_m$  hisobga olinmaydi

1. Ferment faolligini aniqlash uchun Lineweaver-Burke tenglamasidan foydalaniladi

Reaksiya darajasi

ES kompleks shakllanishi

$K_m$  va  $V_{\max}$  ning sonli qiymatlari

2. Bimolekulyar reaksiyalarda ferment va aktivator ishtirok etadi

Kimyoviy guruhlar bir birikmadan ikkinchisiga o'tadi

Yangi moddalar sintez qilinmaydi

Bitta substrat o'zgartirildi

3. Bimolekulyar reaksiyalarga reaksiyalar kirmaydi

Sintez

Oksidlanish

Qayta tiklash

Izomerizatsiya

14. Bimolekulyar reaksiyalar Yagona almashtirish mexanizmi bo'yicha davom etishi mumkin

Yo'q qilish

Uch marta almashtirish

Inversiyalar

15. Ikki marta almashtirish odatiy emas

Ping-pong mexanizmi

Ikki substratli reaksiya

Ikkala substrat bir vaqtning o'zida faol markazga bog'lanadi

Bir vaqtning o'zida bitta substrat ferment bilan bog'langan

16. Bimolekulyar reaksiyadagi turli substratlar uchun  $K_m$  qiymatlari bo'lishi mumkin

Ko'rinmoqda

Aniqlanmadi

Har doim bir xil

Cheksiz kichik

17. Birlikni almashtirish reaksiyalari yo'q

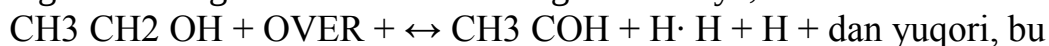
Bimolekulyar reaksiyalar

Ikki EAB substratli ferment kompleksining hosil bo'lishi

EAB kompleksining parchalanishi C va reaksiya mahsulotlarini hosil qilishi bilan D.

Monomolekulyar reaksiyalar

15. Alkogol dehidrogenaza bilan katalizlangan reaksiya,



Monomolekulyar

Bimolekulyar supramolekulyar

B5 vitamini konsentratsiyasidan mustaqil

16. Fermentlarning konsentratsiyasi reaksiya tezligiga ta'sir qilmaydi

Reaksiya tezligiga sezilarli ta'sir ko'rsatadi

Dastlabki reaksiya tezligi bilan bog'liq emas

$K_m$  qiymatini aniqlaydi

17. Dastlabki reaksiya tezligi

Bu ferment miqdorining o'lchovidir

Ferment miqdoriga bog'liq emas

Faqatgina substrat konsentratsiyasiga bog'liq

$K_s$  tomonidan belgilanadi

Mavzu 4. Fermentlarning faolligiga pH va haroratning ta'siri.

1. pH ta'sir qiladi

Faol markazdagi funktsional guruhlarining ionlanish darajasi

Reaksiyaning issiqlik effekti

Aktivizatsiya energiyasi

Energiya to'sig'i

2. pH hech qanday ta'sir qilmaydi

Proton donorlari guruhlari  
Proton-akseptor guruhlari  
Katalitik sayt ionlanishi  
Faol markazning asosiy tuzilishi  
3. Muhitning pH qiymatining o'zgarishi ta'sir qilmaydi  
Substrat ionlanishi  
ES kompleks ionizatsiyasi  
Fermentlarning denaturasyon darajasi  
Reaksiyaning issiqlik effekti

1. Optimal pH qiymatlari  
Oldinga va orqaga reaksiyalar uchun har doim bir xil  
Oldinga va teskari reaksiyalar uchun farq qilishi mumkin, agar bitta ferment turli substratlarga ta'sir qilsa, har doim bir xil bo'ladi  
Turli fermentlar bitta substratga ta'sir qilganda har doim bir xil bo'ladi

