

Aminokislotalarni titrametrik usulda taxlil qilish

Kenjaev A.Q

Kenjayeva S.N

Ernazarova J.X

Jizzax davlat pedagogika universiteti akademik litseyi

E-mail: akmalkenjayev20@gmail.com

Annotatsiya: Titrlash usuli yordamida noma'lum aminokislotani yoki aniq aminokislotaning noma'lum konsentratsiyasi aniqlanadi. Bu jarayonda tomchilatgan holda H^+ yoki OH^- ionlari berish orqali amalga oshiriladi. Titrlashni amalga oshirish uchun egri chiziqlari, pKa qiymatlari, bufer hududlarini aniqlash, protonlanish holatlari, zaryadlar va izoelektrik nuqtalarni bilish zarur. Bu ishda biz aminokislotalarni titrlashning nazariy asoslari va biokiyodan masalalar yechimiga to'xtalamiz.

Kalit so'zlar: titrlash egri chizig'i, aminokislotalar, pH, biokimyo, pKa, izoelektrik nuqta.

Kirish. Aminokislotalar kimyosi, shu jumladan pKa qiymatlari, pI qiymatlari va protonlashgan holatlarini yoritib bergan va kuchsiz kislota uchun titrlash egri chizig'i o'rganilgan[1,2,3,4].

Aminokislotalarning umumiy formulasi va tasnifi. Aminokislotalar (amino acids) $-NH_2$ va $-C(O)OH$ guruhlar tutgan bifunksional birikmalar bo'lib, ularning dastlabki vakili aminosirka (glitsin, glikokol H_2NCH_2COOH) kislotaadir.

Aminokislotalar quyidagilardan iborat:

- Amino guruh ($-NH_2$)
- Karboksil guruh ($-COOH$)
- Vodorod atomi ($-H$)
- Yon zanjir ($-R$)



Aminokislotalarni ularning -R ning umumiy kimyoviy xarakteristikalari asosida quyidagicha sinflash mumkin.

1. Neytral yon zanjir: qutbsiz yon zanjirga ega bo'lib, ion yoki vodorod bog' hosil qilmaydigan va kimyoviy jarayonda ajralmaydigan (ta'sirlashmaydigan) aminokislotalar.

Masalan: alanin, glitsin va bosh.

2. Qutbli zayradsiz yon zanjir: R guruhlarini suvda ionlashtirilmaydi, lekin u vodorod bog'lanishida ishtirok etishi mumkin. **Masalan:** serin, sistein va bosh.

3. Kislotali yon zanjir (manfiy zaryadli): -R tarkibida $-\text{COO}^-$ saqlagan aminokislotalar. **Masalan:** glutamat va aspartat kislota.

4. Asosli yon zanjir (musbat zaryadli): -R tarkibida $-\text{NH}_3^+$ saqlagan aminokislotalar. **Masalan:** arginin, gistidin va lizin.

Aminokislotalarning xossalari.

Aminokislotalar amfoterdir, ya'ni u kislota sifatida (proton berishi) yoki asos sifatida (proton biriktira olish) reaksiyaga kirisha oladi.

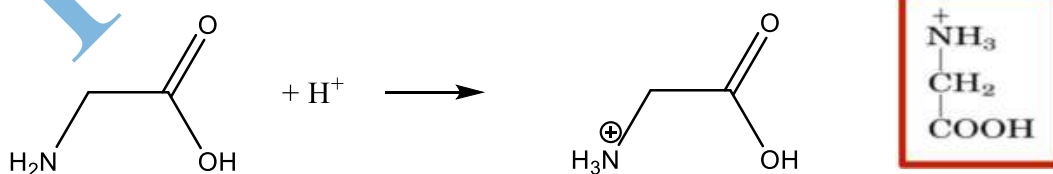
Aminokislotalarning amfoter xossalari ularning ionlanuvchi α -amino va α -karboksilik guruhining mavjudligi bilan bog'liq bo'lib, ular muhitining pH darajasiga qarab ba'zan kislotalar, ba'zan esa asoslar sifatida xossalarni namoyon qilishi mumkin.

Har bir aminokislota turli xil **izoelektrik nuqtaga (pI)** ega.

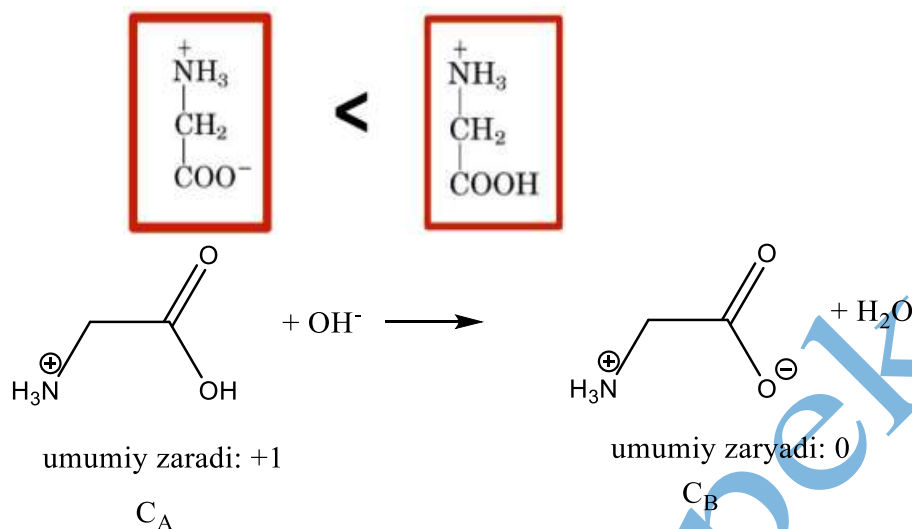
pI: Bu musbat zaryad manfiy zaryadga teng bo'lgan pH qiymati (ya'ni bu molekulaning sof zaryadi nolga teng) (zwitter iondir).

