**ZÜLALLAR**

Zülallar – bunlar peptid rabitəsi ilə müəyyən ardıcıllıqla birləşmiş aminturşulardan ibarət polimerlərdir. Zülalların biosintezində həlledici rol nuklein turşularına aiddir. Ümumiyyətlə, zülallar bitkilərin tərkibində olan əsas bioloji fəal maddələrə aid edilmir. Lakin onlar hüceyrənin vacib quruluş və funksional tərkib hissəsidir (protoplazma, fermentlər, aminturşular, RNT, DNT). Zülallar sadə (proteinlər) və mürəkkəb (proteidlər) ola bilər. Protein molekulunda yalnız zülal komponentləri, proteid molekulunda isə zülal və zülal olmayan (karbohidrat, lipid, nuklein və s.) komponentlər olur. Proteini hidroliz etdikdə yalnız aminturşular yaranır. Aminturşular - üzvi (karbon) turşular olub, tərkibində bir və ya daha çox aminqrupu saxlayır. Aminturşular zülal molekullarının əsas quruluş vahididir, onların bioloji spesifikliyini və qida əhəmiyyətini müəyyənləşdirir. Zülallar insan və heyvanların əsas qida məhsullarından biridir. Qidanın tərkibində zülal çatışmadıqda azot mübadiləsinin bir çox pozğunluqlarına səbəb olur.

Aminturşu molekukundakı aminqrupların vəziyyətinə görə α-, β- və γ-aminturşular ayırd edilir. Təbii zülallar yalnız α-aminturşulardan təşkil olunmuşdur. Bir neçə növ: əvəz olunan, əvəz olunmayan, ketogen, qlikogen və s. aminturşu növləri var. Əvəz olunan aminturşular insan orqanizmində digər aminturşulardan və ya başqa üzvi birləşmələrdən sintez olunanlardır. Əvəz olunmayan aminturşular isə insan orqanizmində sintez olunmur, lakin həyat üçün çox vacibdir.

İnsan üçün 8 əvəz olunmayan aminturşu: valin, izoleysin, leysin, lizin, metionin, treonin, triptofan və fenilalanin mövcuddur. Onlar insan orqanizminə heyvan və bitki mənşəli qidalarla daxil olur. Daha çox paxlakimilərin toxumlarında və becərilən yağlı bitkilərin meyvələrində olur.

Canlı orqanizminin ən mühüm həyati funksiyalarının (böyümə, çoxalma, əzələ fəaliyyəti və s.) yerinə yetirilməsi zülalların xassələri ilə əlaqədardır. Təkcə bunu göstərmək kifayətdir ki, orqanizmdə baş verən bütün kimyəvi çevrilmələri idarə edən fermentlər zülal təbiətli maddələrdir. Zülallara verilən “protein” adı onların həyat üçün çox böyük əhəmiyyətə malik olduğunu özündə əks etdirir (yunanca “proteos”); “birinci”, “ən vacib” mənası verən bu adı elmi ədəbiyyatda ilk dəfə 1838-ci ildə Hollandiya kimyaçısı Q.Mulder Bertseliusun tövsiyəsi ilə işlətmişdir. Azərbaycan dilində özünə geniş yer tapmış “zülal” sözü isə insanlara çox qədim zamanlardan məlum olan yumurta ağının adından götürülmüşdür. Məlumdur ki, yumurta ağı zülal məhlulundan ibarətdir. “Zülal” sözü ərəb dilində 2 mənada işlədilir: 1) yumurta ağı; 2) təmiz, şəffaf su.

Elmi ədəbiyyatda zülallar haqqında ilk məlumatı 1728-ci ildə Bekkari vermişdir. O, buğda unundan xəmirə yapışqanlıq verən maddəni ayıraraq, həmin maddənin bəzi xassələrinə görə yumurta zülalına bənzədiyini müşahidə etmişdir. Sonralar Q.Mulder müxtəlif mənşəli zülalların xassələrini tədqiq edərək, onların həyat üçün böyük əhəmiyyətə malik azotlu üzvi birləşmələr olduğunu müəyyənləşdirmişdir. 1890-cı ildə Hofmeyster yumurta albuminini kristal şəklində əldə etmişdir. Bu, kristal şəklində əldə edilən ilk zülali maddə idi. Bundan sonra aparılan tədqiqatlardan aydın olmuşdur ki, zülallar bütün canlıların orqanizminin əsas tərkib hissəsidir. Heyvan orqanizminin quru kütləsinin 40-50%-i zülallardan ibarətdir; bitkilərdə isə heyvan orqanizminə nisbətən az (20-25%-ə qədər) zülal olur.

Orta bədən kütləsinə malik olan insan orqanizmində 15 kq-a qədər zülal olur; insan orqanizmindəki zülal molekullarının növləri isə 30 mindən artıqdır. Onların hər biri digər zülal molekullarından struktur və funksiyalarına görə fərqlənir.

Hüceyrələrin bütün fərdi xassələri onlarda olan zülal molekullarının növlərindən və funksiyalarından asılıdır. Hər bir zülal molekulu bir-birilə peptid rabitələri vasitəsilə birləşmiş çoxlu sayda (onlar, yüzlər və ya minlərlə) aminturşu qalıqlarından, yəni peptid zəncirlərindən ibarət olur. Peptid zənci-rinin müxtəlif hissələri arasındakı molekuldaxili qarşılıqlı təsirlər zülal mole-kulunun fəza konfiqurasiyasını müəyyən edir. Həmin molekulların bəzi sahə-lərində isə başqa maddə molekulları ilə spesifik surətdə rabitəyə girmək xassəsinə malik olan sahələr yerləşir. Bu sahələrə birləşə bilən maddələr l i q a n d adlanır. Zülal molekulunun spesifik funksiyaları onun öz spesifik liqandı ilə birləşməsinə şərait yaradan sahəsi ilə əlaqədardır.