1. pH barqarorligi  
PH belgilangan vaqt davomida ferment faol bo'lgan pH qiymati  
ES kompleksi barqaror bo'lgan reaksiya tezligi maksimal pH bo'lgan pH qiymati  
Substratning muhit pH qiymati o'zgarishiga chidamliligi

2. Fermentning pH barqarorligi unga bog'liq emas  
Preparatning shakllari  
Fermentlarni tozalash darajasi  
Axborot vositasining tarkibi  
Km

1. pH  
Vodorod ioni konsentratsiyasining salbiy logarifmi  
Protonlar soni  
Gidroksil ion konsentratsiyasi  
Ionlanish darajasi

2. Ko'pgina fermentlarning optimal pH qiymati pH oralig'ida  
1-5  
6-8  
9-11  
12-14

3. Pepsinning optimal pH qiymati 1,5-2,5 gacha bo'lgan qiymatlarga to'g'ri keladi  
3-7  
8-10

11-14

4. Amilazaning optimal pH qiymati

1-4

4.1-7.1

7.2-7.4

7.5-12

5. Kislota va ishqoriy fosfatazalar farq qilmaydi

PH maqbul

Mahalliyashtirish

Katalizlangan reaksiya turi bo'yicha

Faol markazning funktsional guruhlarining ionlanish darajasi

1. Ko'pgina fermentlarning maksimal faolligi harorat oralig'ida ( $^{\circ}\text{C}$ ) namoyon bo'ladi.

0-20

25-35

35-45

50-100

2. Harorat ta'sir qilmaydi

ES kompleksining parchalanish darajasi

Substrat uchun ferment yaqinligi

Reaksiya tarkibiy qismlarining ionlash jarayonlari

Apofermentning birlamchi tuzilishi

3. Haroratning reaksiya tezligiga ta'sirini tavsiflovchi Arrhenius tenglamasi fermentativ reaksiya harorat egri chizig'ining ko'tarilgan qismiga chapga tegishlidir.

Fermentlar faolligining haroratga bog'liqligining butun egri chizig'iga

Faqat fermentativ bo'lmagan reaksiyalarga

O'ngga, fermentativ reaksiya tezligining haroratga bog'liqligi egri chizig'ining bir qismi kamayib boradi

1. Q10 harorat koeffitsienti xarakterlanadi

Haroratning oshishi bilan reaksiyaning tezlashishi

Aktivizatsiya energiyasi

Energiya to'sig'i

Issiqlik effekti

5. Fermentatik bo'lmagan kimyoviy reaksiyalar uchun Q10 qiymati

0-1

4-5

6-10

2. Fermentatik reaksiyaning Q10 qiymati

0-1

1-2

2-3

4-5

3. Haroratga bog'liqlikning tushayotgan (o'ng) bo'lagi bilan izohlanadi

Ferment oqsilining denaturatsiyasi

Mahsulotni shakllantirish

ES kompleksining qulashi

Substratni mahsulotga aylantirish orqali

1. Tegmaslik harorati muhit pH pH fermentining Termotabilligiga bog'liq emas

Atrof muhitning tuz tarkibi

Faoliyatni aniqlash usuli

2. Fermentni tozalash jarayonida ferment preparatining issiqlik barqarorligi pasayadi

Substrat tomonidan o'zgartirilishi mumkin emas Fraktsiyaga bog'liq emas

Fermentning manbasiga bog'liq emas.

Mavzu 5. Fermentlar faoliyatini tartibga solish.