❖ Neytral aminokislota glitsinni ishqoriy titrlash.

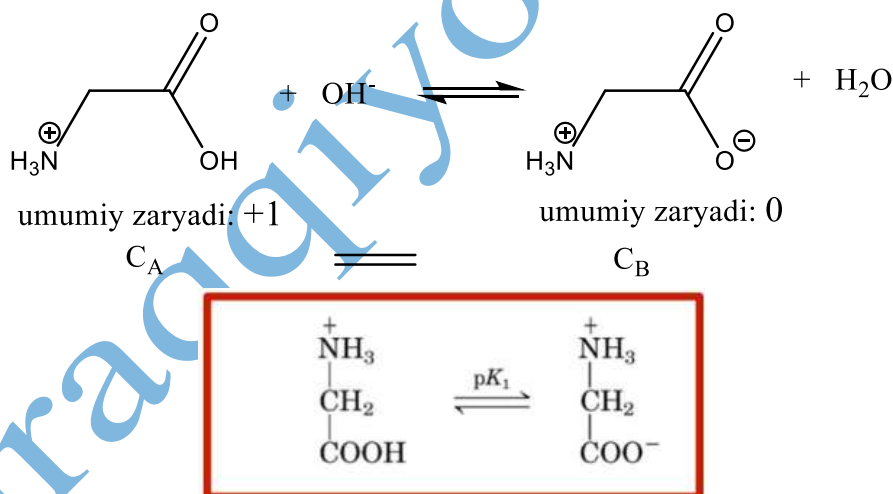
1. Aminokislota ishqoriy titrlash uchun muhit kislotali qilib olinadi, bunda kislota solinganda $\text{pH} \approx 0$ ga yaqinlashadi. Natijada aminoguruh protonlanadi.



2. pH ko'tarilganda, ya'ni ishqor qo'shilganda $-\text{COOH}$ guruhi ham protonlana boshlaydi va nisbat quyidagicha bo'ladi:

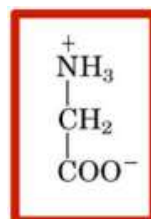


3. Ishqor qo'shish davom ettirilganda shunday payt kelganda C_A (kation) va C_B (Zwitter ion) konsratsiyalari tenglashadi. Bunda $\text{pH} = \text{pKa}_1$ bo'ladi, bu holda sistema bufer vazifasini bajaradi.

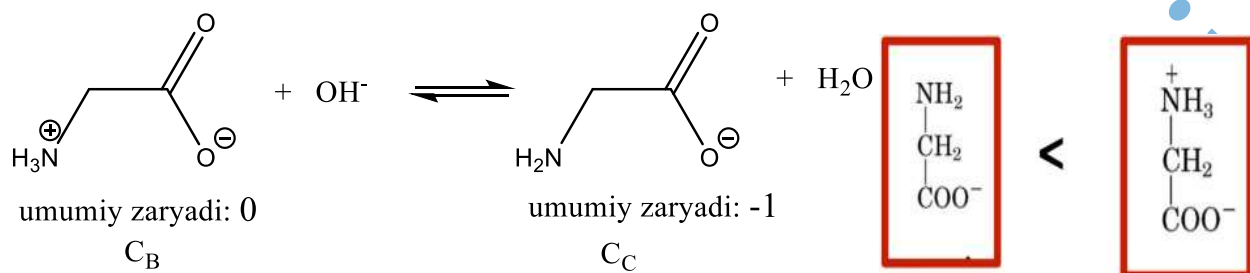


4. pH ning yanada oshishi, eritmada asosan zwitter ioni bo'ladi va bu nuqtada $\text{pH} = \text{pI}$ (izoelektrik nuqta) ga teng. Zwitter ioni – zaryadi 0 ga teng ion bo'lib, u katoga yoki anodga tortilmaydi. Zwitter ion konsetratsiyasi eng yuqori bo'lgan holat – izoelektrik nuqta deyiladi. Izoelektrik nuqta quyidagicha topiladi.