1. Qidalandırıcı (ehtiyat) funksiya. Bəzi zülallar hüceyrələrdə ehtiyat qida maddəsi şəklində saxlanılır və lazım gəldikdə istifadə edilir. Bunlara yumurta zülallarını (ovalbuminlər) və dölün qida maddəsi kimi istifadə etdiyi ehtiyat zülalları misal göstərmək olar. Südün tərkibinə daxil olan əsas zülali maddə – kazein də təkamül prosesində yalnız qidalandırıcı funksiyaya malik zülal xarakteri əldə etmişdir. Bundan əlavə, orqanizm daxilində sintez edilib, ehtiyat şəklində saxlanılan bəzi zülallar müxtəlif bioloji aktiv maddələrin sintezi üçün lazım gələn aminturşuların mənbəyi kimi istifadə edilə bilər.

2. Mühafizəetmə funksiyası. Orqanizmin infeksion mənşəli zərərverici amillərdən (bakteriyalar, bakteriya toksinləri, viruslar, rikketsilər, patogen göbələkciklər) mühafizəsi anticisimcik adlanan spesifik xassəli zülalların köməyi ilə həyata keçirilir. Orqanizmdə sintez edilən lizosim adlı zülali maddə müxtəlif növ mikroorqanizmlərin xarici membranını əritməklə (lizisə uğrat-maqla) onları zərərsizləşdirir, müxtəlif virus növlərinə məhvedici təsir göstərən interferon da zülal strukturuna malikdir. Lizosim və interferon anticisim-ciklərdən (immun cisimciklərdən) təcirlərinin qeyri-spesifikliyinə görə fərq-lənir. Qanın laxtalanmasında iştirak edən amillərin də əksəriyyəti zülallardan ibarətdir. Damarların zədələnməsi zamanı laxtalanma amilləri arasında baş verən zəncirşəkilli reaksiyalar sayəsində əmələ gələn tromboplastin trombini aktivləşdirir (yəni, protrombini trombinə çevirir), trombin isə qan plazmasının spesifik zülali maddəsi olan fibrinogeni fibrinə çevirməklə, qanı laxtalandırır və orqanizmi qanitirmədən mühafizə edir.

3. Katalitik funksiya. Orqanizmin daxilində bütün kimyəvi çevrilmələr bioloji katalizator funksiyası daşıyan fermentlər vasitəsilə həyata keçirilir. İndiyə qədər elmə məlum olan 4000-ə qədər fermentin, demək olar ki, hamısı zülal strukturlu maddələrdir (bu baxımdan son vaxtlarda aşkar edilən ribozim adlı ferment xassəli birləşmələr müstəsnalıq təşkil edir; onlar ribonuklein turşusu törəmələri olub, RNT sintezi zamanı autosplaysinq funksiyasını yerinə yetirirlər, yəni transkripsiyadan sonrakı dövrdə intronların RNT molekulundan ayrılması prosesini kataliz edirlər).

4. Nəqletmə funksiyası. Oksigenin toxumalara nəql edilməsi (yəni qanın tənəffüs funksiyası) zülali maddə olan hemoqlobin vasitəsilə həyata keçirilir. Lipidlər toxumalara qan serumunda olan albuminlərlə kompleks birləşmə şəklində daşınır. Qan serumu zülallarının bəzi növləri mis, dəmir, A və B12 vitaminləri, müxtəlif hormonlar (tiroksin, triyodtironin, kortikosteroidlər) və b. maddələrlə kompleks birləşmə əmələ gətirərək, onların toxumalara daşınmasını təmin edir. Bir sıra maddələrin hüceyrə membranından nəql edilməsi də burada olan spesifik zülali maddələrin fəaliyyəti ilə əlaqədardır.

5. Yığılma (təqəllüsetmə) funksiyası. Əzələlərin yığılması spesifik zülallar olan aktin və miozinin funksiyası ilə əlaqədardır; bəzi hüceyrə zülalları da yığılma qabiliyyətinə malikdir. Bu, hüceyrələrdə bəzi mühüm fizioloji funksiyaların yerinə yetirilməsinə imkan yaradır.

6. Hormonal funksiya. Orqanizmin əsas tənzimedici amilləri olan hor-monların bir qrupu (məsələn, hipofizin və mədəaltı vəzinin hormonları) zülal və polipeptid təbiətli maddələrdir.

7. İstinad funksiyası. Orqanizmdə istinad funksiyasını yerinə yetirən toxumaların (sümüklər, vətərlər, oynaq bağları) kütləsinin böyük hissəsini zülallar təşkil edir. Kollagen və elastin kimi struktur zülalları bu funksiyanı da yerinə yetirir.

8. Struktur funksiyası. İnsan orqanizmində struktur funksiyasına malik olan zülalların miqdarı bütün digər xassəli zülallardan çoxdur. Bunlara kollagen, elastin və keratin zülallarını misal göstərmək olar. Kollagen birləşdirici toxumanın, elastin damar divarının, keratin isə tük, dırnaq və dərinin əsas zülali maddəsidir. Hüceyrə membranlarının strukturuna (lipidlərlə kompleks birləşmə şəklində) daxil olan zülalları da struktur funksiyalı zülallar hesab etmək olar.

9. Reseptor funksiyası. Orqanizmin hüceyrələrinə tənzimedici amillərin (hormonlar, sinir mediatorları) təsiri həmin amillərlə seçici surətdə birləşmək qabiliyyətinə malik olan spesifik zülallar vasitəsilə həyata keçirilir. Bunlara reseptorlar deyilir.