1. Aktivatorlar chaqiriladi

Fermentning faolligini oshiradigan moddalar

Substratni inaktiv qiluvchi omillar

Reaksiya davom etmaydigan moddalar

Koenzimlar

1. Aktivatorlar

Ferment bilan qaytarib bo'lmaydigan darajada bog'langan

Faol markazning bir qismi

Faqat allosterik tarzda harakat qiling

Faol va allosterik markazlarda harakat qilishi mumkin

2. Ferment aktivatorlarini o'z ichiga olmaydi

Glutation

Riboflavin

Ca<sup>2+</sup> + Cl<sup>-</sup>

3. Aktivatorlar harakat qiladi

Faol markazni shakllantirishda ishtirok etish

Substratni bog'lash

Fermentlarning kovalent modifikatsiyasi  
Koenzimning inaktivatsiyasi

4. Aktivatorlar qila olmaydi  
Ferment-substrat kompleksini barqarorlashtirish  
Fermentning konformatsiyasini barqarorlashtirish  
Reaktsiyani kataliz qiling  
Fermentlarning faolligini allosterik ravishda oshiradi

5. a-amilaza faollashtiruvchisi  $\text{Na}^+$  + dir  
Glutation  
 $\text{Cl}^-$  -  $\text{Cu}^{2+}$  +

1. Tiol fermentlarining faollashtiruvchisi  
Kaltsiy  
Glutation kamaytirilgan  
Selen  
Dehidroaskorbin kislotasi

2. Kaltsiy ionlari faollashmaydi  
Adenilat siklaza  
Pepsin  
Kalpain  
Protein kinaz

3. Kovalent modifikatsiyalash orqali fermentlarni faollashtirishga reaksiya emas  
Fosforilaza fosforillanishi b  
Pepsinogendan pepsin hosil bo'lishi  
Ximotripsinogenning cheklangan proteolizasi  
Glikogen sintetazaning fosforillanishi

1. Allosterik aktivizatsiya tomonidan sodir bo'ladi  
Aktivatorni faol markazga bog'lash  
Salbiy ligandning allosterik markazga ulanishi  
Apofermentning kovalent modifikatsiyasi  
Fermentning regulyativ markazidagi ijobiy modulyatorning harakatlari

2. Hech qanday tormozlanish mavjud emas  
Qaytariladigan  
Qaytarib bo'lmaydigan  
Raqobatbardosh  
Nisbiy

3. Fermentning inhibatsiyasi ta'sir paytida sodir bo'lmaydi

- inhibitori yoqilgan
- Faol markaz
- Allosterik markaz
- Reaksiya mahsuloti
- Ferment-substrat kompleksi
- 13. Yakuniy mahsulot salbiy teskari aloqa jarayonining inhibitori bo'lib xizmat qilishi mumkin.
- Substrat
- Metall ion
- Vitamin
  
- 14. Ingibitsion qaytarilmas bo'lishi mumkin
- Raqobatbardosh
- Raqobatdosh emas
- Raqobatdosh emas
- Kovalent
  
- 15. Raqobatbardosh inhibitor bo'lishi mumkin
- Metall ion
- Substrat analog
- Reaksiya mahsuloti
- Sintez repressori
  
- 16. Raqobatbardosh bo'lmagan inhibitor bilan bog'lanishi mumkin
- Faol markaz
- Ferment-substrat kompleksi
- Sistein qoldiqlarining SH-guruhlar
- Koenzim
  
- 14. Raqobatdosh bo'lmagan inhibitsiyada inhibitor bog'lanadi
- Katalitik qism
- Sayt bilan bog'lanish
- Ferment-substrat kompleksi
- Allosterik markaz
  
- 15. Raqobatbardosh ingibitsion bilan
- Km ko'tariladi
- Km ni pasaytiradi
- Vmax ortadi Vmax kamayadi
  
- 16. Raqobatdosh bo'lmagan ingibitsion bilan
- Km ko'tariladi
- Km ni pasaytiradi
- Vmax ortadi Vmax kamayadi

17. Raqobatbardosh inhibitorlar  
Substratlar tomonidan faol saytdan ko'chiriladi  
Dori sifatida ishlatilmaydi  
Faol saytni qaytarib bo'lmaydigan tarzda bog'laydi  
Qayta tiklanadigan koenzimni bog'laydi

