UO‘K: 547.982/83/84

O‘SIMLIKLARDA UCHRAYDIGAN OQSIL BO‘LMAGAN ZAHARLI XUSUSIYATGA EGA AMINOKISLOTALAR

Matmuratov Baxtishod Yangiboyevich – Ph.D., katta o‘qituvchisi
Madraximova Saxiba Davlatboyevna – assistent
Istamqulova Umida Farhodovna – talaba
Zoirova Muhayyo Erkin qizi – talaba
Toshkent davlat tibbiyot universiteti (*Toshkent, O‘zbekiston)*

Annotatsiya*. O‘simliklar dunyosida keng tarqalgan oqsil bo‘lmagan aminokislotalar (NPAA) 20 ta standart oqsil tabiatli aminokislotalardan farqli o‘laroq, azot saqlovchi birikmalarning xilma-xil guruhini tashkil etadi. Ushbu ikkilamchi metabolitlar o‘simliklarning tirik organizmlarda boradigan metabolitik jarayonlarda muhim rol o‘ynaydi. Insonlar bu moddalarni o‘simlik va hayvon mahsulotlari bilan birgalikda qabul qiladi. Bu birikmalar insonlar uchun zaharli ta’sir ko‘rsatadi, bu esa salbiy sog‘liq oqibatlariga olib keladi. Ushbu zaharli birikmalarning biosintezi, tarqalishi va ta’sir mexanizmlarini tushunish oziq-ovqat xavfsizligini ta’minlash juda muhimdir. Mazkur maqola NPAAlar, ularning fitotoksik va zootoksik xususiyatlari hamda qishloq xo‘jaligi va jamoat salomatligi uchun ahamiyati bo‘yicha mavjud bilimlarni umumlashtirgan.*

Kalit so‘zlar: *oqsil bo‘lmagan aminokislotalar, o‘simlik toksinlari, ikkilamchi metabolitlar, fitotoksiklik, zootoksiklik, oziq-ovqat xavfsizligi, o‘simlik himoyasi, chorva zaharlanishi*

NON-PROTEIN TOXIC AMINO ACIDS FOUND IN PLANTS

Matmuratov Bakhtishod Yangiboyevich – Ph.D., senior lecturer
Madrakhimova Sakhiba Davlatboyevna – assistant
Istamkulova Umida Farhodovna – student
Zoirova Mukhlisa Erkin kizi – student
Tashkent State Medical University (Tashkent, Uzbekistan)

Abstract*. Non-protein amino acids (NPAAs), which are widely distributed in the plant kingdom, constitute a diverse group of nitrogen-containing compounds, unlike the 20 standard proteinogenic amino acids. These secondary metabolites play an important role in metabolic processes occurring in living organisms. Humans consume these substances through plant- and animal-based products. These compounds can have toxic effects on humans, leading to adverse health outcomes. Understanding the biosynthesis, distribution, and mechanisms of action of these toxic compounds is essential for ensuring food safety. This article summarizes existing knowledge on NPAAs, their phytotoxic and zootoxic properties, as well as their significance for agriculture and public health.*

Keywords: *Non-protein amino acids, Plant toxins, Secondary metabolites, Phytotoxicity, Zootoxicity, Food safety, Plant defense, Livestock poisoning*

НЕПРОТЕИНОГЕННЫЕ ТОКСИЧНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ, ВСТРЕЧАЮЩИЕСЯ В РАСТЕНИЯХ

Матмуратов Бахтишод Янгибаевич – Ph.D., старший преподаватель
Мадрахимова Сахиба Давлатбаевна – ассистент
Истамкулова Умида Фарходовна – студент
Зоирова Мухлиса Эркин кизи – студент
Ташкентский государственный медицинский университет (Ташкент, Узбекистан)

Аннотация*. Непротеиногенные аминокислоты (NPAA), широко распространённые в растительном мире, представляют собой разнообразную группу азотсодержащих соединений, в отличие от 20 стандартных протеиногенных аминокислот. Эти вторичные метаболиты играют важную роль в метаболических процессах, происходящих в живых организмах. Человек получает эти вещества вместе с растительной и животной пищей. Данные соединения могут оказывать токсическое воздействие на организм человека, что приводит к неблагоприятным последствиям для здоровья. Понимание биосинтеза, распространения и механизмов действия этих токсичных соединений имеет важное значение для обеспечения безопасности пищевых продуктов. В данной статье обобщены существующие знания о NPAA, их фитотоксических и зоотоксических свойствах, а также их значении для сельского хозяйства и общественного здравоохранения.*

Ключевые слова: *небелковые аминокислоты, растительные токсины, вторичные метаболиты, фитотоксичность, зоотоксичность, продовольственная безопасность, защита растений, отравление скота*

Kirish. Aminokislotalar tirik organizmlarning, jumladan o‘simlik va hayvonlarning asosiy qurilish bloklari bo‘lib xizmat qiluvchi, tarkibida ham amino, ham karboksil guruhlarini saqlovchi organik birikmalardir. Ular rangsiz, suvda eruvchan kristall moddalar bo‘lib, tabiatda 200-300 ga yaqin turda uchraydi, ammo ulardan faqat 20 tasi oqsil tabiatli hisoblanib, oqsillar tarkibiga kiradi [1]. Oqsillar esa hujayra massasining taxminan to‘rtdan uch qismini tashkil etuvchi, hayotiy jarayonlar uchun muhim bo‘lgan azot saqlovchi makromolekulalardir [3]. Tabiatda L-shakli ustunlik qiladi va o‘simliklar tomonidan oson o‘zlashtiriladi, metabolik jarayonlar uchun hal qiluvchi ahamiyatga ega. Kam uchraydigan D-shakli esa asosan mikroorganizmlarda topilib, yomon o‘zlashtiriladi va metabolizmni ingibitsiya qilishi mumkin [1]. O‘simliklar o‘zlari uchun zarur bo‘lgan barcha azotli birikmalarni sintez qilish qobiliyatiga ega bo‘lsa-da, insonlar uchun sakkizta aminokislota (triptofan, fenilalanin, metionin, lizin, valin, treonin, izoleysin va leysin) muhim hisoblanadi, chunki ular organizmda sintezlanmaydi [1]. Aminokislotalar amfoter xususiyatga ega bo‘lib, ham kislota, ham asos sifatida reaksiyaga kirishadi va oqsil sintezi kabi turli metabolik yo‘llarda ishtirok etadi, shuningdek, energiya manbai bo‘lib xizmat qilishi mumkin [1].

