



UUK: 579.58.04

Sitora SAMADIY,

PhD, katta o'qituvchi, O'zbekiston Milliy universiteti, Toshkent, O'zbekiston

E-mail: sitorasamadiy@gmail.com ORCID: 0009-0005-8631-3191

Durdona TOSHPOLATOVA,

International school of Finance technology and science instituti xodimi, Toshkent, O'zbekiston

E-mail: tosh.durdona@gmail.com

O'zMU Biologiya va ekologiya fakulteti professori A.Vahobov taqrizi asosida.

MAHALLIY SOYA NAVLARI DONIDAN UMUMIY OQSILLARINI AJRATISH SHAROITLARINI OPTIMALLASHTIRISH

Аннотация

Soya o'simligi (*Glycine max*) tarkibida yuqori miqdorda yog' (18%), sifatli oqsil (~40%) saqlagani uchun juda katta iqtisodiy ahamiyatga ega o'simlik sanaladi. Shuning uchun bugungi kunda soya oqsillaridan oziq-ovqat sanoatida (kolbasa mahsulotlari va b. uchun izolyat sifatida), farmasevtika (saraton kasalligiga qarshi va antibakterial preparatlar yaratishda) va tibbiyot (xolesterolini kamaytirish, astma, buyrak kasalliklari, osteoporoz kasalligining rivojlanishini oldini olish va b.) sohalarida keng foydalanilmoqda. Ko'plab epidemiologik tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, soya va uning turli xil fitonutrientlarini iste'mol qilish saraton, yurak-qon tomir kasalliklari, metabolik, mushak-skelet kasalliklari, ayniqsa perimenopauza bosqichidagi ayollarda ginekologik, endokrin va buyrak kasalliklarining oldini olish va davolashga yordam beradi.

Kalit so'z: *Glycine max*, oqsil, metionin, sistein, protein, β -konglisinin, ximotripsin, fermentativ faollik, izoflavon, oqsil, tola, saponin.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ЭКСТРАКЦИИ СУММАРНЫХ БЕЛКОВ ИЗ ЗЕРНА МЕСТНЫХ СОРТОВ СОИ

Аннотация

Соя (*Glycine max*) считается сельскохозяйственной культурой, имеющей огромное экономическое значение, благодаря высокому содержанию масла (18%) и высококачественного белка (~40%). В связи с этим соевые белки в настоящее время широко используются в пищевой промышленности (например, в виде изолятов при производстве колбасных изделий), фармацевтической отрасли (при разработке противоопухолевых и антибактериальных препаратов) и медицине (для снижения уровня холестерина и профилактики таких состояний, как астма, заболевания почек и остеопороз).

Многочисленные эпидемиологические исследования показали, что потребление сои и содержащихся в ней разнообразных фитонутриентов способствует профилактике и лечению онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний, нарушений обмена веществ и заболеваний опорно-двигательного аппарата, а также гинекологических, эндокринных и почечных патологий - особенно у женщин в период перименопаузы.

Ключевые слова: *Glycine max*, белок, метионин, цистеин, β -конглицинин, химотрипсин, ферментативная активность, изофлавоны, клетчатка, сапонин.

OPTIMIZATION OF EXTRACTION CONDITIONS FOR TOTAL PROTEINS FROM SEEDS OF LOCAL SOYBEAN VARIETIES

Annotation

Soybean (*Glycine max*) is considered a crop of immense economic importance due to its high content of oil (18%) and high-quality protein (~40%). Consequently, soy proteins are currently widely used in the food industry (for example, as isolates in the production of sausage products), the pharmaceutical sector (in the development of antitumor and antibacterial drugs), and medicine (to lower cholesterol levels and prevent conditions such as asthma, kidney disease, and osteoporosis).

Numerous epidemiological studies have shown that the consumption of soy and the diverse phytonutrients it contains contributes to the prevention and treatment of oncological and cardiovascular diseases, metabolic disorders, and musculoskeletal conditions, as well as gynecological, endocrine, and renal pathologies - particularly in perimenopausal women.

Keywords: *Glycine max*, protein, methionine, cysteine, β -conglycinin, chymotrypsin, enzymatic activity, isoflavone, fiber, saponin.