Mavzu 6. Fermentlarning tasniflanishi va faolligini aniqlash usullari

1. Quyidagi qoidalaridan biri fermentlarning tasnifiga to'g'ri kelmaydi  
Fermentlar 6 sinfga bo'linadi  
Ferment nomiga substrat nomi, katalizlangan reaksiya turi va "aza" tugashi kiradi. Har bir fermentga 4 xonali kod beriladi.  
Barcha ahamiyatsiz ferment nomlari olib tashlandi

2. Amaldagi xalqaro tasnifga ko'ra fermentning sistematik nomi o'z ichiga olmaydi  
Substrat nomi  
Reaksiya turi  
Reaksiya mahsulotining nomi  
"Az" ning oxiri

3. Fermentlar kodi o'z ichiga olmaydi  
Sinf  
Subsubklass  
Tartib raqami  
Izozim raqami

4. Shifrning ikkinchi raqami, qoida tariqasida,  
Donor tabiati  
Qabul qiluvchilarning tuzilishi  
Katalizlangan reaksiya turi  
Koenzim turi

1. Fermentlarning birinchi klassi deyiladi  
Izomeraza  
Dehidrogenaza  
Oksidoreduktaza  
Amilaza

2. Fermentlarning ikkinchi klassi deyiladi  
Peptidazlar  
Lizalar  
Fosfataza  
Transferazalar

3. Uchinchi sinf reaksiyalarni katalizlaydigan barcha fermentlarni birlashtiradi

Gidroliz

Sintez

Oksidlanish

Qayta tiklash

4. To'rtinchi sinfga reaksiyalarni tezlashtiradigan fermentlar kiradi

Ikki tomonlama bog'lanish yoki pRasm birikmalarini hosil qilish uchun parchalanish

Muayyan guruhlarni o'tkazish

Karboksilatsiya

Fosforillanish

5. Beshinchi sinf fermentlari individual monomerlarning polimer molekulalariga ulanishini kataliz qilmaydi

Kimyoviy guruhlarning molekulalararo o'tkazilishi

Molekulalarning geometrik konfiguratsiyasini o'zgartirish

Sis-trans izomerlarining hosil bo'lishi

1. Oltinchi sinf fermentlari reaksiyalarni katalizlaydi

To'qimalarni nafas olish

Deaminatsiya

Sintezning organik birikmalarining izomerik shakllarini hosil qilish va yuqori energiyali bog'lanishlarni gidroliz qilish

2. Reaksiyani katalizlovchi ferment:  $\text{etanol} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{asetaldegid} + \text{NADH}$  sinfga kiradi.

Transferaza

Sintetaza

Oksidoreduktaza

Izomeraza

3. Reaksiya:  $\text{izotsitrat} \rightarrow \text{süksinat} + \text{glyoksilat}$  fermentlar sinfini katalizlaydi

Gidrolaza

Liaz

Transferaza

Oksidoreduktaza

4. Reaksiya:  $\text{alanin} + 2\text{-oksoglutarat} \rightarrow \text{piruvat} + \text{glutamat}$

kataliz qiladi

Transferaza

Dehidrogenaza

Glutamin sintetaz

### Transglutaminaz

1. Oksidazlar aktseptor bo'lgan reaksiyalarni katalizlaydi

Vodorod

Kislorod

Ammiak

Gidroksi kislota

2. Reaksiyalar:  $RR_1 + HOH \rightarrow ROH + R_1H$  kataliz qiladi

Oksidoreduktaza

Transferazalar

Gidrolazalar

Lizalar

3. Kodi 5.1.1.1.1 bo'lgan ferment ferment reaksiyasini katalizlaydi

Alanin + 2-oksoglutarat  $\rightarrow$  piruvat + glutamat

Izotsitrat  $\rightarrow$  suktsinat + glyoksilat

L-alanin  $\leftrightarrow$  D-alanin

Etanol + NAD +  $\rightarrow$  asetaldegid + NADH

1. Reaksiya: saxaroza +  $H_2O \rightarrow$  a, D-glyukopiranoza + b, D-fruktofuranoza ferment tomonidan kataliz qilinmaydi.