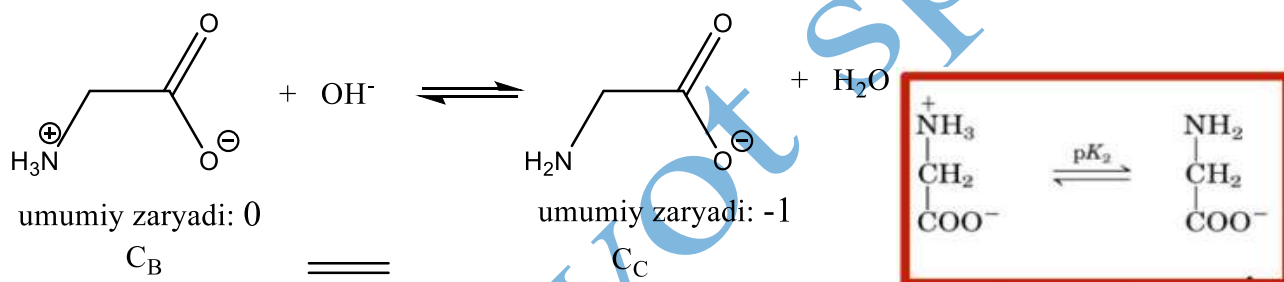
$$\text{pI} = \frac{\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2}{2}$$



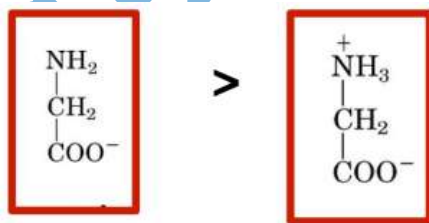
5. pH ortishi bilan ikkinchi guruh - NH_3^+ ham deprotonlana boshlaydi.



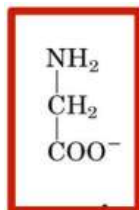
6. Shundan so'ng, C_B va C_C larning konsentratsiyalari o'zro tenglashadi. Bunda $\text{pH} = \text{pK}_2$ bo'ladi, bu holda sistema bufer vazifasini bajaradi.



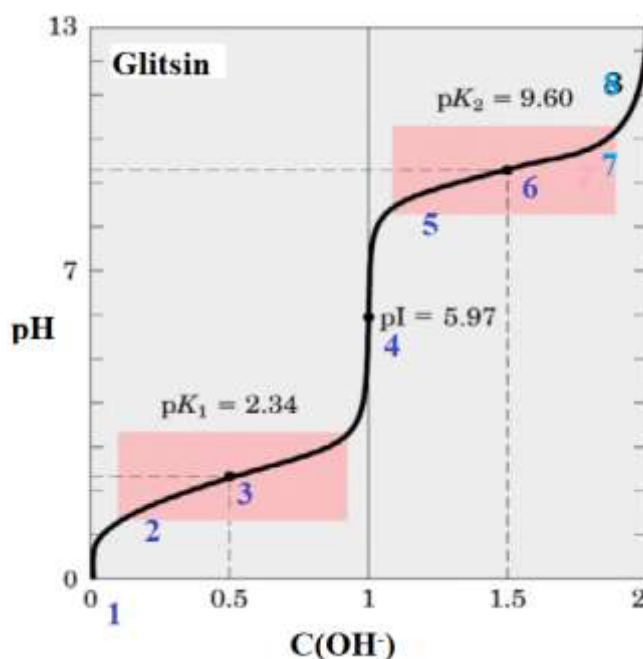
7. $C_B < C_C$ kata bo'lgan holat, bu zonada ham buffer tizim yuzaga keladi.



8. $-\text{NH}_3^+$ guruhi ajraladi va shu bilan birga oxirgi nuqtada glitsin to'liq dissotsilanadi.

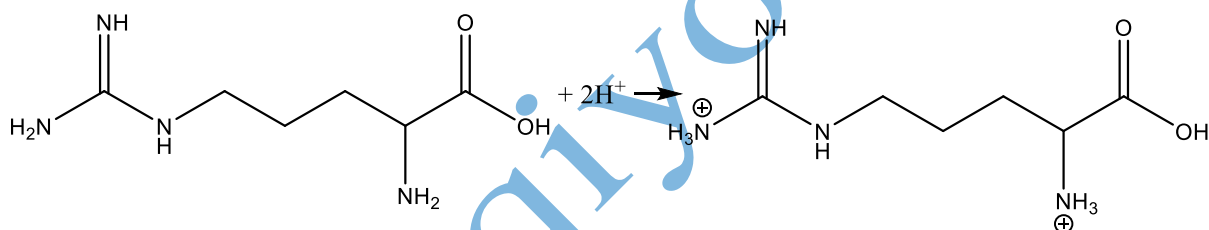


Glitsinni ishqoriy titrlash egrisi quyidagicha(yuqoridagi bosqichlar to'liq ko'rsatilgan).

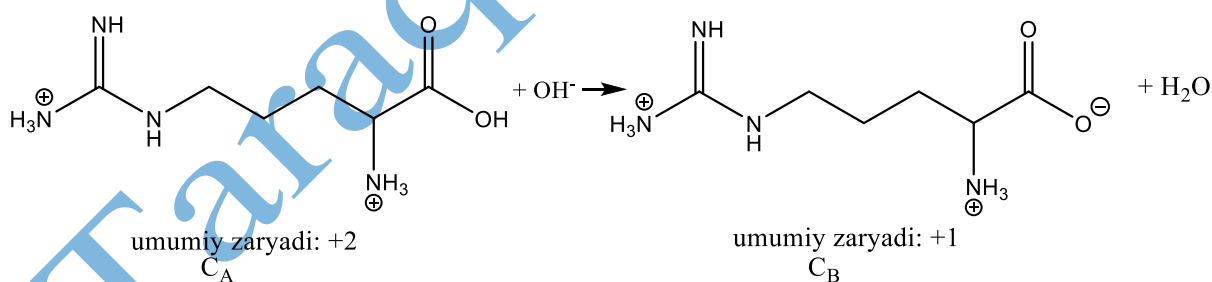


❖ Asosli aminokislota argininni ishqoriy titrlash.