Adabiyotlar sharxi. Soya tarkibida 33% dan 45% gacha oqsil mavjud [1]. So'nggi paytlarda soya oqsiliga katta e'tibor qaratilmoqda, chunki uning tarkibida 8 tagacha almashmaydigan aminokislota mavjud bo'lib, miqdoriy va sifat jihatidan hayvon oqsillari bilan bir qatorda turadigan yagona o'simlikdir [2]. Metionin va sistein soya uchun yagona cheklovchi omildir; ammo, butun soya uchun oqsillarni hazm qilish bo'yicha aminokislota ko'rsatkichi 0,92 ga teng. Bu esa, soya oqsilining odam organizmida yaxshi hazm bo'lishini belgilaydi. Shunday qilib, soyadan tayyorlangan ovqatlarni iste'mol qilish vegetarianlar orasida protein miqdorini ko'paytirishning eng yaxshi usuli hisoblanadi [3].

To'rtta asosiy fraksiya mavjud bo'lib, ular β -konglisinin (asosiy komponent), glitsinin (asosiy protein), tripsin ingibitorlari, fermentlar va gemaglutininlar [3]. Ular orasida glitsinin va α -, β - va γ -konglisinin dukkakli o'simliklarning zahira holda saqlanadigan asosiy oqsilidir [4].

KTI tripsinni ingibirlasa, BBI esa tripsin va ximotripsinning fermentativ faolligiga ta'sir qiladi va shu bilan soya oqsillarining biologik sifatini pasaytiradi [5]. Shuningdek, KTI me'da osti bezi fermentlarining gipersekretsiyasiga olib borishi, gipertrofiya va giperplaziyaga olib kelishi haqida xabar berilgan va shu sababli xam monogastrik hayvonlarga soya tavsiya etilmaydi [6]. Aksincha, so'nggi tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, BBI konsentrati (BBIC) saraton kasalligiga qarshi potentsial kimyoviy oldini oluvchi vosita sifatida ishlatilishi mumkin va toksik ta'sirsiz odamlarda koronar kasalliklarning oldini olish mumkin [7].

Ko'plab epidemiologik tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, soya va uning turli xil fitonutrientlarini iste'mol qilish saraton, yurak-qon tomir kasalliklari, metabolik, mushak-skelet kasalliklari, ayniqsa perimenopauza bosqichidagi ayollarda ginekologik, endokrin va buyrak kasalliklarining oldini olish va davolashga yordam beradi [8].

Hayvon va odamlarda olib borilgan ko'plab tadqiqotlar, jumladan qon tarkibidagi glyukoza miqdorini tartibga solish, insulin rezistentligi va buyrak filtratsiyasini yaxshilash orqali soya va uning biofaol tarkibiy qismlarining (soya izoflavonlari, oqsil, tola, saponinlar va boshqalar) antidiabetik faolligini ko'rsatdi [9]. Tarkibi eriydigan klechatkaga boy bo'lgan parhez, uglevodlar absorbsiyasini pasaytiradi va shu bilan birga diabetik bemorlar qoni plazmasida glyukoza konsentratsiyasini ham kamaytiradi [10]. Xuddi shu tarzda, boshqa tadqiqotlar shuni ko'rsatdiki, soya klechatkasini iste'mol qilish najas safro chiqarilishini kuchaytiradi, yog'ning so'rilishini pasaytiradi [11] va shu tarzda giperglikemiya himoyalaydi. Liu va boshq. (2016) soya po'stlog'idan olinadigan eruvchan tolani fizik-kimyoviy xossalari va bog'lanish qobiliyati esa glyukoza va xolesterin miqdorini pasaytirish xususiyatiga ega bo'lgan jo'xori tarkibidagi β -glyukanga o'xshaydi.

Ascencio va boshq. (2004) soya oqsilini iste'mol qilish nafaqat jigarda triglitseridlarning to'planishini kamaytiradi, balki semirib ketishning asosiy sababi sifatida tan olingan jigardagi lipotoksiklikning zararli ta'sirini ham kamaytiradi, va shu bilan insulin rezistentlik, yurak yetishmovchiligi va diabetning 2-turining oldini oladi [12].

Bundan tashqari, diabetik va diabetik bo'lmagan bemorlarda soya oqsilini iste'mol qilish glomerular filtratsiya tezligini kamaytirish va kreatinin klirensini yaxshilash orqali buyrak shikastlanishi va yallig'lanishini kamaytiradi va shu bilan surunkali buyrak kasalliklari uchun terapevtik vosita sifatida foydalanish imkoniyatiga ega [13].