Zülalların bütün funksiyalarını təkcə yuxarıda sadalananlarla məhdud-laşdırmaq olmaz. Bunlardan əlavə, zülallar orqanizmin maye mühitində (qan, limfa, hüceyrəarası maye) və hüceyrədaxili mühitdə onkotik təzyiqin və pH-ın tənzimində iştirak edir. Zülalların tənzimedici funksiyası da təkcə fermentlər və hormonlarla əlaqədar deyil; məlumdur ki, hüceyrə genomunun fəallığı zülal tərkibli tənzimedicilər vasitəsilə idarə edilir. Bəzi polipeptidlər fermentlərin fəallığını inhibisiya etməklə, onların təsirini tənzimləyir. Heyvan və mikro-orqanizm mənşəli bəzi zülallar orqanizmə toksik təsir göstərmək xassəsinə malikdir. Bunlara ilan zəhərini və difteriya toksinini misal göstərmək olar. Beləliklə, zülalların funksiyalarının yuxarıda verilən natamam siyahısı onların həyat üçün müstəsna dərəcədə əhəmiyyətli olduğunu sübut edir. Əgər nuklein turşularının hüceyrə bölünməsi, zülal biosintezi, çoxalma və əlamətlərin nəsil-dən-nəslə verilməsi kimi mühüm həyati proseslərdə sərbəst şəkildə deyil, zülallarla kompleks birləşmə halında iştirak etdiyini nəzərə alsaq, onda bu iki biopolimer qrupundan hansının daha yüksək bioloji əhəmiyyətə malik olduğu haqqında sual verməyin mənasız olduğu üzə çıxar.

Zülallar bir sıra ümumi xassələrinə görə üzvi maddələrin digər qrup-larından fərqlənir. Bu fərqlərə aşağıdakılar aiddir:

a) Zülalların tərkibində kifayət qədər sabit miqdarda azot olur;

b) Zülal molekullarının struktur vahidləri aminturşulardır;

c) Zülal molekulunda olan aminturşular bir-birilə peptid rabitələri vasitəsilə birləşərək, polipeptid zəncirləri təşkil edir;

d) Zülallar böyük molekul kütləsinə malik olan üzvi birləşmələrdir (onların molekul kütləsi 4-5 mindən bir neçə milyon vahidə qədər ola bilər);

e) Zülalların fiziki-kimyəvi xassələri və bioloji xüsusiyyətləri polipeptid zəncirlərinin mürəkkəb strukturu ilə əlaqədardır.

Zülalların kimyəvi tərkibi. Təbiətdə rast gəlinən bütün zülalların tərki-binə əsasən 5 kimyəvi element – karbon, hidrogen, oksigen, azot və kükürd daxildir.

Zülalların fiziki-kimyəvi və bioloji funksiyalarını öyrənmək üçün ilk növbədə onları təbii mənbələrindən təmiz halda almaq lazımdır. Lakin təbii mənbələrdən alınan zülalların təmizlənməsi böyük çətinliklərlə əlaqədardır. Çünki, çox vaxt təmiz halda alınması nəzərdə tutulan zülal ilkin materialın cüzi hissəsini (0,1%-ə qədər) təşkil edir və başqa zülallarla qarışıq şəklində olur. Əgər zülalların bir-birilə və digər maddələrlə asanlıqla kompleks birləşmə əmələ gətirdiyini və bu birləşmələrin tərkib hissələrinə ayrılmasının da çətin-liklərini nəzərə alsaq, zülalların təmizlənməsinin nə qədər mürəkkəb problem olduğu aydınlaşar. Tədqiqatın uğurlu keçməsi üçün əsas zəmin yaradan bu hazırlıq dövrü 3 mərhələdən ibarətdir: 1. Bioloji materialın xırdalanıb homogen kütlə halına salınması (homogenizasiya); 2) zülalların məhlul halına salınması (ekstraksiya); 3) tədqiq edilən zülalın məhlulda qarışıq şəklində olan digər zülallardan təmizlənməsi.

Məlumdur ki, zülallar mühit temperaturunun və pH-ın dəyişikliklərinə, həmçinin müxtəlif kimyəvi maddələrin (turşular, qələvilər, üzvi həlledicilər) təsirinə qarşı yüksək dərəcədə həssas olur və onların təsiri nəticəsində öz əsas xassələrini asanlıqla itirirlər. Buna görə, üzvi kimyanın müəyyən maddələri qarışıqlardan təmizləmək üçün istifadə edilən qızdırılma, distilləetmə, sublima-siya, kristallaşdırılma kimi üsullarını zülallara tətbiq etmək məsləhət görülmür. Çünki, bu üsulların tətbiqi zamanı zülallar denaturasiyaya uğrayır, yəni öz təbii xassələrini (xüsusən bioloji aktivliyini və həllolma qabiliyyətini) itirir. Buna görə, zülalları digər qarışıqlardan ayırmaq üçün xüsusi üsullar işlənib hazır-lanmışdır. Bu üsullar aşağı temperatur şəraitində (4oC-yə qədər) və zülal mole-kullarının strukturuna mənfi təsir göstərməyən xüsusi reaktivlərdən istifadə edilməklə həyata keçirilir. Aşağıda həmin üsulların ümumi prinsipləri haqqında qısa məlumat veririk. Ekstraksiya prosesi zülalların təmizlənməsinin 2-ci mərhələsi hesab edilsə də, adətən homogenizasiya ilə paralel surətdə aparılır. Zülalları homogenatın tərkibindən ayırmaq üçün müxtəlif məhlullardan istifadə edilir. Bu məqsədlə işlədilən məhlulun pH-ı ekstraksiya ediləcək zülalın xassələrinə müvafiq gəlməlidir. Çox vaxt ekstraksiyaedici kimi bəzi duzların 8-10%-li məhlulların-dan istifadə edilir və məhlulun pH-ı müxtəlif bufer xassəli maddələr vasitəsilə müvafiq göstəricilərə çatdırılır. Bunlardan əlavə, ekstraksiya zamanı üzvi həlledicilərdən və zülal molekullarının həm bir-birilə, həm də lipidlərlə əmələ gətirdiyi hidrofob rabitələri parçalayan maddələrdən istifadə edilir.

