

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O‘RTA
MAXSUS TA’LIM VAZIRLIGI**

**ALISHER NAVOIY NOMIDAGI SAMARQAND
DAVLAT UNIVERSITETI**

**TABIIY FANLAR FAKULTETI BIOLOGIYA BO‘LIMI
FIZIOLOGIYA, GENETIKA VA BIOKIMYO KAFEDRASI**

5a140104-biotexnologiya magistratura mutaxassisligi

**“BIOLOGIK FAOL VA DORIVOR MODDALAR
BIOTEXNOLOGIYASI” fanidan**

KURS ISHI

**Mavzu: FERMENTLARNI MIKROBIOLOGIK SINTEZ YO‘LI BILAN
AJRATIB OLISH**

Bajardi:	M.Djavatova
Tekshirdi:	ass. B.S.Aliqulov

SAMARQAND – 2014

REJA:

1. Fermentlarning umumiy tavsifi
2. Sanoat miqyosida ishlab chiqariladigan fermentlar
3. Ferment produsentlarini o`stirish

1. Fermentlarning umumiy tavsifi

Organizmida kechadigan hamma hayotiy jarayonlarning moddiy asosini minglab fermentlar yoki enzimlar tomonidan katalizlanadigan kimyoviy reaksiyalar tashkil qiladi. Fermentlar hozirgi kunda fanning rivojlanishida muhim ahamiyatga ega bo'lgan makromolekulalar sifatida ma'lum bo'lib bormoqda. Toza holda ajratib olingan fermentlardan foydalangan holda murakkab birikmalarning, jumladan organizmning tarkibida uchraydigan ba'zi oqsillar va nuklein kislotalarning strukturalarini aniqlashga erishildi.

Fermentlarning amaliy ahamiyati ham kattadir. Vino ishlab chiqarish, non pishirish, pishloq, spirt, choy, aminokislotalar, vitaminlar, antibiotiklarni sanoat miqyosida ishlab chiqarish fermentativ jarayonlardan samarali foydalanishga asoslangan. Tibbiyot va qishloq xo'jaligida qo'llaniladigan-dorivor moddalar, o'simliklarning o'sish stimulyatorlari va boshqa fiziologik faol moddalarning ta'sir etishi u yoki bu fermentlarning faollashuvi yoki ingibirlanishi bilan bog'liqdir.

Fermentlar katalizlaydigan reaksiyalarini e'tiborga olgan holda 6 ta sinfga bo'linadi:

1. **Oksireduktazalar.** Bu sinfga oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar kiradi. Ularga yaqqol misol sifatida degidrogenazalar-vodorod atomini ko'chiruvchi fermentlarni keltirib o'tish mumkin.

2. **Transferazalar.** Bu sinf vakillari alohida funksional guruhlarini molekulalararo ko'chirish reaksiyalarini katalizlaydi. Masalan, metil guruhni-metiltransferaza, amino guruhni-aminotransferaza, karboksil guruhni-karboksitransferazalar ko'chirish reaksiyalarini katalizlaydi.

3. **Gidrolazalar.** Bu sinfga mansub fermentlar molekular ichidagi bog'larni suv ishtirokida gidrolizlaydi. Ular jumlasiga fermentlarning katta guruhi, jumladan oshqozon-ichak traktining fermentlari: esteraza, fosfataza, peptidaza va boshqalar kiradi.

4. **Li azalar.** Bu sinf vakillari nogidrolitik yo'l bilan qo'sh bog` hosil bo'lish reaksiyalarini katalizlaydi. Bularga yaqqol misol sifatida dekarboksilaza va boshqalarni keltirish mumkin.

5. **Izomerazalar.** Bu fermentlar substratlarni o'zaro almashinuvini katalizlaydi. Masalan L-izomeri D-izomerga, glyukozani fruktozaga aylanishini katalizlaydi.

6. **Ligazalar** yoki sintetazalar. Bu fermentlar xilma xil sintezlanish reaksiyalarini katalizlaydi va bu reaksiyani makroergik birikmalar energiyasi evaziga amalga oshiradi.

2. Sanoat miqyosida ishlab chiqariladigan fermentlar

Dastlab sanoat miqyosida mikroba fermentlaridan foydalanish 90 yildan oldinroq yo'lga qo'yilgan edi. Amaliyotda foydalaniladigan ko'p fermentlar gidrolazalar sinfiga mansub, chunki ularni sanoat biotexnologiyasi yo'li bilan ajratib olish yo'lga qo'yilgan. Umumiy ishlab chiqariladigan va amaliyotda foydalaniladigan fermentlarning 99 % ulushi 16 ta preparat hisobiga to'g'ri keladi. Ulardan ba'zilarini ko'rib chiqamiz.