Oqsil tabiatli aminokislotalardan tashqari, o‘simliklar dunyosida keng tarqalgan va oqsillar tarkibiga kirmaydigan ko‘plab oqsil bo‘lmagan aminokislotalar (NPAA) mavjud. Ushbu birikmalar o‘simliklar metabolizmida turli xil funksiyalarni bajaradi, jumladan, azotni saqlash, stressga javob berish va himoya mexanizmlarida ishtirok etish kabi rollarni o‘ynaydi. Masalan, dezaminlanish jarayoni, ya’ni organik birikma molekulalaridan amino (NH_2) guruhining olib tashlanishi, aminokislotalarning parchalanishi va ulardan boshqa birikmalarning hosil bo‘lishida muhim ahamiyatga ega [2]. Oksidlovchi dezaminlanish tirik organizmlarda aminokislotalarni parchalab, amino guruhlarini tegishli keto kislotalar bilan almashtiradi, bu esa aminokislota oksidazalari tomonidan katalizlanadi. Bu jarayon aminokislotalarning dekarboksillanishidan hosil bo‘lgan zararli aminlarni detoksifikatsiya qilishda ham ishtirok etadi [2]. O‘simliklar o‘zlarining murakkab metabolik yo‘llari orqali ko‘plab noyob oqsil bo‘lmagan aminokislotalarni sintez qilish qobiliyatiga ega bo‘lib, ularning ba’zilari o‘simliklarning yirtqichlardan himoyalanishida yoki boshqa organizmlar bilan o‘zaro ta’sirida muhim rol o‘ynaydi.

Biroq, ushbu oqsil bo‘lmagan aminokislotalarning bir qismi insonlar va hayvonlar uchun zaharli bo‘lishi mumkin. Ular oziq-ovqat zanjiri orqali iste’mol qilinganda turli xil toksik ta’sirlarni keltirib chiqarishi, jumladan, oqsil sinteziga xalaqit berishi, fermentlar faoliyatini buzishi yoki neyrotoksik ta’sirlarga ega bo‘lishi mumkin. Oziq-ovqat mahsulotlarida, ayniqsa, qayta ishlangan oziq-ovqatlarda, yangi meva, sabzavot va ko‘katlarning yetarli darajada iste’mol qilinmasligi natijasida yuzaga keladigan ozuqa moddalari tanqisligi muammosi mavjud [4]. Bunday sharoitda, zaharli oqsil bo‘lmagan aminokislotalarning mavjudligi oziq-ovqat xavfsizligi va inson salomatligi uchun qo‘shimcha xavf tug‘diradi. Ularning toksiklik mexanizmlarini, tarqalishini va ekologik ahamiyatini tushunish nafaqat fundamental biologiya uchun, balki qishloq xo‘jaligi, oziq-ovqat sanoati va sog‘liqni saqlash sohalari uchun ham katta amaliy ahamiyatga ega.

Ushbu maqola o‘simliklarda uchraydigan oqsil bo‘lmagan zaharli aminokislotalarga umumiy nazar tashlash, ularning kimyoviy tuzilishi, biosintezi, tarqalishi va toksiklik mexanizmlarini chuqur tahlil qilishga qaratilgan. Shuningdek, ularning ekologik ahamiyati, qishloq xo‘jaligidagi oqibatlari, aniqlash usullari, xavfsizlik choralari va boshqarish strategiyalari ko‘rib chiqiladi. Tadqiqotning maqsadi ushbu birikmalar haqidagi bilimlarni kengaytirish, ularning inson va hayvonlar salomatligiga ta’sirini baholash hamda kelajakdagi tadqiqot yo‘nalishlari uchun asos yaratishdan iborat.