Ishqoriy titrlash uchun muhit kislotali qilib olinadi, bunda kislota solinganda $\text{pH} \approx 0$ ga yaqinlashadi. Natijada aminoguruh protonlanadi.

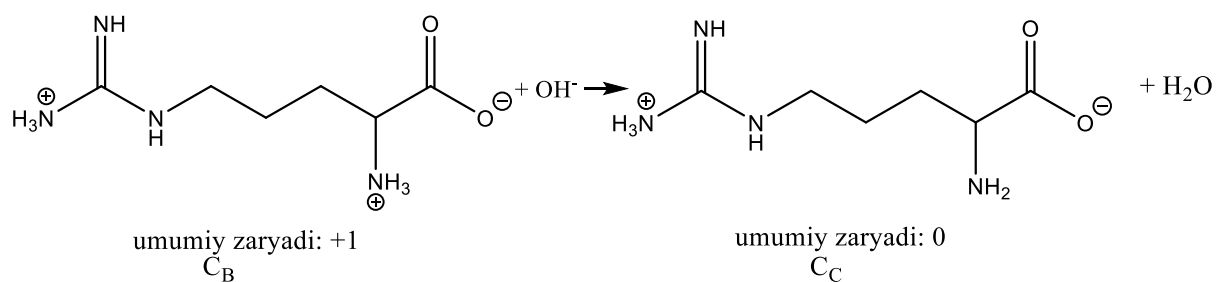


I-bosqich.

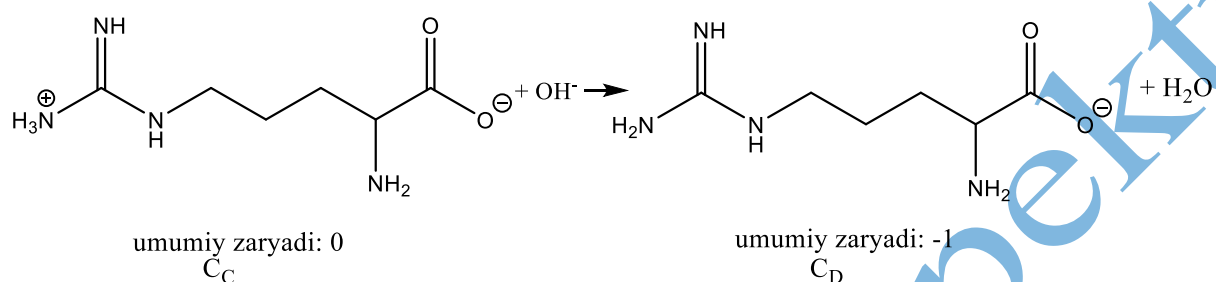


II-

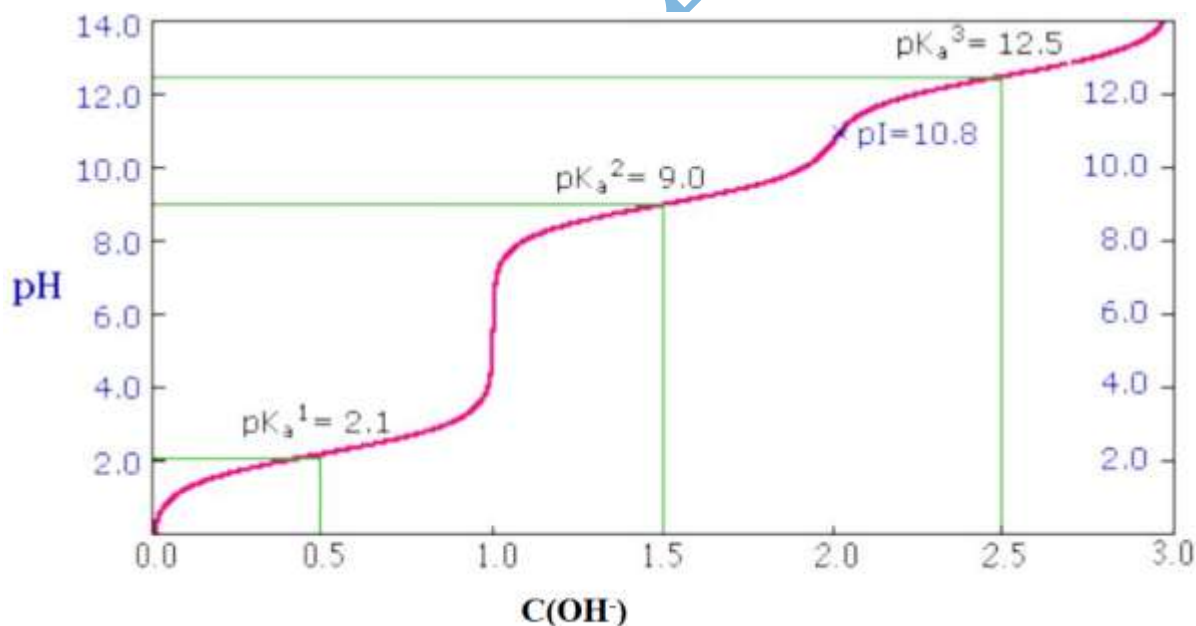
bosqich.



bosqich.