Amilolitik fermentlar jumlasiga alfa-amilaza, beta-amilaza, glikoamilazalar kiradi. Ularning ta'siri kraxmal va glikogenni gidrolizida namoyon bo'ladi. Kraxmal

oldin ancha oddiy polisaharidlar-dekstrinlargacha, keyin esa maltoza va glyukozagacha parchalanadi. Alfa-amilaza alfa-1,4-glyukan bog'lanishni gidrolizlasa, beta-amilaza molekulaning oxiridan birin-ketin maltoza molekularini uzib oladi. Glyukoamilaza esa molekulaning oxiridan glyukoza molekularini uzib olib parchalaydi. Bu fermentlar spirt va non ishlab chiqarish sanoatida keng foydalaniladi. Proteolitik fermentlar ham gidrolazalarga kirib, peptidgidrolazalarning kenja sinfini hosil qiladi. Ularning ta'siri oqsil va peptidlardagi peptid bog'larini gidrolizini katalizlashda namoyon bo'ladi. Ularning o'ziga xos xususiyati oqsil molekulasidagi peptid bog'larga tanlab ta'sir etishlan iboratdir. Masalan, pepsin faqat aromatik aminokislotalar o'rtasidagi, tripsin esa faqat arginin va lizinlar o'rtasidagi peptid bog'larga ta'sir etadi. Bu sinfga mansub bo'lgan fermentlar juda ko'p. Sanoatda ularni qaysi vodorod ioni ko'rsatkichlarida faollikni namoyon qilishiga qarab: nordon proteazalar (pH 1,5-3,7); neytral proteazalar (pH 6,5-7,5); ishqoriy proteazalar (PH>8.0) ga tasniflanadi. Proteazalardan-go'shni yumshatishda, terini oshlash va boshqa xil ishlovlar berishda, kinoplyonkalar ishlab chiqarishda, parfyumeriyada, sintetik yuvuvchi preparatlar tayyorlashda, tibbiyot va veterinariyada juda keng foydalaniladi.

Pektolitik fermentlar o'zlarining ta'sir doiralarini tashqi ko'rinish nuqtai nazardan namoyon qilishlari, ya'ni reaksiya natijasida ular ta'sir etadigan polisaharidlarning vakillari-pektin moddalar (pektin, pektin kislotalar va protopektin) ning molekulyar massalari va qayishqoqliklarini kamayishiga qarab bitta alohida guruhga birlashtirilgan. Ular mevalar, ildizmevalar, navdalar (zig'ir) tarkibida bo'ladi. Pektin moddalarning molekulyar massalari 20000 Da dan 200000 Da gacha bo'ladi. Hamma pektinazalar ikki xilga bo'linadi-gidrolazalar va transeliminazalar. Ularning birinchilari metil qoldiqlarni uzadi yoki alfa-1,4-glyukozid (poligalakturinazalar) bog'larni parchalaydi. Ikkinchilari pektin moddalarini nogidrolitik yo'l bilan parchalab qo'sh bog'larni hosil qiladi. Ular to'qimachilik sanoatida zig'irga ishlov berishdan oldin - ho'llash, vino tayyorlashda-vinoni quyqalarini yo'qotish, meva shiralarini tayyorlashda konservalash uchun foydalaniladi. Sellyulolitik fermentlar o'ta maxsus, bo'lib ularning ta'siri sellyuloza molekularini qutbsizlanganida namoyon bo'ladi; ular kompleks holda ta'sir etib sellyuloza gidrolizini glyukoza hosil bo'lishi darajasigacha yetkazadi. Ulardan foydalanishning istiqbollari katta - bu sellyulozadan glyukoza ajratib olish; tibbiyotda o'simliklardan dorivor moddalar (steroidlar) ni ajratib olish; oziq-ovqat sanoatida-o'simlik yog'larini sifatini yaxshilash; qishloq xo'jaligida kavshovchi hayvonlarning omuxta yemiga qo'shib berishda foydalaniladi.

3. Ferment produsentlarini o'stirish

Ko'p mikroorganizmlar nisbatan oddiy va arzon oziqa muhitida o'sish qobiliyatiga ega. Mikroorganizmlarning fermentlarni biosintezlash qobiliyatlarini oshirish yo'lida seleksiya olib borish yo'li bilan mahsuldor mutantlarni ajratib olish imkoniyatlari bor. O'sayotgan produsentga ta'sir ko'rsatib fermentlar biosintezini texnologik uslublar yordamida boshqarish mumkin. Hujayralar tomonidan sintezlanadigan fermentlarning tarkibi va miqdori muayyan organizmning irsiy xususiyatlariga bog'liq, har bir hosil bo'ladigan oqsilning tuzilmasi tegishli gen