Asosiy qism. Ma'lum bir maqsad uchun har qanday oqsil ustida tadqiqotlar olib borilganda, dastlab tanlangan oqsilning xomashyodagi foyizi, ajratish samaradorligi, ajratish uchun tanlangan texnologiyalarning tannarxi kabi ko'rsatgichlari muhim ahamiyatga ega hisoblanadi [13]. Ushbu tadqiqot ishida, O'zbekiston Qishloq xo'jaligi vazirligi qoshidagi Sholichilik institutidan olib kelingan O'zbek-2, 128848, 5280, O'zbek-6, K-14 kabi mahalliy soya navlari donidan umumiy oqsillari ajratildi. Soya donidan oqsillarni maksimal darajada ajratib olish uchun 4 xil ekstraksiyalovchi buferlardan foydalanildi (II bobga qarang). Ekstraksiya qilingandan so'ng umumiy oqsillar miqdori Louri usulida aniqlandi va namunalar keyingi tadqiqotlar uchun liofil quritildi (1-rasm). Ajratilgan oqsillar miqdori quyidagi jadvalda keltirilgan (1-jadval).



1-rasm. Ajratilgan soya oqsillarni liofil quritish jarayoni

1-jadval

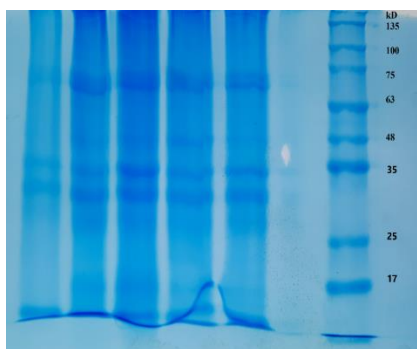
Soya navlaridan ajratilgan umumiy oqsillar miqdori (n=20)

№	Tanlangan navlar	Foydalanilgan ekstraksiyon erituvchilar (oqsillar miqdori quruq massaga nisbatan % hisobida)			
		Bufer I	Bufer II	Bufer III	Bufer IV
1	Uzbek-2	21,7	23,7	21,0	21,0
2	128848	25,0	25,6	23,6	24,3
3	5280	20,5	21,9	19,0	20,5
4	Uzbek-6	29,2	31,8	28,7	28,2
5	K-14	29,9	28,7	28,3	30,0

Izoh: bufer I - NaOH 0,2 M; bufer II- Tris-bufer; III –Na-fosfat buferi; bufer IV- Na-korbanat/bikarbonat buferi.

Yuqoridagi jadvaldan, tanlangan soya navlari orasida eng oqsilga boy nav bu Uzbek-6 navi ekanligini va eng kam oqsil saqlovchi nav bu 5280 navi ekanligini ko'rishimiz mumkin. Chunki bu navlar mos ravishda 31,8 % va 20,5 % oqsil saqlashi aniqlandi. Shu bilan birga tanlangan 4 xil ekstraksiyon buferlar orasida Bufer 4 eng yuqori ekstraksiyon qobiliyatiga ega ekanligi aniqlandi.

Shundan so'ng, ajratilgan oqsillarning 10 % li poliakrilamid gelidagi elektroforez tahlili amalga oshirildi. Chunki oqsillar miqdorini aniqlash bilan birga umumiy oqsillar tarkibida necha xil molekulyar massaga ega bo'lgan oqsillar borligini aniqlash muhim vazifalardan biri hisoblanadi. Ushbu tadqiqotda amalga oshirilgan gel-elektroforez natijalari quyidagi rasmda keltirilgan (2-rasm).



2-rasm. Soya navlaridan ajratilgan umumiy oqsillarning elektroforegrammasi. 1- Uzbek-2 navidan ajratilgan oqsil; 2-128848 navidan ajratilgan oqsil; 3-5280 navidan ajratilgan oqsil; 4- Uzbek-6 navidan ajratilgan oqsil; 5-K-14 navidan ajratilgan oqsil; M- standart marker.

Elektroforez natijalariga ko'ra, oqsillar miqdori turlicha bo'lishiga qaramay oqsillarning elektroforegrammasi bir biridan katta farq qilmadi. O'rganilgan umumiy oqsillar tarkibida 6-7 xil molekulyar og'irlikdagi oqsillar borligini ko'rish mumkin.

Soya oqsillarining izoelektrik nuqtasini aniqlash: Barcha oqsillar kabi soya oqsillari ham o'z izoelektrik nuqtasiga ega. Soya oqsillarining izoelektrik nuqtalarini aniqlash uchun sirka kislota va natriy atsetat eritmalarida 2.1-jadvalda ko'rsatilgan hajmlarda solamiz. Buning natijasida biz turli xil pH ko'rsatkichlariga ega aralashmalar tayyorlab olgan bo'lamiz. Keyin har bir probirkamizga 1 ml dan soya oqsili eritmasidan solindi.