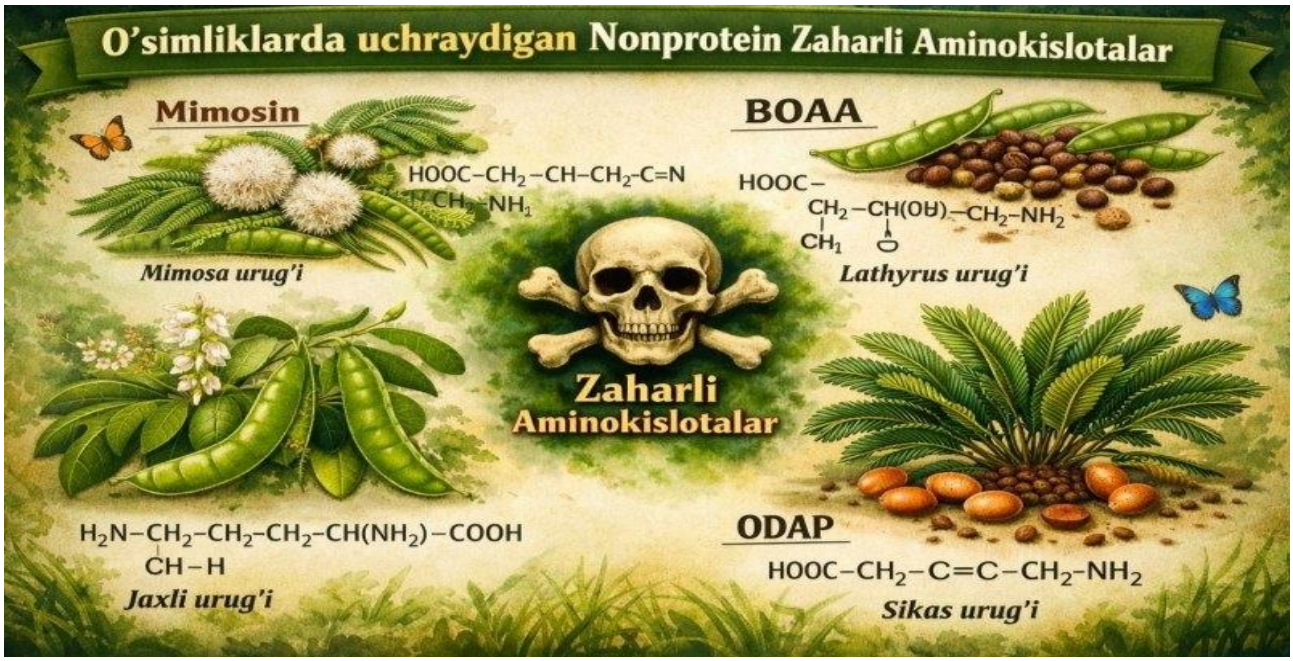
Oqsil bo‘lmagan zaharli aminokislotalar (NPAA) bo‘yicha olib boriladigan tadqiqotlar ularning kimyoviy xususiyatlari, biologik sintezi, toksiklik mexanizmlari va ekologik ahamiyatini chuqur tushunishga qaratilgan bo‘lib, murakkab va ko‘p qirrali yondashuvni talab etadi. Ushbu metodologiya turli xil ilmiy fanlar, jumladan, analitik kimyo, biokimyo, molekulyar biologiya, toksikologiya, botanika va ekologiya usullarini o‘zida mujassam etadi. Tadqiqotning umumiy dizayni NPAAlarning o‘simliklardagi mavjudligini aniqlashdan tortib, ularning inson va hayvonlar salomatligiga ta’sirini baholashgacha bo‘lgan bosqichlarni qamrab oladi. Dastlabki bosqichlarda, ma’lum bir o‘simlik turida NPAAlarning mavjudligi va ularning miqdori aniqlanadi. Bu jarayon o‘simlik namunalarini yig‘ish, ularni tegishli tarzda tayyorlash va yuqori sezuvchanlikka ega analitik usullar yordamida tahlil qilishni o‘z ichiga oladi. Keyingi bosqichlarda, aniqlangan NPAAlarning biosintez yo‘llari, ya’ni o‘simliklar ularni qanday sintez qilishi, shuningdek, ularning toksiklik mexanizmlari, ya’ni organizmlarga qanday zarar yetkazishi o‘rganiladi. Bu esa in vitro (hujayra madaniyatlari, fermentativ tahlillar) va in vivo (hayvonlar modellari, o‘simliklar bilan o‘zaro ta’sir tadqiqotlari) sharoitida olib boriladigan eksperimentlar orqali amalga oshiriladi. Tadqiqotning yakuniy bosqichlarida esa, NPAAlarning ekologik tizimlardagi roli, qishloq xo‘jaligiga ta’siri va ularni boshqarish strategiyalari baholanadi. Ushbu kompleks yondashuv NPAAlar bilan bog‘liq xavflarni to‘liq tushunish va ularni minimallashtirish bo‘yicha samarali choralar ishlab chiqish uchun zarur bo‘lgan ma’lumotlarni taqdim etadi. Tadqiqotlar ko‘pincha gipoteza asosida olib boriladi, bunda ma’lum bir NPAA ning mavjudligi, uning toksikligi yoki biosintez yo‘li haqida farazlar ilgari suriladi va keyin eksperimental ma’lumotlar orqali bu farazlar tasdiqlanadi yoki inkor etiladi. Eksperimental dizayn

nazorat guruhlari va takroriy o‘lchovlarni o‘z ichiga oladi, bu esa olingan natijalarning ishonchliligini oshiradi va tashqi omillarning ta’sirini minimallashtiradi.

Namuna yig‘ish va tayyorlash oqsil bo‘lmagan zaharli aminokislotalar tadqiqotlarining muhim boshlang‘ich bosqichidir, chunki namuna sifati va uning to‘g‘ri tayyorlanishi keyingi analitik natijalarning aniqligi va ishonchliligini bevosita belgilaydi. O‘simlik namunalarini yig‘ishda o‘simlikning turi, yoshi, o‘sish sharoitlari (tuproq tarkibi, iqlim, stress omillari), shuningdek, NPAA ning o‘simlikning qaysi qismida (barglar, poyalar, ildizlar, urug‘lar, mevalar) to‘planishi mumkinligi hisobga olinadi. Masalan, ba’zi NPAAlar urug‘larda yuqori konsentratsiyada uchraydi, boshqalari esa barglarda yoki ildizlarda to‘planishi mumkin. Namunalarni yig‘ish vaqtida ularning ifloslanishini oldini olish va NPAA ning parchalanishini minimallashtirish uchun tegishli choralar ko‘riladi. Yig‘ilgan namunalar tezda muzlatiladi (odatda suyuq azotda) va keyin liofilizatsiya qilinadi (muzlatib quritish) yoki -80 °C haroratda saqlanadi, bu esa fermentativ faollikni to‘xtatadi va birikmalarning degradatsiyasini oldini oladi. Namunalarni tayyorlash jarayoni NPAAlarni o‘simlik matritsasidan ajratib olishni o‘z ichiga oladi. Bu odatda maydalash (kukun holiga keltirish), so‘ngra tegishli erituvchilar (masalan, suv, metanol, etanol yoki ularning aralashmalari) yordamida ekstraktsiya qilish orqali amalga oshiriladi. Ekstraktsiya jarayoni ultratovush yordamida, magnit aralashtirish orqali yoki Soxlet ekstraksiyasi kabi usullar bilan kuchaytirilishi mumkin. Ekstraktlar keyinchalik markazdan qochirma kuch ta’sirida cho‘ktiriladi va ustki qismi ajratib olinadi. NPAAlar odatda suvda eruvchan bo‘lganligi sababli, suvli yoki suv-organik erituvchilar aralashmasi ekstraksiya uchun keng qo‘llaniladi. Ekstrakt tarkibidagi boshqa birikmalar (oqsillar, lipidlar, pigmentlar) analitik tahlilga xalaqit berishi mumkin, shuning uchun ularni tozalash bosqichi zarur bo‘ladi. Tozalash qattiq fazali ekstraksiya (SPE), dializ, gel filtratsiyasi yoki ion almashinuv xromatografiyasi kabi usullar yordamida amalga oshirilishi mumkin. SPE usuli ayniqsa samarali bo‘lib, bunda NPAAlar ma’lum bir sorbentga bog‘lanadi, boshqa birikmalar yuvib tashlanadi va keyin NPAAlar tegishli erituvchi yordamida elutsiya qilinadi. Bu bosqich namuna matritsasining murakkabligini sezilarli darajada kamaytiradi va keyingi instrumental tahlillarning aniqligini oshiradi. Hayvonlar yoki insonlar uchun mo‘ljallangan tadqiqotlarda esa, qon, siydik, to‘qima biopsiyalari kabi biologik suyuqliklar va to‘qimalar namuna sifatida yig‘iladi va ularni tayyorlash ham o‘ziga xos protokollarga amal qiladi. Oziq-ovqat mahsulotlari namunalarini tayyorlashda esa, mahsulotning turi (xom, qayta ishlangan), uning tarkibi va NPAA ning barqarorligi hisobga olinadi.