tomonidan belgilangan bo'ladi. Shu bilan birga gen irsiyat birligi sifatida tashqi muhit ta'sirida, shuningdek sun'iy tavsifli yo'naltirilgan mutatsiyalarni keltirib chiqarish yo'li bilan bo'linishi va parchalanishi orqali o'zgarishlarga duch kelishi mumkin. Sanoat miqyosida ahamiyatli bo'lgan mutantlarni ajratib olishda bu ishni ionlangan va ionlanmagan nurlanishlar, izotoplar, aktinofaglar, antibiotiklar, hujayraning irsiy elementlarini kuchli ravishda o'zgartiruvchi kimyoviy moddalar kabi mutagen omillardan foydalangan holda seleksiya yo'li bilan amalga oshiriladi. Mikroob tomonidan fermentlarni biosintezini amalga oshirilishida genetik omil va muhitda karbon, azot, fosfor va boshqa elementlarning bo'lishi shartligidan tashqari muayyan fermentni yoki fermentlar guruhini sintezida muhim rol o'ynovchi induktor yoki repressorlarning bo'lishi ham talab qilinadi. Bu hodisaning mexanizmi hali to'liq o'rganilmagan bo'lsada, biotexnologlar tomonidan u maksimal ravishda hisobga olinishi lozim. Bu sohada ortdirilgan tajribaga asosan ko'p misollarni keltirib o'tish mumkin. Lipaza fermenti deyarli *Asp. awamori* tomonidan muhitda induktorsiz sintezlanmaydi, muhitga kashalot yog'ini kiritish bu fermentning biosintezini yuzlab martaga oshiradi. Zamburug'ning xuddi shu turi muhitga kraxmal kiritib, mineral fosfordan xolis qilganda jadal ravishda boshqa ferment-fosfatazani sintezlaydi. Fermentning ko'p miqdorda hosil bo'lishi faqat induktorgagina emas, balki optimal oziqa muhitini tanlash va jarayonni optimal sharoitda olib borishga ham bog'liq bo'ladi. Bu omillarni ahamiyatini namoyish qilish uchun *Asp. oryzae* tomonidan kraxmalning-induktorligida alfa-amilaza biosintezini amalga oshirishini misol qilib keltirish mumkin. Quyida alfa-amilazaning biosinteziga oziqa muhitining tarkibini ta'siriga oid ma'lumotlar keltirilgan:

Oziqa muhitiga qo'shilgan qo'shimcha

Ferment faolligi, E/100ml hisobida

3 % Saxaroza va 0,05 % Natriy nitrat.....	20
6 % Kraxmal va 0,15 % Natriy nitrat.....	60
10ml bug'doy maysasi ekstrakti	250-300
40ml bug'doy maysasi ekstrakti	500-560
Muhitning asosiy komponentlarini 1,5 martaga oshirganda.....	1000-1100

Mikrobn o'sishi va fermentni sintezlanishini jadallashtirish uchun oziqa muhitiga qo'shimcha ravishda tarkibida o'sish omili bo'lgan damlama yoki ekstrakt qo'shiladi. Eng avvalo ular jumlasiga aminokislotalar kiradi. Ular hujayra ichiga osongina kiradi va fermentni sintezlanishiga ta'sir ko'rsatadi. Shuningdek o'sish omillari jumlasiga purin asoslari va ularning hosilalari, RNK va uning parchalanish mahsulotlari ham kiradi. Produsentni chuqur uslubda o'stirganda, yumshoq va namlangan oziqa muhitini yuza qismida o'stirgandagiga qaraganda ajratib olinadigan fermentning konsentratsiyasi ancha past bo'ladi.

Fermentlar produsentlarini chuqur uslubda o'stirish. Produsentni chuqur uslubda o'stirish mikroorganizmlarni suyuq oziqa muhitida o'stirishni hisobga oladi. Bu uslub oziqa muhitini yuza qismida o'stirishga nisbatan ancha mukammal ishlab chiqilgan, hamda ko'proq mexanizatsiyalashtirilgan va avtomatlashtirilgan. Bunda

butun jarayon aseptik sharoitda o'tkazilishi lozim. Chuqur uslubda o'stirish sharoitida suv muhiti ekstraktining yuza qismida o'stirishdagiga nisbatan fermentning konsentratsiyasi ancha past bo'ladi. O'stirish suyuqligining filtratini 3 % dan kam qismi quruq modda hisoblanadi. Bu narsa fermentni ajratib olishdan oldin filtratni konsentrlashni talab qiladi.

Ekish materialini olish. Ekish materiali ham chuqur o'stirish uslubida tayyorlanadi. Ekish materialining ko'rinishi produsentning xiliga bog'liq: zamburug'lar aktinomitsetlar uchun mitselial vegetativ massa bo'lsa, bakteriyalar uchun spora hosil qilish bosqichidagi yosh hujayra hisoblanadi. Ekish materialini olishda produsent massasini asta-sekin bosqichma-bosqich oshirib borish hisobga olinadi. Masalan, bu jarayon sanoat miqyosida katta hajmda tayyorlash uchun mo'ljallanganda to'rt bosqichni, ya'ni:

produsentni dastlabki materiali → kolbada o'stiriladigan ilk material → inokulyatorda o'stirilgan ekish materiali → ekish apparatida o'stirilgan materiallarni ajratib olishni hisobga oladi. Ekish materialining hajmi produsentning fiziologik xususiyatlariga bog'liq bo'ladi. Bu narsa produsent faqat vegetativ ko'payadigan bo'lsa, 5-20 % gacha oshishi, uning kuchli ravishda spora hosil qilishi yuz beradigan bo'lsa, unda 1 % gacha pasayishi mumkin. Ekish materialining hajmi sanoat ishlab chiqarishi fermentyorini 10 % gacha hajmini tashkil qilishi mumkin.