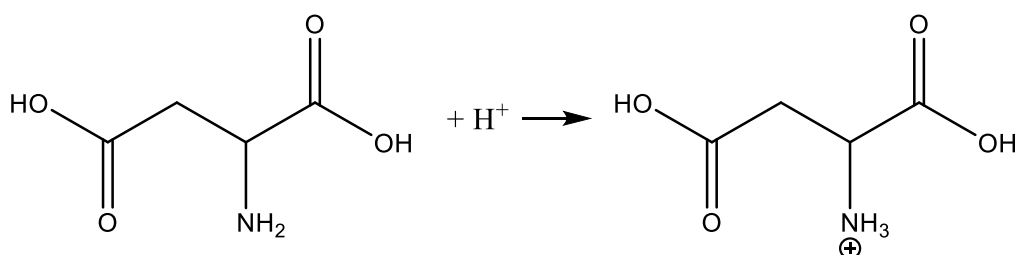


Argininni ishqoriy titrlash egrisi quyidagicha (yuqoridagi bosqichlar to'liq ko'rsatilgan).

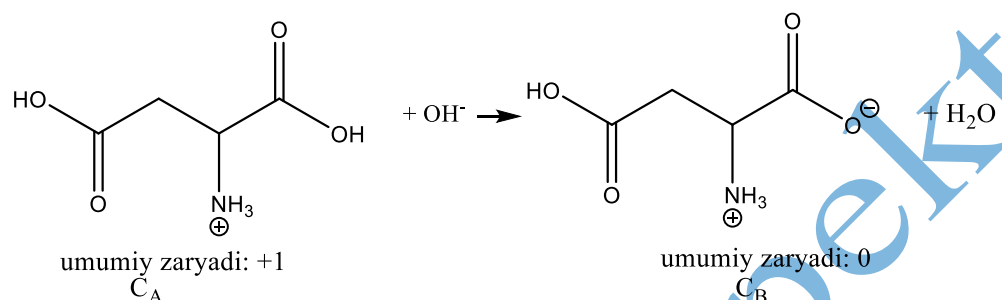


❖ Kislotali aminokislota asparta kislotasini ishqoriy titrlash.

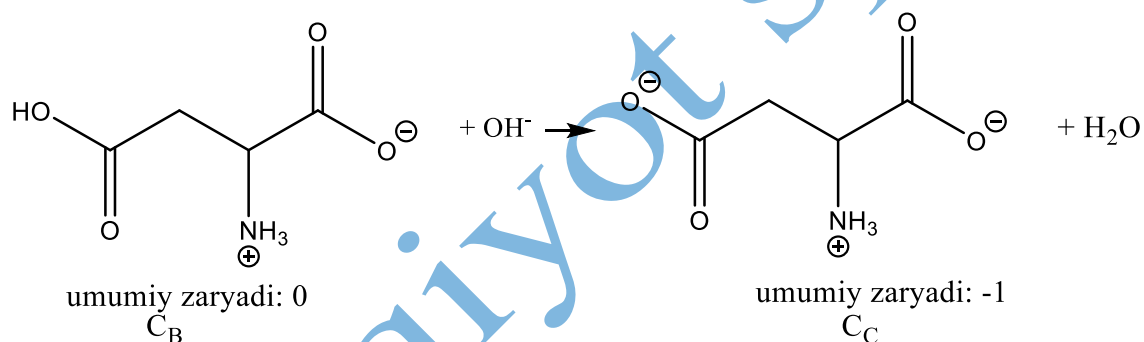
Ishqoriy titrlash uchun muhit kislotali qilib olinadi, bunda kislota solinganda pH ≈ 0 ga yaqinlashadi. Natijada aminoguruh protonlanadi.



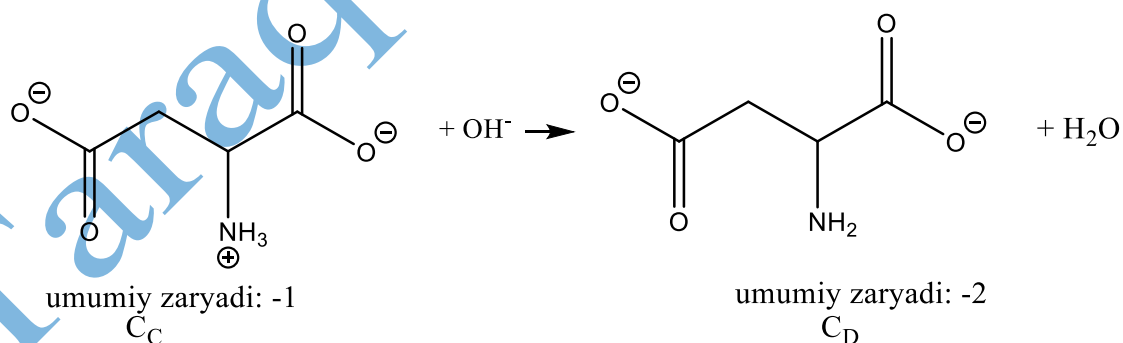
I-bosqich.