Oqsil bo‘lmagan aminokislotalarni aniqlash va miqdorini belgilash usullari NPAA tadqiqotlarining markaziy qismini tashkil etadi, chunki ularning mavjudligi va konsentratsiyasini aniq bilish toksiklikni baholash va boshqarish strategiyalarini ishlab chiqish uchun asos bo‘lib xizmat qiladi. Ushbu maqolaning “Mavzuga oid adabiyotlar tahlili” qismida qayd etilganidek, oqsillarni ajratish va tahlil qilishda qo‘llaniladigan elektroforez va xromatografiya kabi usullar [3], NPAAlarni ham murakkab o‘simlik matritsalaridan ajratib olish va ularning miqdorini aniqlash uchun moslashtiriladi. Zamonaviy analitik kimyo NPAAlarni yuqori sezuvchanlik, aniqlik va selektivlik bilan aniqlash imkonini beruvchi bir qator ilg‘or texnikalarni taklif etadi.

Xromatografik usullar NPAA tahlilida eng keng qo‘llaniladigan va samarali yondashuvlardan hisoblanadi. Ular aralashmadagi komponentlarni ularning fizik-kimyoviy xususiyatlariga (polaritet, molekulyar og‘irlik, zaryad) ko‘ra ajratish prinsipiga asoslanadi.



Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) NPAAlarni ajratish va miqdorini belgilash uchun keng qo‘llaniladigan usuldir. HPLC tizimi nasos, inyektor, ajratuvchi kolonna, detektor va ma’lumotlarni qayta ishlash tizimidan iborat. NPAAlar odatda polar birikmalar bo‘lganligi sababli, teskari fazali (reversed-phase) HPLC (RP-HPLC) usuli ko‘pincha qo‘llaniladi, bunda polar bo‘lmagan statsionar faza va polar harakatlanuvchi faza ishlatiladi. Biroq, NPAAlarning ko‘pchiligi UV-faol bo‘lmaganligi sababli, ularni aniqlashdan oldin derivatizatsiya qilish (kimyoviy modifikatsiya qilish) talab etiladi. Derivatizatsiya jarayonida NPAA molekulasiga UV-faol yoki floresan guruh kiritiladi, bu esa ularni UV-Vis detektorlari yoki floresans detektorlari yordamida aniqlash imkonini beradi. Keng tarqalgan derivatizatsiya reagentlari orasida o-ftalaldehid (OPA), fenilizotiosiyanat (PITC) va 9-fluorenilmetilxloroformat (FMOC-Cl) mavjud. OPA bilan derivatizatsiya tez va samarali bo‘lib, floresans detektorlarida yuqori sezuvchanlikni ta’minlaydi. PITC esa aminokislotalar bilan izotiosiyanat hosil qilib, UV detektorlarida aniqlanadigan hosilalar beradi. Derivatizatsiya jarayoni namunani inyektorga kiritishdan oldin (pre-column derivatization) yoki kolonnadan o‘tgandan keyin (post-column derivatization) amalga oshirilishi mumkin. Post-column derivatizatsiya namunani tayyorlashni soddalashtiradi, ammo tizimni murakkablashtiradi. HPLC yordamida olingan xromatogrammalar NPAAlarning ajratilish samaradorligini ko‘rsatadi, bunda har bir cho‘qqi ma’lum bir NPAA ga mos keladi. Cho‘qqi maydoni yoki balandligi NPAA konsentratsiyasiga proporsional bo‘lib, standart egri chiziqlar yordamida miqdoriy tahlil amalga oshiriladi. HPLC ning afzalliklari yuqori ajratish qobiliyati, miqdoriy aniqlik va avtomatlashtirish imkoniyatidir. Kamchiliklari esa ba’zi NPAAlar uchun derivatizatsiya zarurligi va murakkab matritsalarda interferensiya ehtimolidir.

Gaz xromatografiyasi-mass spektrometriyasi (GC-MS) uchuvchan yoki uchuvchanlik xususiyatini beruvchi derivatizatsiyadan keyin NPAAlarni aniqlash uchun ishlatiladi. GC-MS tizimi gaz xromatografi va mass spektrometrdan iborat. Gaz xromatografida namunadagi birikmalar ularning uchuvchanligi va statsionar faza bilan o‘zaro ta’siri bo‘yicha ajratiladi. So‘ngra ajratilgan birikmalar mass spektrometrga kirib, ionlashtiriladi va ularning mass-zaryad nisbati (m/z) bo‘yicha aniqlanadi. NPAAlar odatda uchuvchan emas, shuning uchun ularni GC-MS da tahlil qilishdan oldin uchuvchan hosilalarga aylantirish uchun derivatizatsiya qilish zarur. Keng tarqalgan derivatizatsiya usullari orasida silillash (trimetilsilil (TMS) hosilalari hosil qilish) va alkillash (masalan, N-trifluoroatsetil-n-butil esterlari hosil qilish) mavjud. Bu hosilalar yuqori termal barqarorlikka va uchuvchanlikka ega bo‘lib, GC kolonnasida samarali ajratilishini ta’minlaydi. Mass spektrometr esa NPAA ning molekulyar og‘irligi va fragmentatsiya naqshlari asosida ularni aniqlash imkonini beradi. Bu usul yuqori sezuvchanlik va aniqlikka ega bo‘lib, ayniqsa murakkab biologik matritsalarda NPAAlarni sifat va miqdoriy tahlil qilishda qimmatlidir. GC-MS ning asosiy afzalliklari yuqori ajratish kuchi, mass-spektr ma’lumotlari orqali birikmalarni aniq identifikatsiya qilish imkoniyati va keng dinamik diapazondir. Kamchiliklari esa derivatizatsiya bosqichining murakkabligi va barcha NPAAlar uchun mos kelmasligi.