Zülalların həllolma qabiliyyəti mühitin pH-dan əhəmiyyətli dərəcədə asılıdır. Buna görə, toxuma zülallarını məhlula keçirmək üçün fosfat, sitrat və ya borat bufer sistemləri vasitəsilə, ekstraksiya ediləcək zülalın xassələrinə müvafiq gələn zəif turş və ya qələvi mühit yaradılır. Bu, zülalların həm həll olmasına, həm də öz təbii xassələrini saxlamasına imkan verir. Bu məqsədlə çox vaxt “tris-bufer” sistemindən istifadə edilir. Adı çəkilən bufer sistemi tris-oksimetil-aminmetanın [(HOCH2)3CNH2] 0,2 M qatılıqlı məhlulu ilə 0,1 M qatılıqlı xlorid turşusu məhlulunun müxtəlif nisbətli qarışığından ibarətdir.

Ekstraksiya zamanı qliserin və saxaroza kimi üzvi birləşmələrin zəif məhlullarından da istifadə edilir. Qan serumu zülallarının bir-birindən ayrıl-ması üçün onları etil spirti, aseton, butil spirti və ya bu maddələrin müxtəlif nisbətli qarışıqları vasitəsilə çökdürürlər.

Zülalları lipidlərlə və digər zülallarla kompleks birləşmələrindən ayırmaq üçün müxtəlif detergent xassəli maddələrin təsirindən istifadə edilir. Məsələn, mitoxondrilərin membranları ilə rabitəli olan zülalların (fermentlərin) ekstrak-siyası məqsədilə, homogenatlarla dezoksixol və dodesilsulfat turşularının nat-rium duzları və triton X-100 qarışdırılır. Lakin bu zaman nəzərə alınmalıdır ki, detergentlər zülal molekulları arasındakı kompleks rabitələri parçalamaqla, onların dördüncülü quruluşunun da pozulmasına səbəb olur.

Xromatoqrafiya – maye və ya qaz qarışıqlarının tərkibində olan müxtəlif maddələrin bir-birindən ayrılması üçün istifadə edilən fiziki-kimyəvi analiz üsuludur. Bu üsulun əsas prinsipini tərkib hissələrinə ayrılacaq qarışıqların bir-biri ilə qarışmayan 2 mühit arasında yayılması təşkil edir. Adətən bu mühit-lərdən biri hərəkətsiz (stasionar) olur, digəri isə hərəkətli olub, fasiləsiz surətdə hərəkətsiz mühitin içərisindən keçir. Xromatoqrafiya maddələrin müxtəlif mühitdə bir-birindən fərqlənən sürətlə yayılmasına əsaslanan digər üsullardan (məsələn, ekstraksiya) dinamik prosesə əsaslanmasına görə fərqlənir. Yəni bu üsulun köməyi ilə həm mayelərin tərkibindən, həm də qaz qarışıqlarından üzvi və qeyri-üzvi maddələri, onların qatılıq dərəcəsindən asılı olmadan ayırmaq mümkündür. Xromatoqrafiya zamanı mütəhərrik mühit kimi qazlardan və ma-yelərdən (zülalları qarışıqlardan təmizləmək üçün maye mühitdən, yəni məhlul şəklində olan qarışıqlardan) istifadə edilir, stasionar (qeyri-mütəhərrik) mühit funksiyasını isə maye və ya bərk cisim yerinə yetirə bilər. Bu zaman mütə-hərrik fazada olan maddələrin bir-birindən ayrılmasına onların müxtəlif sürətlə adsorbsiyaya uğraması, həllolma və ya qeyri-mütəhərrik fazada olan maddə-lərlə reaksiyaya girmə qabiliyyətlərinin müxtəlifliyi səbəb olur.

Xromatoqrafiya üsulunu ilk dəfə 1903-cü ildə rus alimi M.S.Svet bitki mənşəli piqment maddələrini bir-birindən ayırmaq üçün istifadə etmişdir. Üsulun tətbiqi sayəsində bitki yarpaqlarının ekstraktında 2 növ yaşıl piqment maddəsi (a və b tipli xlorofillər) və bir neçə sarı rəngli piqment maddəsi (karotinoidlər) olduğu aşkara çıxmışdır. Üsulun xromotoqrafiya adlanması da bu təcrübə ilə əlaqədardır [shromo (yunanca) – rəng + graphein (yunanca) – yazıram]. XX əsrin 40-cı illərindən sonra xromatoqrafiya üsulu daha da təkmilləşdirilmiş, onun müxtəlif növləri ayırd edilmiş və müvafiq aparatlar – xromatoqraflar – hazırlanmışdır.

Xromatoqrafiya üsulunun tətbiqi zamanı tərkib hissələrinə ayrılmalı olan qarışıq mütəhərrik mühiti təşkil edən maye və ya qazın hərəkət qüvvəsinin təsiri nəticəsində stasionar mühitin məsamələrinə daxil olur. Bəzi hallarda stasionar mühit kimi, doğranılıb narın hala salınmış və ya dənəciklər şəklində olan bərk maddələrdən istifadə edilir; bu maddələr ensiz şüşə və ya metal boru-cuğun içərisinə yerləşdirilir, yəni silindr şəklinə salınır; çox vaxt mütəhərrik mühiti belə silindrlərdən təzyiq altında keçirirlər. Bundan əlavə, stasionar mühit kimi, şüşə lövhəyə yayılmış xırda hissəciklərdən ibarət olan sorbsiya-edici xassəli bərk maddə təbəqəsindən, məsaməli materialdan hazırlanan pərdədən, xüsusi kağız növlərindən mütəhərrik fazanın mayesində həll olmayan qeyri-mütəhərrik maye mühitindən istifadə etmək olar.