Oziqa muhitini tayyorlash. Oziqa muhiti tayyorlanadigan maydon boshqa ishlab chiqarish binolaridan izolyatsiyalanadi, chunki asosiy ishlab chiqarish tizimiga mikroorganizmlar bilan ifloslangan xom-ashyoni kirib qolishini oldi olinishi lozim. Ishlab chiqarish keng ko'lamli bo'lgan xollarda oziqa muhiti alohida binolarda tayyorlanadi. Oziqa muhitini tayyorlash har xil bo'lib, u komponentlarning tarkibiga bog'liqdir. Ba'zilar dastlabki ishlov berishni: maydalash, pishirish, ekstraksiyalash, gidrolitik parchalashlarni talab qiladi. Keyin eritish uchun tayyorlangan komponentlar dozalab o'tkazadigan moslama yordamida doimo aralashtirilgan holda oziqa muhitini hajmga ko'chiriladi, bunda komponentlar alohida-alohida kiritiladi. Suyuq oqimlarni uzatilishi nasoslar yordamida, o'z oqimi bilan yoki issiq havo oqimi bilan amalga oshiriladi.

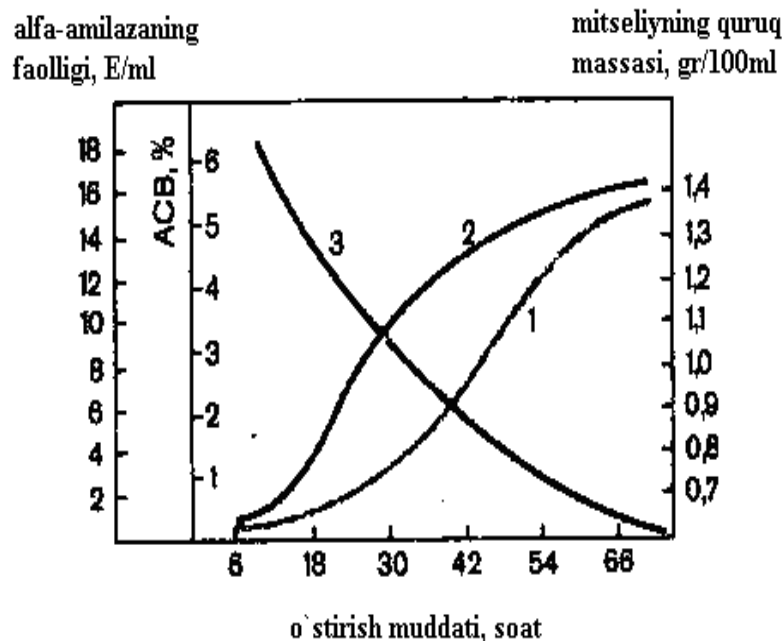
Oziqa muhitini sterilizatsiyasi. Bu jarayon eng muhim tayyorgarlik operatsiyalaridan biri hisoblanib, ikki xil uslubda-mikroorganizmlarni muhitdan ajratish yoki ularni muhitdan yo'qotish asosida amalga oshiriladi. Birinchi uslub istiqbolli hisoblanadi, chunki mikroorganizmlarni nobud qilishga qaratilgan «nobud qilish omili» oziqa muhiti komponentlariga ham ta'sir etadi. Bu uslubni mikrofiltratsiya jarayonida yarim o'tkazgichli membranalardan foydalanish orqali amalga oshirsa bo'ladi.

Sanoat ishlab chiqarishida foydalaniladigan ikkinchi sterilizatsiya uslubi hamma vaqt yuqori temperaturada amalga oshiriladi. Mikroorganizmlarni nobud bo'lishi ma'lum muddatda bo'lib o'tadi, bunda «nobud qiluvchi omil» qancha jadal ta'sir etsa, ya'ni harorat yuqori bo'lsa, bu muddat shuncha qisqa bo'ladi. Oziqa muhitini sterilizatsiyasi vaqti-vaqti bilan yoki uzluksiz o'tkazilishi mumkin. Birinchi holatda jarayonni fermentyorga oziqa muhitini solib sterilizatsiya haroratigacha qizdiriladi va shu haroratda ma'lum muddat ushlab turiladi va so'ng sovitiladi. Ikkinchi uslubdan foydalanilganda apparatlar va kommunikatsiyalar bug' oqimida

oldindan sterilizatsiyalanadi, keyin fermentyorga 120-140 °C li qizdirg'ich kolonkadan o'tkaziladi, u yerda tegishli muddatda ushlab turilib, so'ng o'stirish harorati darajasigacha sovitilgach oziqa muhiti kiritiladi. Muhitda alohida holatda ko'pik so'ndirgich, boshqa eritmalar sterilizatsiyalanadi. Bu jarayonda ishtirok etadigan ammiakli suvni sterilizatsiyalash alohida muammo hisoblanadi, chunki uni qizdirib bo'lmaydi.