2-jadval

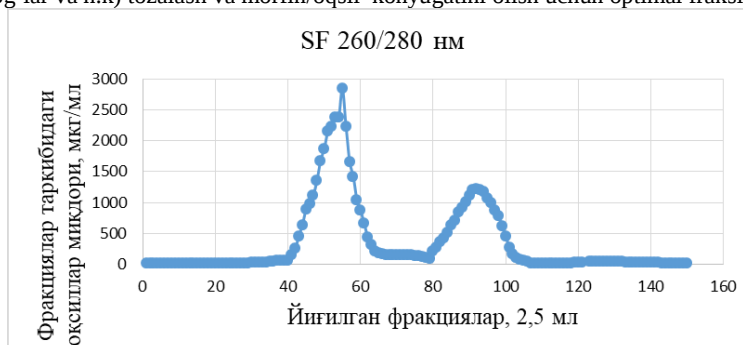
Soya oqsillarining izoelektrik nuqtasini aniqlash (n=5)

№	Soya navlarining nomlari	Izoelektrik nuqtasi
1	O'zbek-2	4.15
2	O'zbek-6	4.23
3	K-14	4.31
4	128848	4.25
5	5280	4.42

Tadqiqot natijalarimiz soya donidan ajratib olingan oqsillarning izoelektrik nuqtalari pH 4.1-4,4 oralig'ida ekanligini ko'rsatdi. Bu aniqlangan izoelektrik nuqtalarining bir biridan farq qilishi turli xil soya navlaridan ajratilgan oqsillarning aminokislotalar tarkibi bilan bog'liqdir. Ya'ni bu o'rganilgan navlarning oqsillar miqdori bilan birga oqsillari tarkibidagi aminokislotalari bilan ham farq qilishini ko'rsatadi.

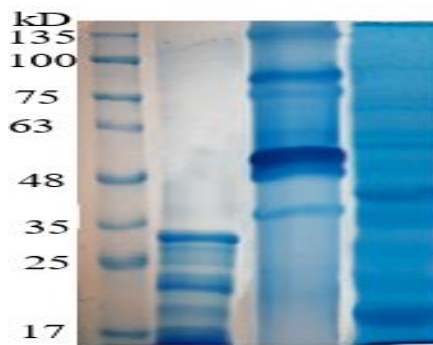
O'zbek-6 navidan ajratilgan soya oqsilini fraksiyalarga ajratish: Soyadan ajratilgan oqsillar tarkibida har xil og'irlikdagi (6-7 xil og'irlikdagi) oqsillar bo'lganligi uchun turli xil foizlardagi ammoniy sulfat tuzi bilan cho'ktirish orqali va gel-filtratsiya usullaridan foydalangan holda fraksiyalarga ajratildi. Biroq gel – filtratsiya usulida ajratilgan oqsillarning tozalik darajasi yuqori bo'lganligi uchun, shu usul yordamida umumiy soya oqsillari 2 ta fraksiyalarga: yuqori molekulyar fraksiya va kichik molekulyar fraksiyalarga ajratildi. Gel- filtratsiya usulida ham turli xil Sefodeks gellaridan (G 75) foydalangan holda soya oqsillari fraksiyalarga ajratib ko'rildi. Sefodeks G 75 soya oqsillarini fraksiyalarga ajratish uchun maqul variant ekanligi tajribalarimizda isbotlandi. Soya oqsili Sefodeks G 75 geli yordamida tozalanganda yuqori molekulyar oqsillar 40-60 fraksiyalar (100-150 ml) oralig'ida va quyi molekulyar oqsillar qismi esa 80-100 fraksiyalar (200-250 ml) oralig'ida ajraladi (3-rasm). Yig'ilgan namunalar dializ qilindi va liofil quritildi.

Gel-filtratsiya usulida oqsillarni tozalashdan maqsad oqsillar tarkibidagi oqsil bo'lmagan qismlardan (o'simlik hujayrasi qoldiqlari, uglevodlar, yog'lar va h.k) tozalash va morfin/oqsil konyugatini olish uchun optimal fraksiyani aniqlashdir.



3-rasm. Soya o'simligining O'zbek-6 navi umumiy oqsillarning sefodeks G 75 gelida fraksiyalarga ajralishi

Tozalangan fraksiyalarning parallel ravishda poliakrilamid gelida elektroforez tahlili amalga oshirildi. Olib borilgan gel elektroforez natijalareiga ko'ra yuqori molekulyar fraksiya 135-40 kDa molekulyar massaga ega bo'lgan oqsillar va quyi molekulyar fraksiyaning tarkibida 35-17 kDa molekulyar massali oqsillar borligi aniqlandi.