Çeşidlərə ayrılan maddələrin xromatoqrafiya sistemində hərəkəti zamanı onların molekullarının mütəhərrik mühitdən qeyri-mütəhərrik mühitə keçməsi sorbsiya, bunun əksinə olan proses isə desorbsiya adlanır. Qeyri-mütəhərrik (stasionar) mühiti təşkil edən maddə çeşidlərə ayrılan molekullara adsorbsi-yaedici təcir göstərdikdə həmin molekullar sorbent vasitəsilə udulur (bu proses adsorbsiyaedici xromatoqrafiyanın əsasını təşkil edir); adsorbsiyaedici təsirə malik olmayan sorbentlərdən istifadə edildikdə sorbsiya prosesi ayrılan mole kulların qeyri-mütəşəkkil mühitdə mexaniki ləngidilməsi ilə nəticələnir. Xro-matoqrafiya üsulu ilə çeşidlərə ayrılma prosesi məsaməli sorbent vasitəsilə aparıldıqda molekulların hərəkəti həmin məsamələrdə ləngiyir (məsələn, gel-filtrasion xromatoqrafiya zamanı). Xromatoqrafiya üsullarının müxtəlif növ-lərinin hər hansı bir meyara görə təsnifatını yaratmaq olduqca çətindir. Çünki bu metodların hər biri bir neçə variantda tətbiq edilə bilir. Məsələn, çökdürmə üsuluna əsaslanan xromatoqrafiyanı sorbent silindrlərində, kağız üzərində və geldə aparmaq mümkündür. Molekulların çeşidlənməsi üçün istifadə edilən hər hansı bir üsul çox vaxt müxtəlif xromatoqrafiya metodlarının əsasını təşkil edir. Eyni zamanda hər hansı bir xromatoqrafiya üsulunda müxtəlif prinsip-lərdən istifadə edilə bilər. Məsələn, nazik lövhəcik üzərində aparılan xromato-qrafiya zamanı molekulların çeşidlənməsi üçün sorbsion, yayılma, iondəyişmə və b. prinsiplərdən istifadə etmək mümkündür.

Xromatoqrafiya müxtəlif məqsədlərlə aparıla bilər. Bu baxımdan xromato-qrafiyanın 3 növü ayırd edilir: 1. Analitik xromatoqrafiya: mürəkkəb qarışıq-ların tərkibini müəyyənləşdirmək məqsədilə həyata keçirilir; 2. Preparativ xromatoqrafiya: qarışıqda olan maddəni təmiz halda əldə etmək üçün aparılır; 3. Fiziki-kimyəvi tədqiqat məqsədilə aparılan xromatoqrafiya.

Xromatoqrafiya üsulları stasionar mühit kimi istifadə edilən sorbentlərin növlərinə görə də bir-birindən fərqlənir. Bu baxımdan xromatoqrafiyanın aşağıdakı tipləri ayırd edilir: 1) adsorbsion; 2) iondəyişdirici; 3) bölüşdürücü; 4) çökdürücü; 5) affin; 6) oksidləşdirici-reduksiyaedici; 7) gel-filtrasion xromatoqrafiyalar.

1. Adsorbsion xromatoqrafiya – qarışıqda olan müxtəlif maddələrin adsorbsiyaya uğrama qabiliyyətinin fərqli olmasına əsaslanan üsuldur. Bu fərqlər maddələrin kimyəvi strukturundan və xassələrindən asılı olur. Çeşidlənməsi nəzərdə tutulan maddələrin adsorbsiyaedilmə xassəsində və ya sorbsiya və desorbsiya qabiliyyətində olan cüzi fərqlər onların bir-birindən ayrılmasına şərait yaradır. Adsorbsion xromatoqrafiya zamanı stasionar mühit kimi aktivləşdirilmiş ağac kömüründən, alüminium oksidindən, silikogeldən və başqa adsorbentlərdən istifadə edilir. Xüsusi həlledici ilə qarışdırılmış adsorbent şüşə borucuğa yığılır (həlledicinin tərkibi çeşidlənməsi nəzərdə tutulmuş maddələrin xassələrinə görə müəyyənləşdirilir və çox vaxt bufer maddələrdən ibarət olur). Şaquli istiqamətdə fiksə edilən şüşə borucuğun içərisində olan adsorbentin üzərinə əlavə edilən qarışığın tərkib hissələri adsorbsiyaya uğrayır. Bundan sonra müvafiq çıxarıcı maddələrdən istifadə etməklə, adsorbsiyaya uğramış maddələri desorbsiya edirlər.

2. İondəyişdirici xromatoqrafiya – məhlulda və adsorbentdə olan ionların qarşılıqlı mübadiləsinə əsaslanan üsuldur. Bu üsulla aparılan xromatoqrafiya zamanı xromatoqrafiya borusunu aniondəyişdirici və ya kationdəyişdiricilərlə doldururlar. Bu məqsədlə ionitlər adlanan iondəyişdirici qatranlardan istifadə edilir.

İonitlər – dissosiasiyaya uğraya bilən funksional kimyəvi qruplara malik olan, iondəyişdirici qatranın strukturu ilə birləşərək ona turşu (kationitlər) və ya qələvi (anionitlər) xassəsi verən irimolekullu birləşmələrdir. Sənayedə ionitlərin bir neçə növündən istifadə edilir. Bunlara molekul strukturuna kation və ya anion qrupları daxil edilmiş sintetik iondəyişdirici qatranlar, sellüloza, dekstran və ya aqaroza aiddir. Kationlarla birləşmək qabiliyyətinə malik olan iondəyişdirici qatranlar – kationdəyişdiricilər, anionlarla reaksiyaya girə bilən-lər isə – aniondəyişdiricilər adlanır. Bunlardan əlavə, amfoter ionitlərdən – amfolitlərdən də istifadə edilir; onlar həm kationlarla, həm də anionlarla reaksiyaya girə bilirlər.