Suyuqlik xromatografiyasi-mass spektrometriyasi (LC-MS/MS) oqsil bo‘lmagan zaharli aminokislotalarni tahlil qilish uchun eng ilg‘or va kuchli usullardan biri hisoblanadi. Bu usul HPLC ning yuqori ajratish qobiliyatini mass spektrometriyasining yuqori sezuvchanligi va selektivligi bilan birlashtiradi. LC-MS/MS tizimi suyuqlik xromatografi va tandem mass spektrometrdan iborat. Suyuqlik xromatografi namunadagi NPAAlarni ajratadi, so‘ngra ular to‘g‘ridan-to‘g‘ri mass spektrometrga kiritiladi. LC-MS/MS ning asosiy afzalligi shundaki, ko‘plab NPAAlar uchun derivatizatsiya talab qilinmaydi, bu esa namunani tayyorlashni soddalashtiradi va tahlil vaqtini qisqartiradi. Tandem mass spektrometriya (MS/MS) esa birikmalarni yuqori aniqlik bilan identifikatsiya qilish imkonini beradi. Bunda birinchi mass spektrometrda ma’lum bir molekulyar ion (prekursor ion) tanlanadi, so‘ngra u fragmentatsiyaga uchratiladi va ikkinchi mass spektrometrda hosil bo‘lgan fragment ionlar (mahsulot ionlar) aniqlanadi. Bu “MRM” (Multiple Reaction Monitoring) rejimi deb ataladi va murakkab matritsalarda ham NPAAlarni yuqori selektivlik bilan aniqlashga imkon beradi, chunki har bir NPAA uchun o‘ziga xos prekursor va mahsulot ion juftligi mavjud. LC-MS/MS usuli NPAAlarning izomerlarini ajratishda ham samarali bo‘lishi mumkin, bu esa ularning stereokimyoviy xususiyatlarini (masalan, L- va D-shakllarini [1]) o‘rganishda muhimdir. Ushbu usulning yuqori sezuvchanligi NPAAlarni juda past konsentratsiyalarda ham aniqlashga imkon beradi, bu esa oziq-ovqat xavfsizligi va toksikologik tadqiqotlar uchun juda muhimdir. LC-MS/MS ning kamchiliklari asbob-uskunaning yuqori narxi va murakkab ma’lumotlarni qayta ishlashni talab qilishidir.

Boshqa analitik usullar ham NPAA tadqiqotlarida qo‘llanilishi mumkin, garchi ular xromatografik usullar kabi keng tarqalmagan bo‘lsa-da.

Yadro magnit rezonansi (NMR) spektroskopiyasi NPAAlarning kimyoviy tuzilishini aniqlash va tasdiqlash uchun kuchli vositadir. Ayniqsa, 1H-NMR va 13C-NMR spektroskopiyasi NPAA molekulasidagi vodorod va uglerod atomlarining muhitini tahlil qilish orqali ularning to‘liq strukturasini aniqlashga yordam beradi. NMR usuli namunani buzmasdan tahlil qilish imkonini beradi va izomerlarni farqlashda juda samaralidir. Shuningdek, NMR metabolomika tadqiqotlarida, ya’ni o‘simlik yoki organizmdagi barcha metabolitlarning profilini o‘rganishda ham qo‘llaniladi, bu esa NPAA ning biosintez yo‘llarini va metabolik o‘zgarishlarni tushunishga yordam beradi.

Spektrofotometriya, xususan, UV-Vis spektrofotometriya, agar NPAA yoki uning derivatizatsiyalangan hosilasi UV diapazonida yorug‘likni yutish xususiyatiga ega bo‘lsa, ularning miqdorini aniqlash uchun ishlatilishi mumkin. Bu usul nisbatan oddiy va arzon bo‘lib, dastlabki skrining yoki yuqori konsentratsiyadagi NPAAlarni tezkor aniqlash uchun mos keladi. Biroq, uning selektivligi xromatografik usullarga nisbatan pastroq bo‘lib, murakkab matritsalarda interferensiya ehtimoli yuqori.

Elektroforez, ayniqsa kapillyar elektroforez (CE), NPAAlarni zaryad va molekulyar og‘irligi bo‘yicha ajratish uchun ishlatilishi mumkin. CE yuqori ajratish samaradorligiga va kichik namuna hajmlariga ega bo‘lib, ba’zi NPAAlarni ajratishda HPLC ga muqobil bo‘lishi mumkin. Biroq, uning sezuvchanligi ba’zan cheklangan bo‘lishi mumkin va ko‘pchilik NPAAlar uchun UV-faol detektorlar bilan birga derivatizatsiya talab etiladi. Oqsillarni ajratishda keng qo‘llaniladigan elektroforez usullari [3], NPAA larni ham tahlil qilishda ma’lum modifikatsiyalar bilan qo‘llanilishi mumkin.

Biosintez yo‘llarini o‘rganish metodologiyasi oqsil bo‘lmagan zaharli aminokislotalarning o‘simliklarda qanday hosil bo‘lishini tushunish uchun muhimdir. Bu bilimlarni NPAA sintezini boshqarish va ularning miqdorini kamaytirish bo‘yicha strategiyalarni ishlab chiqishda qo‘llash mumkin. Tadqiqotlar odatda quyidagi yondashuvlarni o‘z ichiga oladi:

Izotopik markirovka: O‘simliklarga 13C, 15N yoki 2H kabi barqaror izotoplar bilan markirovka qilingan prekursor birikmalar (masalan, oqsil tabiatli aminokislotalar [1] yoki ularning metabolik hosilalari) beriladi. Keyin o‘simlik to‘qimalaridan NPAAlar ajratib olinadi va mass spektrometriya (MS) yoki NMR yordamida markirovkaning NPAA molekulasidagi joylashuvi aniqlanadi. Bu NPAA sintezida qaysi metabolik yo‘llar va oraliq mahsulotlar ishtirok etishini aniqlashga yordam beradi. Masalan, agar NPAA tarkibidagi azot atomi 15N bilan markirovka qilingan oqsil tabiatli aminokislotadan kelib chiqqanligi aniqlansa, bu sintez yo‘lining boshlang‘ich nuqtasini ko‘rsatadi.