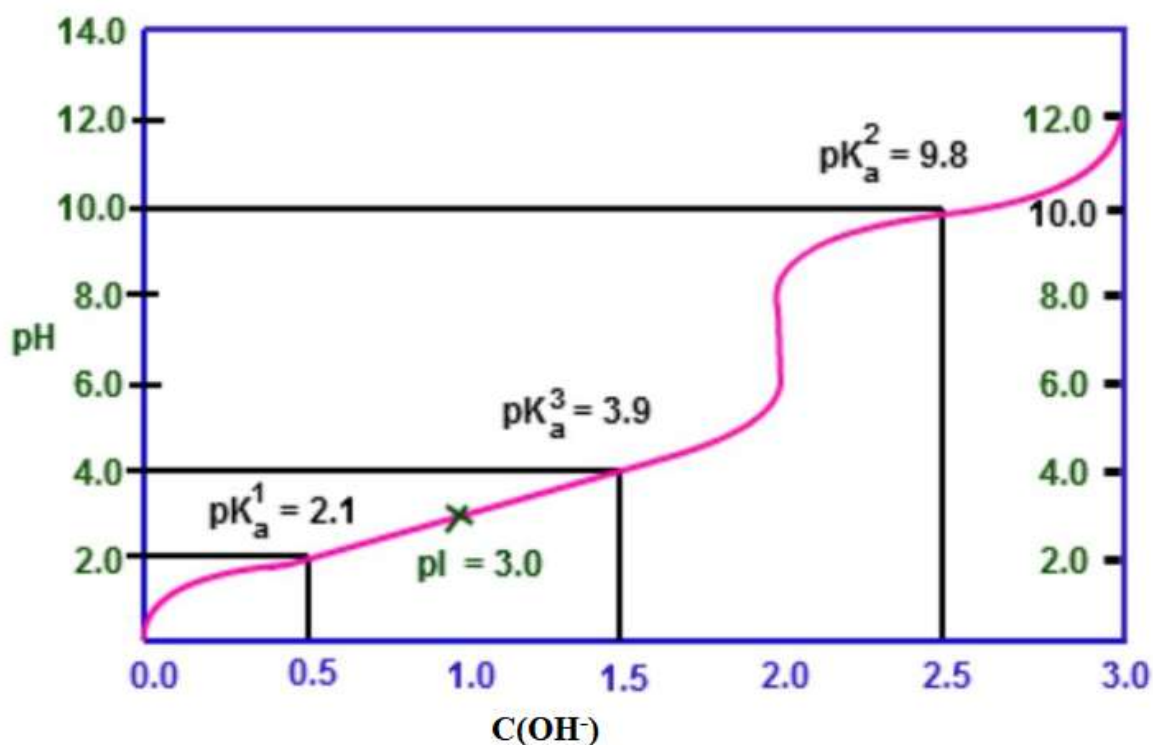
II-bosqich.



III-bosqich.



Aspartatning ishqoriy titrlash egrisi quyidagicha(yuqoridagi bosqichlar to'liq ko'rsatilgan).



Hisob-kitob uchun masala(35-IBO olimpiadasi II-bosqich saralsh savoli).

1-topshiriq:Biokimyo (12 ball) AMINOKISLOTALARNI TITRLASH.

Aminokislotalar karboksil va amino guruhlarini o'zida saqlagan organik molekulalardir. Ma'lumki tabiiy oqsillar tarkibiga 20 xil aminokislotalar kirishi mumkin, Quyida berilgan jadvalda 20 xil aminokislotalarning formulalari ko'rsatilgan. Aminokislotalarning aksar vakillari eritma muhitida amfoter xossani o'zida namoyon qiladi, bunga sabab aminokislota molekulasidagi amino ($-\text{NH}_2$) va karboksil ($-\text{COOH}$) guruhlarining xossalari. Neytral aminokislotalarning radikal (R) guruhi zaryadga ega bo'lmaydi.

Amino guruh ($-\text{NH}_2$): asosli xossani namoyon qiladi, past pH da (kislotali muhitda) amino guruh protonlanadi (H^+) va musbat zaryadlangan holatga (NH_3^+) o'tadi.

Karboksil guruh ($-\text{COOH}$): kislotali xossani namoyon qiladi, yuqori pH da (ishqoriy muhitda) karboksil guruh deprotonlanadi (H^+) va manfiy zaryadlangan holatga (COO^-) o'tadi.

Zwitterion: Oraliq **pH** da aminokislotalar zwitterion shaklida bo'lishi mumkin, Zwitterionda amino guruh protonlangan (NH_3^+), karboksil guruh deprotonlangan (COO^-) holatda bo'ladi.

Aminokislotalarning zwitterion shaklida umumiy zaryadi neytraldir. Aminokislota zwitterion (neytral zaryad) sifatida mavjud bo'lgan **pH** uning izoelektrik nuqtasi (**pI**) deb nomlanadi. Amino va karboksil guruhlari uchun o'ziga xos **pKa** qiymatlari turli xil aminokislotalar orasida farq qiladi, bu ularning izoelektrik nuqtalarini farqlanishiga olib keladi. Titrlash egri chizig'idan foydalanib, **pI** (izoelektrik nuqtani) ni aminokislota anion va kation shakllarning **pKa** qiymatlari orasidagi burilish nuqtasi sifatida empirik aniqlash mumkin.