İondəyişdirici xromatoqrafiya üsulundan qarışıqları selektiv surətdə mü-əyyən ionlardan təmizləmək məqsədilə geniş istifadə edilir. Tərkibi və pH-ı qarşıya qoyulmuş məqsədə müvafiq gələn məhluldan istifadə etməklə, qarışığın tərkibindən bir qrup ionu çıxarmaq, başqa ion qrupunu isə saxlamaq mümkündür. Məsələn, anionitlər aminturşuları sorbsiya edir və ammonyakın köməyilə qarışıqların tərkibindən çıxarılır. Lakin müxtəlif aminturşular məhlulun tərkibindən bir-birindən fərqlənən sürətlə və müxtəlif ardıcıllıqla təmizlənir: adətən aminturşu qarışıqlarından asparagin turşusu daha tez çıxır, bundan sonra isə serin, qlutamin turşusu, alanin, valin və leysin ayrılır. Ümumiyyətlə müxtəlif maddələr qarışığını aminturşularından təmizləmək üçün 2 növ iondəyişdirici mühitdən istifadə edilir. Bunlardan biri qarışıqdan turş, neytral və aromatik aminturşuları, digəri isə qələvi xassəli aminturşuları (diaminmonokarbon turşuları) çıxarır.

Bölüşdürücü xromatoqrafiya – qarışığın tərkibində olan müxtəlif komponentlərin bir-birindən fərqli olan 2 həlledicidə müxtəlif sürətlə həll ol-masına əsaslanan üsuldur. Adsorbsion xromatoqrafiyadan fərqli olaraq, bölüş-dürücü xromatoqrafiyada bərk maddələr stasionar maye mühit üçün yalnız istinadgah funksiyası daşıyır. Bölüşdürücü xromatoqrafiya zamanı məsamələriolan bərk maddələrdən istifadə edilir. Məsələn, şüşə borucuğa nəm nişasta və ya silikagel doldurulur; maddə qarışığı müvafiq həlledicidə məhlul halına salınır və şüşə boruya (sütuncuğa) daxil edilir; üzvi həlledicidə həll olmuş qarışıqdan ibarət olan mütəhərrik mühit hərəkətsiz stasionar mühiti təşkil edən su təbəqəsindən keçirildikdə qarışığın müxtəlif komponentləri şüşə borunun dibinə doğru müxtəlif sürətlə hərəkət edir. Bundan sonra sütuncuğun müxtəlif səviyyələrində yerləşən ayrı-ayrı fraksiyaları müvafiq həlledici vasitəsilə ayırıb, təmiz halda əldə edirlər.

Bölüşdürücü xromatoqrafiyanın geniş istifadə edilən variantlarından biri – kağız üzərində aparılan xromatoqrafiyadır. Bu üsuldan biokimyəvi və klinik laboratoriyalarda peptidləri, aminturşuları və b. üzvi maddələri ayırmaq üçün istifadə edilir. Kağız üzərində aparılan xromatoqrafiya zamanı qeyri-mütəhər-rik mühit funksiyasını filtr kağızına hopdurulmuş su təşkil edir. Qarışığı kağız lövhəciyin bir kənarına töküb, həmin kənarı tədqiqatın məqsədinə müvafiq gələn üzvi həlledici ilə isladırlar. Aminturşularla aparılan tədqiqat zamanı butil spirti, sirkə turşusu və suyun müəyyən nisbətli qarışığından həlledici kimi istifadə etmək olar. Həlledici məhlul kağız üzərində hərəkət etdikcə, qarışığın müxtəlif komponentləri filtrin məsamələrinə toplanır. Bundan sonra, xroma-toqramı xüsusi boyaq maddələri vasitəsilə boyayır, gözlə görünə bilən zolaq-ların hər birində hansı maddənin toplandığını isə fiziki-kimyəvi analiz üsulları vasitəsilə müəyyənləşdirirlər. Aminturşuları xromatoqrafiya kağızı üzərində müşahidə etmək üçün ninhidrin məhlulundan istifadə edilir. Bu məhlul kağızın aminturşu toplanan sahələrini göyümtül rəngə boyayır.

4. Çökdürücü xromatoqrafiya – məhlulda olan maddələrin kimyəvi təsir vasitəsilə zəif həll olan birləşmələrə çevrilməsinə əsaslanır. Xromatoqrafiyanın bu üsulundan vəsfi və miqdari analiz, qarışıqların tərkibində olan maddələri bir-birindən ayırmaq və məhlulda olan maddələrin qatılığını artırmaq məq-sədilə istifadə edilir. Bu üsulla aparılan xromatoqrafiya zamanı maddələr ardıcıl olaraq, bir neçə dəfə çökdürülüb yenidən həll edilir və əmələ gələn çöküntülərdə olan maddələrin yenidən həllolma qabiliyyətlərindəki fərqlərdən onları bir-birindən ayırmaq məqsədilə istifadə edilir. Çökdürülmə xromoto-qramlarını sütuncuq (silindr), filtr kağızı və nazik təbəqə üzərində almaq müm-kündür. Bu məqsədlə istifadə edilən sütuncuqlarda daşıyıcıdan əlavə, çökdü-rücü maddələr də olmalıdır. Belə sütuncuqları hazırlamaq üçün ovulub xırda-lanmış daşıyıcı maddəyə çökdürücü maddənin məhlulu hopdurulur. Daşıyıcı maddə kimi, çökdürücü maddə ilə və qarışıqla kimyəvi reaksiyaya girə bilmə-yən, filtrasiyaedici xassəsi yüksək olan maddələrdən istifadə edilir. Bu məq-sədlə həm silikagel və alüminium oksidi kimi yüksəkdispersli maddələrdən, həm də barium-sulfat kimi kobud dispersli birləşmələrdən istifadə edilə bilər. Kağız üzərində çökdürücü xromatoqrafiya aparıldıqda xromatoqrafiya kağızı daşıyıcı funksiyasını yerinə yetirir.