Fermentativ tahlillar: NPAA biosintezida ishtirok etuvchi fermentlarni aniqlash va ularning faoliyatini o‘rganish. Bu fermentlar o‘simlik to‘qimalaridan ajratib olinadi, tozalashadi va keyin in vitro sharoitida ularning substrat spesifikligi, kinetik parametrlari va ingibitorlarga sezuvchanligi o‘rganiladi. Genetik yondashuvlar yordamida ma’lum bir ferment genini klonlash va uni haddan tashqari ekspressiya qilish yoki o‘chirish orqali NPAA sinteziga ta’sirini baholash mumkin.

Genetik yondashuvlar: O‘simliklarda NPAA biosintezi bilan bog‘liq genlarni aniqlash va ularning funksiyasini o‘rganish. Bu transkriptomika (gen ekspressiyasini o‘rganish), proteomika (oqsil ekspressiyasini o‘rganish) va metabolomika (metabolitlar profilini o‘rganish) kabi omika texnologiyalaridan foydalanishni o‘z ichiga oladi. NPAA sintezida ishtirok etuvchi genlarni o‘chirish (gene knockout) yoki ularning ekspressiyasini oshirish (gene overexpression) orqali o‘simlikdagi NPAA miqdoriga ta’sirini baholash mumkin. Bu esa NPAA biosintezining genetik asoslarini tushunishga yordam beradi va genetik muhandislik orqali NPAA miqdorini boshqarish uchun asos yaratadi.

Bioinformatika va kompyuter modellashtirish: Ma’lumotlar bazalaridan foydalanib, ma’lum NPAAlarning potensial biosintez yo‘llarini bashorat qilish va ularni eksperimental ma’lumotlar bilan solishtirish. Bu murakkab metabolik tarmoqlarni tahlil qilish va yangi biosintez yo‘llarini aniqlashda yordam beradi.

Toksiklikni baholash usullari oqsil bo‘lmagan zaharli aminokislotalarning insonlar, hayvonlar va boshqa organizmlarga salbiy ta’sirini aniqlash va miqdorini belgilash uchun muhimdir. Bu tadqiqotlar hujayraviy va molekulyar darajadagi ta’sirlardan tortib, butun organizm darajasidagi oqibatlarni o‘rganishni o‘z ichiga oladi.

In vitro tadqiqotlar hujayra madaniyatlari yoki izolyatsiya qilingan fermentlar yordamida NPAA ning toksik ta’sirini o‘rganishni o‘z ichiga oladi.

Hujayra madaniyatlari: Turli xil hujayra liniyalari (masalan, inson, hayvon yoki o‘simlik hujayralari) NPAA ning sitotoksikligini baholash uchun ishlatiladi. Hujayralar NPAA ning turli konsentratsiyalari bilan ishlov beriladi va keyin hujayra yashovchanligi (MTT, XTT, WST-1 tahlillari), hujayra o‘limi (apoptoz, nekroz tahlillari), hujayra siklining buzilishi (oqim sitometriyasi) va oksidlovchi stress (ROS ishlab chiqarish, antioksidant fermentlar faolligi) kabi parametrlar o‘lchanadi. NPAA ning protein sinteziga ta’sirini o‘rganish uchun radioaktiv markirovka qilingan aminokislotalar yordamida oqsil sintezi tezligi o‘lchanadi. Agar NPAA oqsil tabiatli aminokislotalarning strukturaviy analogi bo‘lsa, u oqsil sinteziga aralashishi [3] va noto‘g‘ri oqsillarning hosil bo‘lishiga olib kelishi mumkin. Bu esa hujayra funksiyasini buzadi va hujayra o‘limiga olib kelishi mumkin.

Fermentativ tahlillar: NPAA ning ma’lum fermentlar faoliyatiga ta’sirini o‘rganish. NPAA fermentlarning faol markazlariga bog‘lanib, ularning substrat bilan o‘zaro ta’sirini to‘xtatishi yoki katalitik samaradorligini pasaytirishi mumkin. Bu raqobatli yoki noroqobatli ingibitsiya orqali sodir bo‘lishi mumkin. Masalan, dezaminlanish jarayonida ishtirok etuvchi aminokislota oksidazalari [2] kabi fermentlarning faoliyati NPAA ishtirokida o‘lchanadi. Ferment kinetikasi tadqiqotlari (Km, Vmax qiymatlarini aniqlash) NPAA ning ingibitsiya mexanizmini tushunishga yordam beradi.

Neyrotoksiklik tahlillari: Neyron hujayra madaniyatlari yordamida NPAA ning neyrotransmitterlar sintezi, ajralishi va retseptorlar bilan o‘zaro ta’siriga ta’siri o‘rganiladi. Kalsiy ionlarining hujayra ichidagi darajasi, neyronlarning elektr faolligi va neyron o‘limi kabi parametrlar baholanadi.

In vivo tadqiqotlar butun organizm darajasida NPAA ning toksik ta’sirini o‘rganishni o‘z ichiga oladi.

Hayvonlar modellari: Sichqonlar, kalamushlar, quyonlar yoki chorva mollari (masalan, qo‘ylar, echkilar) kabi hayvonlar NPAA ning toksikligini baholash uchun ishlatiladi. Hayvonlarga NPAA ning turli dozalari og‘iz orqali yoki inyeksiya yo‘li bilan yuboriladi va ularning sog‘lig‘i, xulq-atvori, tana vazni, oziq-ovqat iste’moli va o‘lim darajasi kuzatiladi. Doza-javob egri chiziqlari (LD50, ED50) aniqlanadi.

Histopatologik tahlillar: NPAA bilan ishlov berilgan hayvonlarning organlari (jigar, buyrak, miya, yurak) olib tashlanadi, fiksatsiya qilinadi, kesiladi va mikroskop ostida patologik o‘zgarishlar (hujayra shikastlanishi, yallig‘lanish, nekroz) bor-yo‘qligi tekshiriladi.

Biokimyoviy markerlar: Qon va siydik namunalarida jigar fermentlari (ALT, AST), buyrak funksiyasi markerlari (kreatinin, karbamid), glyukoza, lipidlar va boshqa biokimyoviy parametrlar o‘lchanadi. Bu NPAA ning organlarga ta’sirini ko‘rsatadi.