Aeratsiyadan oldin va keyin havoni tozalash. Atmosfera havosi tarkibida organik va anorganik tabiatli changlar, suv bug'lari va 1 m³ havoda 10 mlrd gacha mikroorganizmlar bo'ladi. Uni sterilligi katta hajmdagi tolali filtrlardan foydalanish orqali ta'minlanadi. Ferment preparatlarini ajratib olishda tozalash ikki bosqichdastlab alohida olingan bosh filtr orqali, keyin fermentyorlarga havo kiritishdan oldin o'rnatilgan filtr orqali amalga oshiriladi. Jarayonning nihoyasida, ya'ni aeratsiyani oxirida fermentyordan chiqariladigan gaz oqimi tarkibida produsentning hujayralari bo'ladi. Atrof-muhitni ular bilan zararlantirmaslik uchun havo oqimi yo'lga filtr yoki filtrlar tizimini o'rnatish lozim bo'ladi. Bunda ishlab chiqarish tizimidan chiqarilayotgan havo sanitariya-gigiena me'yorlariga to'liq javob berishi kerak.

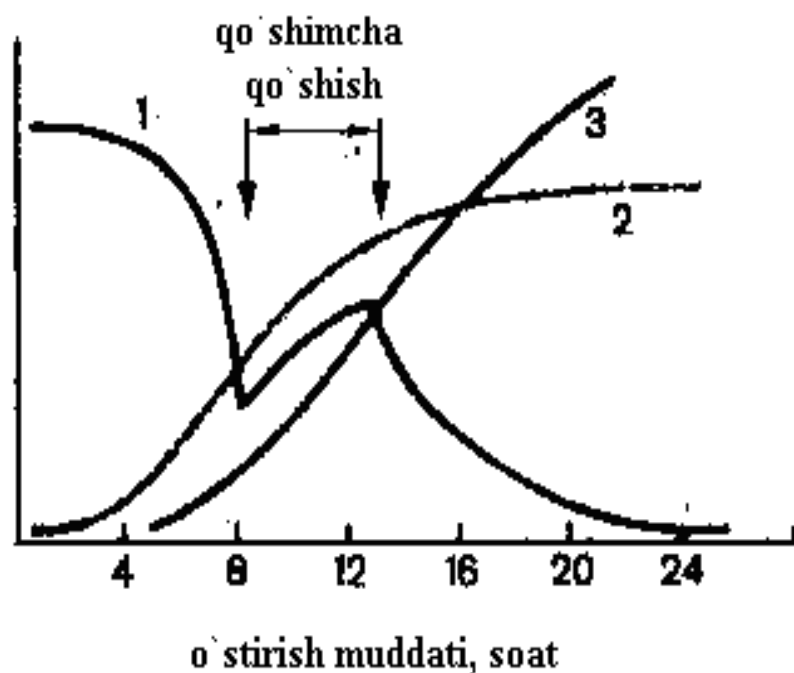
Produsentni sanoat miqyosida o'stirish. Ma'lum suyuqlik hajmida produsentni o'stirishda ikkita jarayon-mikroorganizm massasini oshishi va muhitda yoki mikrob hujayrasida fermentning yig'ilishi yuz beradi. Produsentni chuqur o'stirishda fermentlar biosintezi oziqa muhitiga doimo havo kiritish va aralashtirib turish sharoitida 2-4 kunda amalga oshiriladi. Produsent *Asp. oryzaeni* o'sishi jarayonida yuz beradigan o'zgarishlar 1-Rasmda keltirilgan:



1-Rasm. *Asp. oryzae* ni chuqur o'stirish jarayonida mitselliyni o'sishi, alfa amilazani hosil bo'lishi va muhitning quruq massasini o'zlashtirilishi (I.M.Gracheva bo'yicha)

Bunda: 1- alfa-amilaza; 2-mitseliy; 3-quruq modda.

Ko'p fermentlar ekstrasellyulyar mahsulotlar hisoblanadi va produsent hujayrasini o'rab turgan suyuqlik muhitiga chiqadi, odatda uch kunlik o'stirishdan keyin mitseliy ichida 10-15 % dan ko'p bo'lmagan miqdordagi ferment qoladi. Bunday paytda ferment preparatini biomassa ajratilgandan keyin filtratdan ajratib olinadi. Ba'zan fermentlar hujayra organellalari bilan birikkan bo'lib tashqi muhitga ajralib chiqmaydi, bunda hujayralardan ajratish uchun ularni shikastlash va tegishli tarzda ishlov berish talab qilinadi. Dastlabki bosqichda oziqa moddalarini konsentratsiyasini yuqori bo'lishi produsent biomassasini o'sishini bo'g'ib qo'yadi. Shu sababli uzluksiz ravishda oziqa muhiti yoki uning komponentlari fermentyorga asta-sekinlik bilan produsentning o'sish bosqichini hisobga olish asosida peshma-pesh kiritib boriladi. Buni *Bac. subtilis*-402 beta-glyukanaza fermentini biosintezi misolida namoyish qilish mumkin (2-Rasm):