$\beta$  - fruktofuranosidaza

Invertaz

Saxarase

Glyukoza oksidaz

1. Fermentlarning faolligi

Reaksiya paytida substratning pasayishi bilan aniqlash mumkin emas Vaqt birligi ichida mahsulot miqdorining ko'payishi bilan belgilanmaydi

Bu ferment miqdori bilan bog'liq bo'lgan reaksiya tezligi

ES kompleksining konsentratsiyasi bilan belgilanadi

1. Ferment faolligining xalqaro (standart) birligi

Konversiyani katalizlaydigan ferment miqdori

1 daqiqada 1 mikron substrat

1 mg oqsilga tegishli faoliyat

Vaqt birligiga bitta katalizator molekulasi tomonidan aylantiriladigan substrat molekulalarining soni

Katalizatorning molekulyar og'irligiga asoslangan faolligi.

Test savollariga javoblar

| Тема | Вопрос/ответ |
|------|--------------|
| а    |              |

|   | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 1 | 4 | 4 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 1 | 3  | 2  | 2  | 1  | 4  | 1  | 1  | 1  | 2  | 1  | 2  |
| 2 | 1 | 3 | 4 | 4 | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1  | 2  | 2  | 2  | 1  | 3  | 1  | 3  | 1  | 2  | 1  |
| 3 | 2 | 2 | 4 | 3 | 4 | 2 | 1 | 4 | 1 | 1  | 3  | 3  | 4  | 1  | 3  | 1  | 4  | 3  | 2  | 1  |
| 4 | 1 | 4 | 4 | 2 | 1 | 4 | 1 | 2 | 1 | 3  | 2  | 2  | 2  | 1  | 1  | 2  | 2  | 1  | 4  | 1  |
| 5 | 1 | 4 | 2 | 1 | 3 | 3 | 2 | 2 | 4 | 4  | 4  | 3  | 1  | 4  | 2  | 3  | 3  | 1  | 4  | 1  |
| 6 | 4 | 3 | 4 | 1 | 3 | 4 | 1 | 1 | 1 | 4  | 3  | 2  | 1  | 2  | 3  | 3  | 4  | 3  | 3  | 1  |

## Adabiyotlar ro'yxati

1. Bisswanger H. Amaliy enzimologiya. Per. ingliz tilidan - M.: BINOM. Bilimlar laboratoriyasi, 2015. - 328 b.
2. Volova, T.G. Biotexnologiyaga kirish. 1.0-versiya [Elektron resurs]: elektron. o'rganish. qo'llanma / T.G. Volova. - Elektron. Dan. (2 Mb). - Krasnoyarsk: IPK SFU, 2008 yil.
3. Gracheva I.M., Krivova A.Yu. Fermentlarni tayyorlash texnologiyasi. - M.: "Elevar" nashriyoti, 2000, 512 b.
4. Kaprelyants. L.V. Oziq-ovqat texnologiyasidagi fermentlar. Odessa. nat akad. ovqat. texnologiya - Odessa: Druk. - 2009 yil.  
. Kuzmina N.A. Sanoat biotexnologiyasi. M.: 2006.  
[http://www.biotechnolog.ru/prombt/prombt10\\_1.htm](http://www.biotechnolog.ru/prombt/prombt10_1.htm)
2. Ostrouxova E.V., Sonina E.G., Gerzhikova V.G., Verik G.N., Kepkanov Yu.A., Dzyadevich A.A. Yangi avlod ferment preparatlarini texnologik baholash // "Magarach"  
Uzumchilik va vinochilik. 2004. - № 3. - dan. 19-22.
3. Fermentlarni olish va ulardan foydalanish. // "Chet elda biotexnologiya" veb-sayti. [Elektron resurs] / Kirish rejimi:  
<http://beregrusskij.narod.ru/index-297.html>
1. Prosekov A.Yu., Babich O.O., Soldatova L.S. Kemerovo oziq-ovqat sanoati texnologik instituti biotexnologiya bo'limining rekombinant ferment preparatlarini ishlab chiqarish bo'yicha biotexnologiya sohasida tajribasi. / A.Yu. Prosekov, O.O. Babich, L.S. Soldatova // Oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarish texnikasi va texnologiyasi. 2012. yo'q, p. 1-10.
6. Ryabtseva E. Sanoat biotexnologiyasidan foydalangan holda ishlab chiqarilgan iste'mol mahsulotlari // BIO.org materiallari asosida Internet-jurnal "Tijorat biotexnologiyasi" <http://www.cbio.ru/> [Elektron resurs] / Kirish tartibi: <http://cbio.ru/page/51/id/3075/>.