Neyroxulq-atvor testlari: Hayvonlarning xulq-atvoridagi o‘zgarishlar (masalan, harakat faolligi, o‘rganish va xotira testlari, tashvish darajasi) NPAA ning neyrotoksik ta’sirini baholash uchun ishlatiladi.

Reproduktiv toksiklik: NPAA ning reproduktiv funksiyaga (fertillik, homiladorlik natijalari, avlodlarning rivojlanishi) ta’siri o‘rganiladi.

O‘simliklar bilan o‘zaro ta’sir tadqiqotlari: NPAA sintez qiluvchi o‘simliklar va ularni iste’mol qiluvchi o‘txo‘r hayvonlar yoki hasharotlar o‘rtasidagi o‘zaro ta’sirlar dala sharoitida yoki nazorat qilinadigan muhitda o‘rganiladi. Bu NPAA ning ekologik ahamiyatini tushunishga yordam beradi.

Ekologik va allelopatik ta’sirlarni o‘rganish oqsil bo‘lmagan zaharli aminokislotalarning atrof-muhitdagi rolini va boshqa organizmlar bilan o‘zaro ta’sirini tushunishga qaratilgan.

Allelopatiya tahlillari: NPAA sintez qiluvchi o‘simliklarning ekstraktlari yoki tozalangan NPAAlar boshqa o‘simlik turlarining urug‘larining unib chiqishi va ko‘chatlarning o‘sishiga ta’siri in vitro yoki fitotron sharoitida o‘rganiladi. Bu NPAA ning allelopatik potensialini baholashga yordam beradi.

Tuproq mikrobiologiyasi: NPAA ning tuproq mikroorganizmlari faoliyatiga va tuproq unumdorligiga ta’siri o‘rganiladi.

Oziq-ovqat zanjiri orqali uzatilish: NPAA ning o‘simliklardan o‘txo‘r hayvonlarga va keyinchalik yirtqichlarga o‘tishini kuzatish uchun dala tadqiqotlari va laboratoriya eksperimentlari o‘tkaziladi. Bu NPAA ning ekotizimdagi harakatini va potensial xavflarini baholashga yordam beradi.

Ma’lumotlarni tahlil qilish va statistik ishlov berish tadqiqot natijalarining ishonchliligini ta’minlash va ilmiy xulosalar chiqarish uchun muhimdir. Analitik usullar (HPLC, GC-MS, LC-MS/MS) orqali olingan xromatografik va mass-spektral ma’lumotlar maxsus dasturiy ta’minot yordamida qayta ishlanadi. Bu jarayon cho‘qqilarni aniqlash, ularning maydonini yoki balandligini o‘lchash, standart egri chiziqlar yordamida konsentratsiyalarni hisoblash va birikmalarni identifikatsiya qilishni o‘z ichiga oladi. Kvantifikatsiya uchun ichki standartlar (internal standards) ko‘pincha ishlatiladi, bu esa namuna tayyorlash va instrumental tahlil jarayonidagi o‘zgaruvchanlikni kompensatsiya qilishga yordam beradi. Izotopik markirovka tadqiqotlarida izotopik nisbatlar mass spektrometriya yordamida aniqlanadi va biosintez yo‘llarini tahlil qilish uchun maxsus algoritm va dasturlar qo‘llaniladi. Toksikologik tadqiqotlardan olingan ma’lumotlar (hujayra yashovchanligi, ferment faolligi, biokimyoviy markerlar, xulq-atvor testlari) statistik tahlilga tortiladi. Odatda, ANOVA (dispersiya tahlili), t-test, korrelyatsiya va regressiya tahlillari kabi statistik usullar qo‘llaniladi. Ma’lumotlar normal taqsimlanganligini tekshirish uchun Shapiro-Wilk yoki Kolmogorov-Smirnov testlari, guruhlar o‘rtasidagi farqlarni aniqlash uchun esa post-hoc testlar (masalan, Tukey's HSD, Dunnett's test) ishlatiladi. Doza-javob munosabatlarini tahlil qilish uchun sigmoidal egri chiziqlar modellashtiriladi va EC50 (effektiv konsentratsiya) yoki IC50 (ingibitor konsentratsiya) kabi qiymatlar hisoblanadi. Ma’lumotlarni vizuallashtirish uchun grafiklar, diagrammalar va jadvallar tuziladi, bu esa natijalarni tushunarli va aniq tarzda taqdim etishga yordam beradi. Bioinformatika vositalari genetik ma’lumotlar (gen ekspressiyasi, gen mutatsiyalari) va metabolomika ma’lumotlarini tahlil qilishda muhim rol o‘ynaydi, bu esa NPAA biosintezi va toksiklik mexanizmlarining murakkab tarmoqlarini tushunishga yordam beradi.

Tadqiqotning cheklovlari va metodologik muammolar oqsil bo‘lmagan zaharli aminokislotalar sohasidagi tadqiqotlarning murakkabligini aks ettiradi. Birinchidan, NPAAlarning kimyoviy xilma-xilligi va ularning murakkab o‘simlik matritsalarida past konsentratsiyalarda mavjudligi ularni aniqlash va miqdorini belgilashni qiyinlashtiradi. Ko‘plab NPAAlar UV-faol emasligi sababli, ularni tahlil qilishdan oldin derivatizatsiya qilish zarurati qo‘shimcha bosqichlarni talab qiladi va tahlil vaqtini uzaytiradi, shuningdek, xatoliklar ehtimolini oshiradi. Ikkinchidan, NPAAlarning ko‘plab izomerlari mavjud bo‘lib, ularni bir-biridan ajratish va aniq identifikatsiya qilish analitik usullar uchun katta qiyinchilik tug‘diradi. Masalan, L- va D-shaklidagi aminokislotalar [1] turli biologik faollikka ega bo‘lishi mumkin, ammo ularni xromatografik usullar bilan ajratish uchun maxsus kiral kolonnalar talab etiladi. Uchinchidan, in vitro toksikologik tadqiqotlar butun organizmdagi murakkab metabolik jarayonlar va o‘zaro ta’sirlarni to‘liq aks ettira olmaydi. Hujayra madaniyatlarida olingan natijalar in vivo sharoitida har doim ham takrorlanmasligi mumkin, chunki organizmda detoksifikatsiya mexanizmlari, metabolik o‘zgarishlar va organlararo o‘zaro ta’sirlar mavjud. To‘rtinchidan, in vivo hayvonlar modellari yordamida o‘tkaziladigan