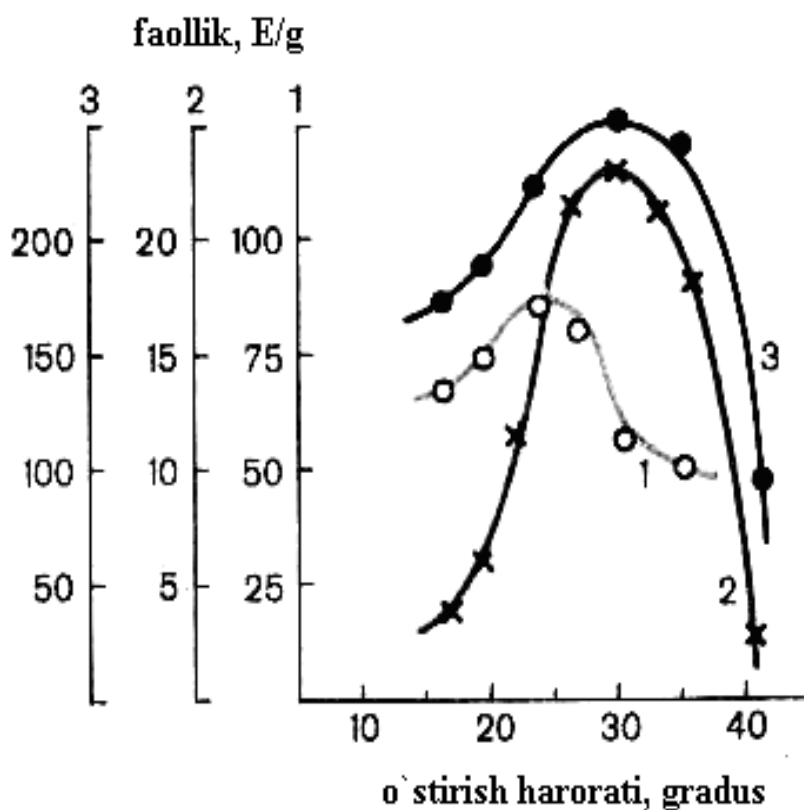
2-Rasm. *B. subtilis*-402 ni o'stirganda biomassani, beta glyukanazani va muhitda erigan modda sarfining o'sishi (I.M.Gracheva bo'yicha)

Bunda: 1-Muhitda erigan modda; 2-biomassa; 3-ferment faolligi (nisbiy birlikda).

Birinchi bosqichda $t=40^{\circ}\text{C}$ bo'lganda yengil o'zlashtiriladigan komponentlar o'zlashtiriladi, biomassa shiddatli ravishda oshadi (8-soat o'tgandan keyin 10 g/l ga yetadi). Keyin qo'shimcha ravishda muhitga erigan modda kiritiladi. Chuqur o'stirishda vodorod ioni konsentratsiyasi asosiy ko'rsatkichlardan biri hisoblanadi va u produsentni o'sishida o'zgarishlarga duch keladi. O'suvchi produsentni muhitini nordonligi mineral moddalarning tarkibi va xossalariga bog'liq bo'ladi. Hujayralar tomonidan ammoniy ionlarining o'zlashtirilishi anionlarning ajralishini keltirib chiqaradi va bunda muhit nordonlashadi. Agar NO_3^- anioni o'zlashtirilsa, unda metal ionlari ajralib chiqib muhitni ishqoriylashtiradi. Fermentlar biosintezi jarayonida vodorod ioni konsentratsiyasini birozgina o'zgarishida qanday o'zgarishlar yuz

berishini *Asp. oryzae* 3-9 15 misolida namoyish qilish mumkin, pH 6,0 bo'lgandayoq ferment faolligi ancha (23 %) ga pasayadi. Agar muhitni yanada nordonlashtirilsa (pH 5,5da), uch kundan keyin fermentning faolligini bor-yo'g'i 40 % saqlanadi. Shu narsa qiziqki, zamburug' tomonidan amalga oshiriladigan alfa-amilazani biosintezi pH (7,5) va uning katalitik faolligi namoyon bo'ladigan pH (4,7-4,9) bir biridan tubdan farq qiladi.

Fermentning yig'ilishi va uning hosil bo'lishi tezligi aeratsiya rejimiga bog'liq bo'ladi. Kislorodni jadal o'zlashtirilishi zamburug'ning yosh paytiga to'g'ri keladi, Shuning uchun bu paytda kuchli ravishda aeratsiyalash va aralashtirish talab qilinadi. Ko'p ferment produsentlari mezofill mikroorganizmlar bo'lib, ularning rivojlanishi uchun optimum harorat 22-32 °C hisoblanadi. Ularning hammasi haroratga nisbatan o'ta sezgirlikni namoyon qiladi va haroratni ozgina ko'tarish ham keskin inaktivatsiyani keltirib chiqaradi. 3-Rasmda produsentlarni har xil harorat chegarasida o'stirganda fermentlar faolligining o'zgarishlariga oid ma'lumotlar keltirilgan.