7. Kerakli xususiyatlarga ega fermentlarni qurishning zamonaviy usullari. // [Elektron resurs] / Kirish rejimi: <http://www.nazdor.ru/topics/medicine/western/current/450566/>. 11. Whitehurst R.J., van Oort M. (tahrir). ... Oziq-ovqat sanoatidagi fermentlar. - Per. ingliz tilidan - SPb.: Professiya, 2014. - 408 p.
12. Xovaev A.A., Nesterenko L.N., Naroditskiy B.S. Oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarishda ishlatiladigan genetik jihatdan yaratilgan mikroorganizmlarning (GMM) xavfsizligini aniqlash va baholashning zamonaviy usullari // Mikrobiologiya, epidemiologiya va immunobiologiya jurnali. - 2011. - № 1. - S.108 - 113.
13. Shleykin A.G., Skvortsova N.N., Blandov A.N. Biokimyo. Laboratoriya ustaxonasi. 2-qism. Oqsillar. Fermentlar. Vitaminlar: darslik. nafaqa. - SPb.: ITMO universiteti, 2015. - 106 p.
- 12.[http://www.krugosvet.ru/enc/nauka\\_i\\_tehnika/biologiya/.FERMENTI.html](http://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tehnika/biologiya/.FERMENTI.html)
- 13.<http://vinograd-vino.ru/sostav-vinograda-i-vina/249tekhnologicheskoe-znachenie-fermentov.html>
- 14.<http://vinobio.narod.ru/9-2.html>
15. <https://www.milkbranch.ru/publ/view/310.html>
16. <https://www.cbio.ru/>
17. <https://tehnoinfo.ru/tehnolog/pish-otr/235-inaktivac-moloka.html>
18. <https://www.ronl.ru/lektsii/biologiya/846557/>