5. Affin xromatoqrafiya (maddələrin kimyəvi struktur cəhətdən oxşarlığına əsaslanan xromatoqrafiya üsulu). Bu xromatoqrafiya üsulunda zülalların və ya digər irimolekullu maddələrin onlarla spesifik surətdə birləşmə qabiliyyətinə malik olan maddələrlə (liqandlarla) reaksiyalarından istifadə edilir. Birləşdirici maddənin növü elyuasiya (qarışıqdan ayrılma) edilməsi nəzərdə tutulmuş zülalın xassələrindən asılı olaraq seçilir. Məsələn, ferment xassəli zülalların substrat və ya kofermentlə, anticisimciklərin spesifik antigenlərlə, hormonların reseptorlarla birləşmə qabiliyyətindən istifadə edilə bilər. Bu məqsədlə spesifik liqandlar qeyri-mütəhərrik mühiti təşkil edən daşıyıcılarla birləşdirilir, yəni on-ların immobilizasiya edilmiş formaları yaradılır. İmmobilizasiya edilmiş liqan-dın spesifikliyi sayəsində xromatoqrafiya sütuncuğundan keçirilən qarışığın tərkibindəki zülalların yalnız bir növü onunla birləşir. Bundan sonra həmin zülal xüsusi kimyəvi üsullar (müxtəlif pH-a malik bufer məhlulları ilə təsir-etmə, ion rabitələrinin zəiflədilməsi, zülalla liqand arasındakı rabitələrə xüsusi detergentlərlə təsir göstərilməsi) vasitəsilə xromatoqrafiya sütuncuğundan ay-rılır. Bu üsul zülalların yüksək dərəcədə təmizlənmiş şəkildə ayrılmasına imkan verdiyinə görə, digər xromatoqrafiya üsullarından fərqlənir.

6. Oksidləşdirici-reduksiyaedici xromatoqrafiya (oksixromatoqrafiya) – analiz edilən maddə qarışığının tərkibində müxtəlif dərəcədə oksidləşdiricilik və ya reduksiyaedicilik potensialına malik birləşmələr olduqda onların oksid-ləşdirici və ya reduksiyaedici reagentləri olan xromatoqrafik sütuncuqlardan keçirilərkən müxtəlif zonalarda ləngiməsi hadisəsinə əsaslanır. Bu zaman mad-dələr xromatoqrafiya sütuncuqlarından keçərkən öz oksidləşmə-reduksiya po-tensiallarına müvafiq gələn ardıcıllıqla dəyişikliyə uğrayır. Yəni oksidləşdirici sütuncuqda ilk növbədə oksidləşmə-reduksiya potensialı ən aşağı səviyyədə olan maddə, reduksiyaedici sütuncuqda isə – bu xassəsi ən yüksək olan maddə dəyişikliyə uğrayır.

Oksixromaskopiya üsulunun zülalların ayrılması üçün əhəmiyyəti yoxdur; bu üsuldan oksidləşmə və reduksiya reaksiyaları zamanı rəngini dəyişən maddələrin vəsfi analizindən ötrü istifadə edilir.

7. Gel-filtrasion xromatoqrafiya və ya “molekul ələkləri” üsulu müxtəlif maddələri qarışıqlarının tərkibindən molekul kütləsinin böyüklüyünə görə ayırmaq üçün geniş istifadə edilən üsullardın biridir. Bu üsulun inkişafında epixlorhidrinlə dekstranın (polisaxarid) qarşılıqlı təsiri nəticəsində gel əmələ gəldiyinin aşkara çıxarılması böyük əhəmiyyətə malik olmuşdur. Epixlorhid-rinin təsiri nəticəsində dekstran molekullarında əmələ gələn əlavə rabitələr onun hidrofil xassəli dənəciklərə çevrilməsinə səbəb olur. Sefadeks adlanan bu dənəciklər suda həll olmur, lakin su mühitində şiddətli surətdə şişərək, gel əmələ gətirir. Sefadekslə su qarışığını şüşə boruya doldurmaqla, xromato-qrafiya sütuncuğu düzəldirlər. Müəyyən edilmişdir ki, həlledicilərdə həll olmayan sintetik qatran, polisaxaridlər (dekstran, aqaroza) və b. məsaməli materiallar müəyyən mayelərdə dənəciklərdən və mayedən ibarət olan suspenziya halına salındıqda 2 növ həlledici mühit əmələ gəlir; bunlardan biri dənəciklərin daxilində, digəri isə onlardan xaricdə yerləşir; belə suspenziyadan ibarət olan sütuncuqdan (şüşə boruya doldurulmuş suspenziya) müxtəlif molekul kütləsinə və quruluşuna malik olan maddələr qarışığı keçirildikdə, onlar “molekul ələkləri” kimi təsir göstərir, yəni bu zaman xırdamolekullu hissəciklər hər iki mühitdə bərabər paylanır, nisbətən iriölçülü molekullar isə daxili mühitə keçə bilmir. Dənəcikli materialı xüsusi kimyəvi üsullarla işləməklə, elə hala salmaq mümkündür ki, onların məsamələrinə daxil ola bilən maddələrin təxmini molekul kütləsini müəyyənləşdirmək mümkün olsun.