Kislotalarning umumiy dissotsiyanish muvozanati: $\text{HA} \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{A}^-$ ushbu muvozanat uchun kislota dissotsiyanish konstantasi **Ka** quyidagi formula orqali topiladi:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

Asosan kislotalarning kuchi ularning **pKa** qiymatlari orqali ifodalandi.

$$pK_a = -\log_{10}(K_a)$$

Bunday ikki negizli aminokislotalarni titrlashda titrlash ikki bosqichda sodir bo'ladi, chunki ko'proq kislotali karboksil guruhi (pastki pK_{a1}) va kamroq kislotali amino guruh (pK_{a2}) ketma-ket protonlarini yo'qotadi.

Ikki dissotsiatsiya bosqichi uchun ko'rinadigan **pKa** qiymatlarini har bir bosqichning o'rtta nuqtalariga asoslanib hisoblash mumkin.

Buning uchun Henderson-Hasselbalch tenglamasidan foydalanish mumkin.

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \left(\frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \right)$$

pK_{a1} (karboksil guruh uchun pK_a) kislota guruhining yarmi titrlangan nuqtadir, ya'ni eritmada anion (A^-) va kislota guruhi (HA) bir xil miqdorda bo'lgan nuqta. Shunday qilib, tenglama ushbu nuqtada quyidagicha bo'ladi:

$$pH = pK_a$$

Xuddi shunday, pK_{a2} (amino guruhi uchun pK_a) aniqlanishi mumkin.

Quyida sizga noma'lum X aminokislotani 0.3024 M li NaOH yordamida titrlash tajribasidan olingan ma'lumotlar keltirilgan (tajribada 25 ml li byuretkadan foydalanilgan).

Qo'shilgan NaOH hajmi (ml)	pH
0.00	1.4
1.00	1.4
2.00	1.5
3.00	1.6
4.00	1.7
5.00	1.8
6.00	1.9
7.00	2.1
8.00	2.2
9.00	2.4
10.00	2.7
11.00	3.2
12.00	9.4
13.00	9.9
14.00	10.2
15.00	10.4
16.00	10.6
17.00	10.8

18.00	11.0
19.00	11.3
20.00	11.6
21.00	11.8
22.00	12.0
23.00	12.1
24.00	12.2
25.00	12.3

Q1.1. Yuqoridagi jadvalda keltirilgan ma'lumotlardan foydalanib, sizga taqdim etilgan millimetrovka qog'ozga titrlash jarayonining (pH ga nisbatan NaOH hajmi (ml)) grafigini chizing.

Q1.2. Titrlash egri chiziqlaringizdan **pI** nuqtani toping va uni grafikda belgilang va **pI** nuqta nechaga teng ekanini javoblar varaqasiga yozing.

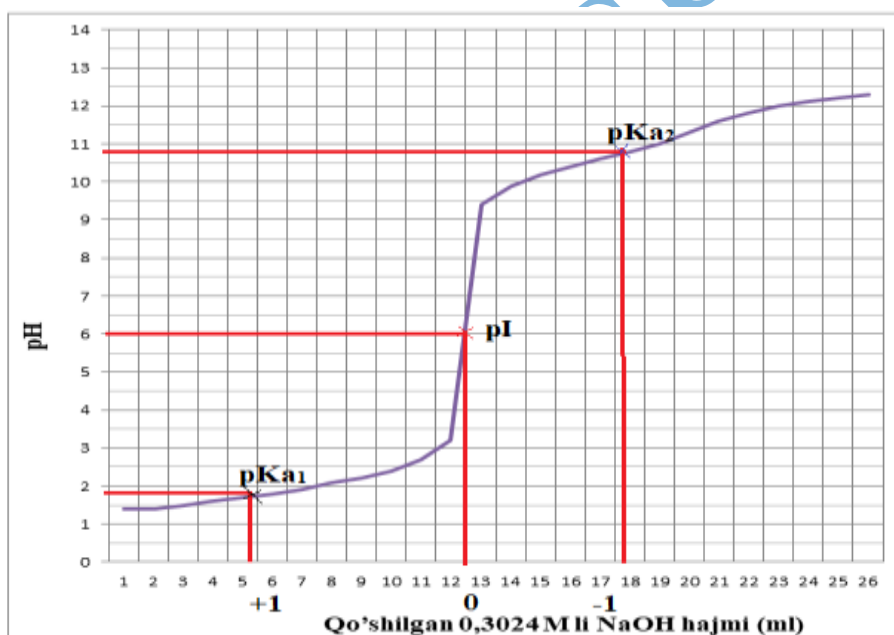
Q1.3. Titrlash egri chiziqlaringizdan **pKa₁** va **pKa₂** ni toping va ularni grafikda belgilang va **pKa₁** va **pKa₂** nuqtalarni nechaga teng ekanini javoblar varaqasiga yozing.

Q1.4. 0,866 g noma'lum X aminokislota 75 ml deionlangan suvda eritilgan. Noma'lum X aminokislota molekulay og'irligini aniqlang va quyida berilgan aminokislotalarning molekulay og'irliklari asosida titrlangan aminokislota nomini javoblar varaqasiga yozing. Eslatma: To'liq protonlangan aminokislota titrlash jarayonini boshlash uchun aminokislota eritmasiga 3,2 ml 0.3024 M li HCl eritmasi qo'shilgan. Bu 3,2 ml 0.3024 M li NaOH eritmasiga teng. pI nuqtaga yetish zarur bo'lgan NaOH ning haqiqiy mol miqdorini aniqlash uchun pI nuqtaga yetish uchun sarflangan NaOH hajmidan 3,2 ml ayiriladi.