3-Rasm. Haroratning muhitda ferment yig'ilishiga ta'siri (I.M.Gracheva bo'yicha).

Bunda: 1- *Asp. flavus* 716 proteinazasi; 2 va 3- *Asp. awanori* 22 amilazasi.

O'stirish jarayonida uch fazali: suyuq, shartli qattiq (hujayralar) va gaz tizimiga duch kelinadi. Shu sababli bu ishlarni amalga oshirish uchun maxsus qurilmalardan foydalanish zarurati bor. Fermentyor qurilmaga qo'yiladigan asosiy talab jarayonning hamma parametrlarini nazorati va ularni optimal darajada tutib turilishini avtomatik

ravishda amalga oshirishga qaratilishi lozim. Zamonaviy texnologik jarayonlar muhit tarkibidagi karbonsuvlar, hosil bo'lgan metabolitlar va hujayralar konsentratsiyasini avtomatik ravishda nazorat qilishni hisobga oladi.

Fermentlar produsentlarini muhitning yuza qismida o'stirish. Yuza qismida o'stirish uslubida produsentni o'stirish produsentni qattiq namlangan oziqa muhiti yuzasida amalga oshiriladi. Bunda mitselliy qattiq zarrachalarni to'liq o'rab oladi va ular bilan barqaror birikkan bo'ladi hamda produsent nafas olish uchun havo kislorodidan foydalanganligi sababli oziqa muhiti yupqa va yumshoq bo'lishi talab qilinadi. Bu narsa o'z navbatida yumshoq muhitni havo bilan kontaktini ta'minlash uchun yuzaning katta bo'lishiga erishishni talab qiladi va bunda mexanizatsiyani qo'llash qiyinlashib, qo'l mehnatini ko'p qo'llanishi lozim bo'ladi hamda shu sababli bu narsa harajatni oshishiga olib keladi. Masalan, ikki kun davomida bug'doy kepagida o'stirib 1 t mog'or zamburug'lari produsentini ishlab chiqarish uchun zavod 1000 dan ziyod kyuvetalarda zamburug'ning konidiyalarini oziqa muhitiga yupqa qilib yoyib chiqish talab qilinadi. Yuqoridagi, sterilizatsiya, kyuvetalarni sex ichi bo'ylab ko'chirish, ularni to'ldirish va bo'shatish ishlari mexanizatsiyadan foydalanishning cheklanganligini hamda muayyan uslubning qiyin ekanligini ko'rsatadi. Sanoat ishlab chiqarishi uchun produsentni o'stirish odatda noaseptik sharoitda olib boriladi, lekin muhitning o'zi va kyuvetalar boshida ishonchli tarzda sterilizatsiyalangan bo'lishi lozim. Yuza qismida o'stirishning ijobiy jihatlari ham bor, ulardan eng muhimi-oziqa muhiti massa birligiga nisbatan ajratib olinadigan ferment konsentratsiyasini foydali chiqimini yuqori bo'lishidir. Masalan, spirt ishlab chiqarishda 100 kg kraxmalni shakarga aylantirish uchun 5 kg mog'or zamburug'i mahsuloti kerak bo'ladi. Bundan tashqari yuza qismi uslubida tayyorlangan materialni tez va nisbatan oson quritish, uni tovar mahsuloti holatiga osongina keltirish va tashish mumkin. Bu uslubning yana bir ijobiy jihati chuqur o'stirish uslubidagiga nisbatan elektroenergiyaning kam sarflanishi hisoblanadi. 10-Rasmda yuza qismida o'stirish uslubining texnologik tamoyili keltirilgan.