4-rasm. Fraksiyalarga ajratilgan soya oqsilining elektroforegrammasi.

1-standart marker, 2- quyi molekulyar oqsil fraksiyasi; 3- yuqori molekulyar oqsil fraksiyasi; 4- umumiy soya oqsili.

Shundan so'ng ajratilgan fraksiyalarning aminokislotalar tahlili amalga oshirildi. Chunki ma'lum bir maqsadda foydalanish uchun oqsil tarkibidagi aminokislotalarning miqdori juda muhim.

Xulosa. Soya o'simligi donidan oqsillarni ekstraksiya qilish uchun eng optimal eritma bu buffer II ekanligi va tanlangan mahalliy soya navlari orasida O'zbek-6 eng oqsilga boy nav ekanligi aniqlandi. Tanlangan mahalliy soya navlarining izoelektrik nuqtasi pH 4,1 - 4,4 orasida ekanligi aniqlandi.

ADABIYOTLAR

1. Abo-El-soud MA, Hashem NM, El-Din AN, Kamel KI, Hassan GA (2019) Soybean isoflavone affects in rabbits: effects on metabolism, antioxidant capacity, hormonal balance and reproductive performance. *Anim Reprod Sci* 203:52–60
2. Alber Sasson "Biotexnologiya": sversheniya I nadejdi. Moskva "Mir" 1987.
3. Alireza Timcheh-Hariri, Mahdi Balali-Mood, Mahmood Sadeghi, Niloofar Lari, Bamdad Riahi-Zanjani Comparison of ELISA and TLC Methods for the Morphine Detection in Urine of Drug Abusers // *Iranian Journal of Toxicology*, Vol 10, No 3, May-June 2016, p. 47-50.
4. Andrade JE, Ju YH, Baker C, Doerge DR, Helferich WG (2015) Long-term exposure to dietary sources of genistein induces estrogen-independence in the human breast cancer (MCF-7) xenograft model. *Mol Nutr Food Res* 59(3):413–423
5. Applegate CC, Rowles JL, Ranard KM, Jeon S, Erdman JW (2018) Soy consumption and the risk of prostate cancer: an updated systematic review and meta-analysis. *Nutrients* 10(1):40
6. Azadbakht L, Kimiagar M, Mehrabi Y, Esmailzadeh A, Padyab M, Hu FB, Willett WC (2007) Soy inclusion in the diet improves features of the metabolic syndrome: a randomized crossover study in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 85(3):735–741
7. Bai Y, Sun L, Yang T, Sun K, Chen J, Hui R (2009) Increase in fasting vascular endothelial function after short-term oral L-arginine is effective when baseline flow-mediated dilation is low: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 89(1):77–84
8. Benito Anton, Alberto Salazar, Anabel Flores, Maura Matus, Rodrigo Marin, Jorge-Alberto Hernandez and Philippe Leff. Vaccines against morphine/heroin and its use as effective medication for preventing relapse to opiate addictive behaviors // *Human Vaccines*, April 2009, 5:4, p. 214-229.
9. Bennett, J. Michael; Rhetoric, Emeritus; Hicks, Dale R.; Naeve, Seth L.; Bennett, Nancy Bush (2014). The Minnesota Soybean Field Book (PDF). St Paul, MN: University of Minnesota Extension. p. 33. Archived from the original (PDF) on September 30, 2013. Retrieved September 16, 2016.
10. Bilir B, Sharma NV, Lee J, Hammarstrom B, Svindland A, Kucuk O, Moreno CS (2017) Effects of genistein supplementation on genome wide DNA methylation and gene expression in patients with localized prostate cancer. *Int J Oncol* 51(1):223–234
11. Burssens S, Pertry I, Ngudi DD, Kuo YH, Van Montagu M, Lambein F (2011) Soya, human nutrition and health. In: Yin Y, Fatufe AA, Blachier F (eds) *Soya bean meal and its extensive use in livestock feeding and nutrition*. INTECH Open Access Publisher, pp 157–180
12. Chalvon-Demersay T, Azzout-Marniche D, Arfsten J, Egli L, Gaudichon C, Karagounis LG, Tome D (2017) A systematic review of the effects of plant compared with animal protein sources on features of metabolic syndrome. *J Nutr* 147(3):281–292
13. Cheong SH, Furuhashi K, Ito K, Nagaoka M, Yonezawa T, Miura Y, Yagasaki K (2014) Antihyperglycemic effect of equol, a daidzein derivative, in cultured L6 myocytes and ob/ob mice. *Mol Nutr Food Res* 58(2):267–277