Məsamələrinin ölçüləri (molekul kütləsi) nəzərdə tutulan səviyyədən artıq olan maddələrin daxili mühitə keçməsinə imkan verməyən daşıyıcıdan ibarət olan xromatoqrafiya sütuncuğundan müxtəlif maddələr qarışığı keçirildikdə nəzərdə tutulan ölçülərdən kiçik olan molekullar daxili mühitə keçib, iriölçülü molekullardan ayrılır. Bu üsul molekul kütləsinə görə fərqlənən müxtəlif mad-dələri bir-birindən ayırmağa imkan verir. Bu üsul preparativ enzimologiyada geniş surətdə tətbiq edilir.

Qeyd etmək lazımdır ki, çox vaxt bir üsulla tədqiq edildikdə homogen kimi nəzərə çarpan zülal qarışığının qeyri-homogen olduğunu başqa üsullar vasitə-silə müəyyənləşdirmək olur. Məsələn, ultrasentrifuqalaşdırma üsulu ilə tədqi-qat aparıldıqda eyni ölçüyə və formaya malik olan zülallar bir-birindən ayrılmadığı halda, onların elektroforez üsulu ilə analizi zamanı molekullarının ion yüklərinin miqdarına görə bir-birindən fərqlənən müxtəlif zülal növlərindən ibarət olduğunu sübut etmək olar. Buna görə, hər bir maddənin kimyəvi cəhətdən təmiz olduğunu sübut etmək üçün onun molekullarının müxtəlif xassələrini (yəni ölçülərini, ion yükünü, həllolma qabiliyyətini və s.) xarak-terizə edən analiz üsullarından kompleks şəkildə istifadə etmək lazımdır. Bun-larla birlikdə, zülalların homogenliyini aydınlaşdırmaq üçün onların bioloji xassələri də tədqiq edilməlidir. Zülalların spesifik funksional xassələrinə (fermentativ və hormonal aktivlik, antigen xassəsi və s.) əsaslanan tədqiqat üsulları çox vaxt dəqiqliyinə görə adi fiziki-kimyəvi üsullardan daha böyük əhəmiyyətə malik olur. Əgər zülal preparatı müxtəlif kimyəvi reaksiyalara katalitik təsir göstərirsə, bu təsir yalnız bir növ zülalın funksiyası ilə əlaqədar olduqda, əlavə təmizləmə metodlarının təsiri nəticəsində dəyişmir. Məsələn, tutaq ki, fermentativ aktivliyə malik olan zülal preparatı müəyyən bir maddəni onunla oxşar olan digər maddəyə nisbətən 10 dəfə artıq sürətlə dəyişikliyə uğradır. Ferment preparatını təkrarən təmizlədikdən sonra həmin maddələrə göstərilən təsirin sürətləri arasındakı nisbətin kəskin dərəcədə dəyişməsi müşahidə edilən katalitik prosesin müxtəlif növ zülalların fermentativ funksiyaları ilə əlaqədar olduğunu göstərir.

Hər hansı bir zülalı yuxarıda göstərilən üsulların dəfələrlə tətbiq edilməsi yolu ilə digər qarışıqlardan ayırdıqdan və təmizlədikdən sonra onun homo-genliyinə (yəni tam təmiz şəkildə alındığına) əmin olmaq üçün müəyyən yox-lama tədbirləri keçirilməlidir. Bu məqsədlə zülalın homogenliyinin müxtəlif meyarlarından istifadə edilir. Aydındır ki, xırdamolekullu maddələrin kimyəvi təmizliyinin meyarlarını zülallara və eləcə də, digər irimolekullu maddələrə (nuklein turşuları, polisaxaridlər) tətbiq etmək olmaz. Belə hallarda molekulun tərkibinə daxil olan elementlərin nisbətini müəyyənləşdirməklə, heç bir nəticə əldə etmək olmur. Çünki makromolekulların tərkibində atomların sayı hədsiz dərəcədə çox olur və onların nisbi miqdarı molekulun strukturu haqqında heç bir məlumat vermir. Makromolekulların kristallaşma qabiliyyətinin zəif olması və əksər hallarda fiziki-kimyəvi xassələrinə görə oxşar olan makromolekulların qarışıq şəkildə kristallaşması bu üsulun da (kristallaşdırma üsulu) əhəmiyyətini azaldır.

Beləliklə, irimolekullu maddələrin (o cümlədən zülalların) təmizlik dərəcə-sini tam dəqiqliklə müəyyənləşdirməyə imkan verən spesifik üsul yoxdur. Bu məqsədlə məhlulda olan qarışıqları aşkara çıxarmağa imkan verən müxtəlif üsulların kombinasiyasından istifadə edilir. Belə hesab edilir ki, əgər həyata keçirilməsi mümkün olan üsullardan heç biri zülalın homogen olmadığını gös-tərmirsə, onu tam təmizlənmiş hesab etmək olar. Tədqiq edilən zülalda olan qarışıqları müşahidə etmək üçün çoxpilləli analiz üsullarından istifadə edilir.

Tədqiq edilən zülalın homogenliyini molekul kütləsinin göstəricilərinə gö-rə müəyyənləşdirmək üçün ultrasentrifuqalaşdırma və ya gel-filtrasiya üsulla-rından istifadə etmək olar.

Zülal məhlulunda digər qarışıqların olduğunu iondəyişdirici xromato-qrafiya üsulu ilə də müəyyənləşdirmək mümkündür. Qeyri-polyar mühitdə aparılan bölüşdürücü xromatoqrafiya üsulu isə zülalların əksəriyyətinin tədqiqi üçün tətbiq edilmir. Çünki zülalların çox hissəsi qeyri-polyar həlledicilərdə pis həll olur və asanlıqla denaturasiyaya uğrayır. Molekul zəncirinə 40-50 amin-turşu qalığı daxil olan polipeptidlərin kimyəvi cəhətdən təmiz olduğunu kağız üzərində aparılan xromatoqrafiya vasitəsilə də müəyyənləşdirmək mümkündür.