Aminokislota	Molekulyar og'irlik	Aminokislota	Molekulyar og'irlik
Glitsin	75	Asparagin	132
Alanin	89	Glutamin	146
Valin	117	Lizin	146
Leysin	131	Arginin	174
Metionin	149	Gistidin	155
Izoleysin	131	Aspartat	133
Prolin	115	Glutamat	147
Sistein	121	Fenilalanin	165
Serin	105	Tirozin	181
Treonin	119	Triptofan	204

Masalaning yechimi:

1.1. Yuqoridagi jadvalda keltirilgan ma'lumotlardan foydalanib quyidagi grafik chizildi.



1.2. Grafikda ko'rinadiki, 11 ml va 12 ml ishqor sarflanganda pH keskin o'zgargan. Demak, izoelektrik nuqta taxminan 11,5 ml ishqor sarflangan vaqtga to'g'ri keladi. Shu vaqtda aminokislotaning H^+ ionlari to'liq neytrallangan va hajmga mos pH ni topsak, u taxminan $pH \approx 6$ ga teng bo'ladi.

Izoelektrik nuqta $pH \approx pI \approx 6$ ga teng.

1.3. Grafikda izoelektrik nuqta aniqlangandan so'ng pKa_1 va pKa_2 ni aniqlaymiz.

pK_{a1} ni aniqlash uchun izoelektrik nuqta uchun sarflangan ishqor miqdorining yarmi sarflangandagi pH ga teng bo'ladi. $11,5 \text{ ml}/2=5,75 \text{ ml}$ da $pH = pK_{a1}$ ga teng bo'ladi. Bu quymat $pH \approx 1,8$, $pK_{a1} \approx 1,8$ ga teng.

pK_{a2} ni aniqlash uchun izoelektrik nuqta uchun sarflangan ishqor miqdorining yarmicha ko'proq sarflangandagi pH ga teng bo'ladi. $11,5 \text{ ml} + 11,5 \text{ ml}/2=17,25 \text{ ml}$ da $pH = pK_{a2}$ ga teng bo'ladi. Bu quymat $pH \approx 10,8$, $pK_{a1} \approx 10,8$ ga teng.

1.4. Dastlabki aminokislotalarni kislotali muhitga o'tkazish uchun $3,2 \text{ ml}$ $0,3024 \text{ M}$ li HCl eritmasidan solingan. Demak, ishqor va kislota(HCl) konsentratsiyalari teng bo'lgani uchun ishqorning $3,2 \text{ ml}$ hajmi qo'shilgan HCl ni neytrallashga sarflangan bo'lsa, qolgan $11,5 \text{ ml} - 3,2 \text{ ml} = 8,3 \text{ ml}$ hajmi aminokislotalarni neytrallash uchun sarflangan. Uning tarkibida:

$n(\text{NaOH}) = C_M \cdot V = 0,0083 \text{ l} \cdot 0,3024 \text{ M} = 0,00251 \text{ mol}$ sarflangan.

$0,866 \text{ g}$ noma'lum X aminokislotalarni 75 ml deionlangan suvga solinib va uning 25 ml hajmli olingan bo'lsa(tajribada 25 ml li byuretkadan foydalanilgan), aminokislotalarni 25 ml olingan idishda($75\text{ml}/25\text{ml}=3$) 3 marta kam aminokislotalarni $0,866 \text{ g}/3 = 0,288666 \text{ g}$ bor.

Grafik bir asosli aminokislotalarni uchun mos bo'lganligi uchun:

$X(\text{aminokislotalarni}) + \text{NaOH} = \text{Tuz} + \text{H}_2\text{O}$

$0,28866 \text{ g} \text{ ----- } 0,00251 \text{ mol}$

$M_r(X)=115 \text{ g/mol} \text{ ----- } 1 \text{ mol}$

$M_r(X) = 115 \text{ g/mol}$ bo'lsa, bu aminokislotalarni prolindir.

Xulosa: Ushbu maqola noma'lum aminokislotalarni aniqlash, titrlash egri chizig'ini yaratish va tahlil qilish qobiliyatini shakillantiradi. Protonlanish holatlari, buferzonalari va izoelektrik nuqtalar haqida tushunchalarini bilish va masalalar yechida amaliy ko'nikmalarni beradi

Adabiyotlar:

1. Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L.: Biochemistry (2012) 7th edition, W. H. Freeman and Company, New York; ISBN-13: 9781429229364
2. Nelson, D.L., Cox, M.M.: Principles of Biochemistry (2008) 5th edition, W. H. Freeman and Company, New York; ISBN-13: 9780716771081
3. Voet, D., Voet, J.G., Prat, C.W.: Fundamentals of Biochemistry (2009) 3d edition, John Wiley et Sons, ISBN: 978-0-470-22842-5
4. Voet, D., Voet, J.G.,: Biochemistry (2011) 4th edition, John Wiley et Sons, ISBN-13: 978-0470570951