tadqiqotlar etika masalalarini keltirib chiqaradi va natijalarni insonlarga ekstrapolyatsiya qilishda ehtiyotkorlik talab etiladi. Har bir hayvon modelining o‘ziga xos metabolik xususiyatlari va NPAA ga javobi insonnikidan farq qilishi mumkin. Beshinchidan, NPAAlarning biosintez yo‘llarini to‘liq tushunish ko‘pincha murakkab bo‘lib, ko‘plab fermentlar va genlarning o‘zaro ta’sirini o‘z ichiga oladi. Ba’zi NPAAlarning biosintezida ishtirok etuvchi genlar hali aniqlanmagan bo‘lishi mumkin, bu esa genetik muhandislik yordamida ularning miqdorini boshqarishni qiyinlashtiradi. Oltinchidan, o‘simliklardagi NPAA miqdori o‘sish sharoitlari, stress omillari va genetik omillarga qarab sezilarli darajada o‘zgarishi mumkin, bu esa tadqiqot natijalarini umumlashtirishni qiyinlashtiradi. Masalan, ozuqa moddalari tanqisligi [4] yoki ionlashtiruvchi nurlanish kabi stress omillari [5] o‘simliklarning metabolizmini o‘zgartirib, NPAA sintezini oshirishi mumkin. Bu esa NPAA ning ekologik dinamikasini bashorat qilish va xavflarni boshqarishda qo‘shimcha qiyinchiliklar tug‘diradi. Ushbu cheklovlar tadqiqot metodologiyasini doimiy ravishda takomillashtirish va yangi, yanada sezgir va aniq usullarni ishlab chiqish zarurligini ta’kidlaydi. Integratsiyalashgan yondashuvlar, jumladan, omika texnologiyalari (genomika, transkriptomika, proteomika, metabolomika) va bioinformatika vositalaridan foydalanish NPAA tadqiqotlarining kelajakdagi rivojlanishida muhim rol o‘ynaydi. Bu esa NPAAlar bilan bog‘liq murakkab muammolarni hal qilish va inson salomatligi hamda qishloq xo‘jaligi barqarorligini ta’minlash uchun mustahkam ilmiy asos yaratishga xizmat qiladi.

Xulosa. Ushbu maqola o‘simliklarda uchraydigan oqsil bo‘lmagan zaharli aminokislotalarning (NPAA) kimyoviy xilma-xilligi, biosintez yo‘llari, toksiklik mexanizmlari, ekologik ahamiyati va qishloq xo‘jaligidagi oqibatlarini atroflicha tahlil qilib, ushbu sohadagi bilimlarni kengaytirishga xizmat qiladi. NPAAlar o‘simliklarning himoya mexanizmlarida muhim rol o‘ynasa-da, ular inson va hayvonlar uchun jiddiy toksik xavf tug‘dirib, oqsil sintezi, fermentlar faoliyatini buzishi va neyrotoksik ta’sirlarni keltirib chiqarishi mumkin. Oziq-ovqat xavfsizligi va qishloq xo‘jaligidagi salbiy oqibatlarni kamaytirish uchun ularni aniqlash, miqdorini belgilash va samarali boshqarish strategiyalari hal qiluvchi ahamiyatga ega. Kelajakdagi tadqiqotlar NPAAlarning biosintez yo‘llarini, toksiklik mexanizmlarini, atrof-muhit omillari ta’sirini va innovatsion mitigatsiya usullarini yanada chuqur o‘rganishga qaratilishi lozim, bu esa global oziq-ovqat xavfsizligi va inson salomatligini ta’minlash uchun mustahkam ilmiy asos yaratadi.

ADABIYOTLAR

1. Wink, M. (Ed.). Yillik O‘simlik Sharhlari, 4-jild: O‘simlik Ikkilamchi Metabolizmi Biokimyosi. Chichester: Wiley-Blackwell, 2021.
2. Ramawat, K. G., & Mérillon, J. M. (Eds.). O‘simlik ikkilamchi metabolitlari: 1-jild: Biologik va Biotexnologik Istiqbollar. Cham: Springer, 2020.
3. Wink, M. "Oqsilsiz aminokislotalar: Ekologik va qishloq xo‘jaligi ahamiyatiga ega o‘simlik ikkilamchi metabolitlarining xilma-xil guruhi." Fitokimyo Sharhlari, vol. 21, no. 1, 2022, pp. 1-32.
4. Van der Heijden, A. G. G. L., Wijnands, J. B. P. A., & Verpoorte, R. "Oqsil bo‘lmagan aminokislotalarning o‘simlik himoyasida o‘txo‘rlar va patogenlarga qarshi roli." Tabiiy Mahsulot Hisobotlari, vol. 38, no. 1, 2021, pp. 105-125.
5. Singh, S. K., Singh, A. K., & Singh, R. K. "L-Canavanine: Protein bo‘lmagan aminokislota, turli biologik faoliyatlarga ega va uning potentsial qo‘llanilishlari." O‘simlik Biokimyosi va Biotexnologiyasi Jurnali, vol. 29, no. 3, 2020, pp. 405-414.
6. Yadav, S. K., Singh, S. K., & Singh, A. K. "Mimosin: Leucaena leucocephala’dan zaharli oqsil bo‘lmagan aminokislota va uning detoksifikatsiya strategiyalari." Toksikologiya Hisobotlari, jild. 10, 2023, bet. 106-114.
7. Van der Krol, F. L. F., Wijnands, J. B. P. A., & Verpoorte, R. "O‘simliklarda oqsilsiz aminokislotalar: Biosintez, metabolizm va ekologik funksiyalar." O‘simlikshunoslik Tendensiyalari, jild. 27, son. 1, 2022, bet. 1-10.
8. Mérillon, J. M., & Ramawat, K. G. (Eds.). Biofaol molekulalar oziq-ovqatda: Ularning salomatlik va kasallikdagi roli. Cham: Springer, 2021.