## Tarkib

### Kirish 3

#### 1-qism.

|                                                                                                                 |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Enzimologiya asoslari .....                                                                                     | 4   |
| 1. Fermentlarning kimyoviy tabiati va tuzilishi .....                                                           | 4   |
| 2. Fermentlarning ta'sir qilish mexanizmi .....                                                                 | 9   |
| 3. Fermentatik reaksiyalar kinetikasi asoslari .....                                                            | 11  |
| 4. Aktivatorlar va inhibitorlarning ferment faolligiga ta'siri .....                                            | 16  |
| 4.1. Raqobat ingibito'rleri .....                                                                               | 18  |
| 4.2. Raqobatdosh bo'lmagan inhibitorlar .....                                                                   | 21  |
| 4.3. Aralash ingibitsion .....                                                                                  | 30  |
| 11. Fermentlarning asosiy xossalari .....                                                                       | 35  |
| 11.1. Fermentlar va anorganik katalizatorlar o'rtasidagi farqlar .....                                          | 35  |
| 11.2. Ferment ta'sirining o'ziga xos xususiyati .....                                                           | 36  |
| 11.3. Fermentlarning termoluvchanligi .....                                                                     | 37  |
| 11.4. PH ning fermentlar faolligiga ta'siri .....                                                               | 37  |
| 12. Fermentlarning tasnifi va nomenklaturasi .....                                                              | 39  |
| 13. Immobilizatsiya qilingan fermentlar .....                                                                   | 44  |
| 14. O'zgartirilgan va rekombinant fermentlar .....                                                              | 49  |
| 15. Ferment preparatlarini ishlab chiqarish .....                                                               | 57  |
| 15.1. Ferment preparatlari manbalari .....                                                                      | 57  |
| 15.2. Ferment preparatlari tasnifi va nomenklaturasi .....                                                      | 58  |
| 21.1. Ferment preparatlarini olish manbalari .....                                                              | 58  |
| 21.2. Ferment preparatlari faolligini ifoda etish usullari .....                                                | 60  |
| 21.3. Ferment preparatlarini o'simlik va hayvonot manbalari xom ashyosidan<br>ajratib olish texnologiyasi ..... | 61  |
| 21.4. Dan ferment preparatlarini olish texnologiyasimikroorganizmlarning<br>madaniyati .....                    | 65  |
| 21.5. Ferment preparatlarining sotiladigan shakllarini olish .....                                              | 70  |
| 10. Oziq-ovqat sanoatida fermentlar va ferment preparatlaridan foydalanish ...                                  | 72  |
| 10.1. Sut mahsulotlarida ferment preparatlaridan foydalanish sanoat .....                                       | 82  |
| 10.1. Nonvoyxonada ferment preparatlaridan foydalanish .....                                                    | 84  |
| 10.3. Pektolitik fermentlar preparatlarini vinochilikda qo'llash .....                                          | 98  |
| 2-qism.                                                                                                         |     |
| Laboratoriya amaliyoti .....                                                                                    | 103 |
| 2.1. Fermentlarning yo'qligiga sifatli reaksiyalar                                                              |     |
| 2.1.1. Qondagi katalaz faolligini aniqlash .....                                                                | 103 |
| 2.1.2. Kartoshkada peroksidaza faolligini aniqlash .....                                                        | 104 |
| 2.1.3. Ksantin oksidaza faolligini aniqlash xom sutda .....                                                     | 104 |
| 2.1.4. Tuprikdagi amilaza faolligini aniqlash .....                                                             | 106 |

|                                                                                                 |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| 1.Bufer eritmalarini tayyorlash                                                                 | 4 |
| 2.Fermentlarning faolligini aniqlash usuli                                                      | 4 |
| 3.Oziqa muhiti tarkibi va oziqa muhitlarini tayyorlash                                          | 4 |
| 4.Oziqa muhitlarini sterilizatsiya qilish usullari                                              | 4 |
| 5.Immobilizatsiya usullari. Immobillangan achitqi hujayrasini o‘stirish                         | 4 |
| 6.Immobillangan amilaza yordamida bioreaktorda kraxmalning uzluksiz gidrolizini amalga oshirish | 4 |
| 7.O‘simlik xom-ashyolari tarkibini fermentlar yordamida gidrolizlash                            | 4 |
| 8.Ichimlik suvi va kanalizatsion oqovalarni tozalashda fermentlardan foydalanish                | 4 |
| 9.Mikroorganizmlardan sellyulaza fermentini ajratish.                                           | 4 |
| 10.Laktozasiz sut tayyorlash texnikasi                                                          | 4 |
| 11.Sut zardobidan shakar olish texnologiyasining usullari                                       | 4 |
| 12.Fermentativ shakar olinish texnologiyasi usullari                                            | 4 |
| 13.Fermentlarning yo'qligiga sifatli reaksiyalar                                                | 4 |
| 14.Kartoshkada peroksidaza faolligini aniqlash                                                  | 4 |
| 15.Ksantin oksidaza faolligini aniqlash xom sutda                                               | 2 |
| 16.Tuprikdagi amilaza faolligini aniqlash                                                       |   |