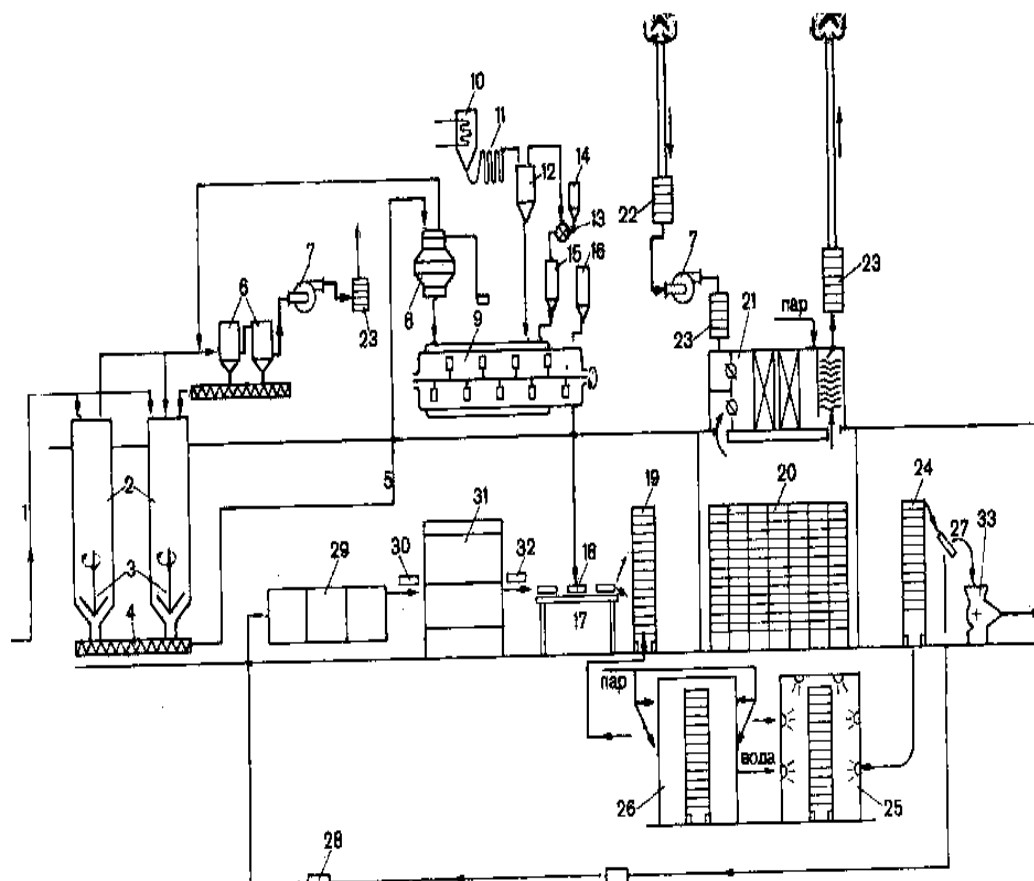
Ekish materiali. Yuza qismida o'stirish uslubini uchun foydalaniladigan material qattiq oziqa muhitida olingan sporali material yoki chuqur o'stirish yo'li bilan tayyorlangan produsentning miselial massasi tarzida bo'lishi mumkin. Ekish materiali mikroorganizmlarni doimo miqdoriy jihatdan osha borishini hisobga olib uch yoki to'rt bosqichda amalga oshiriladi.

Ilk bor agarlashtirilgan qattiq muhitda bo'lgan produsentni 1-1,5 g namlangan kepak solingan probirkaga ko'chiriladi. O'stirishni termostatda kuchli spora hosil bo'lish davrigacha muddatda amalga oshiriladi. Ikkinchi bosqichda produsentni o'sha muhitda, lekin kolbada 100 g steril namlangan bug'doy kepagidan foydalanib o'stiriladi. Uchinchi bosqichda ham xuddi shu yo'sinda ish yuritiladi, lekin bu ishni yanada kattaroq idishda va 500 g oziqa muhitida amalga oshiriladi.

To'rtinchi eng so'nggi bosqichda o'stirishni ekish kyuvetalarida yuqorida keltirilgan texnologik tamoyilga muvofiq tarzda amalga oshiriladi. Ekish materialini namligini 10-12 % gacha quritib, germetik tarzda qadoqlash yo'li bilan uzoqroq muddatda saqlash ham mumkin bo'ladi.

Oziqa muhitini tayyorlash. Har qanday qattiq oziqa va o'sish moddalarini asosi sifatida bug'doy kepagi xizmat qiladi. Namlangan holda bug'doy kepagi muhitning

talab darajasidagi tuzilmasini hosil qiladi. Baʼzi fermentlar faolligini oshirish uchun bugʻdoy kepagiga yana pektin va sellyulozaga boy mahsulot sifatida lavlagi turpi, oqsilni miqdorini oshirish va proteinazani induksiyalash uchun soya shroti, yoki lipazani induksiyalash uchun kraxmal bilan boyitilgan pivo sanoati qoldiqlari qoʻshiladi. Kepak tarkibiga oʻsimlik qoldiqlari-arpa yoki guruch toʻponi, somon, makkajoʻxori soʻtasi va yogʻoch qipigʻini qoʻshish muhit tuzilmasini yaxshilaydi. Bu



4-Rasm. Mikroorganizmlarni yuza qismda oʻstirish uslubining texnologik tamoyili sxemasi (I.M.Gracheva).

Bunda: 1-sepiluvchi komponentlarni pnevmotransporti; 2-bunkerlar; 3-aralashtirgich; 4-shnek; 5-kepak pnevmotransporti; 6-ajralib chiqadigan gazlarni tozalash siklonlari; 7-ventilyator (shamollatkich); 8-kepak dozatori; 9-sepiluvchi komponentlarni sterilizatori; 10-suv stelizatori; 11- issiqlik almashtirgichi; 12-steril suvni oʻlchagichi; 13-dozator; 14-konsentrlangan xlorid kislotali idish; 15-suyultirilgan xlorid kislota oʻlchagichi; 16-ekish suspenziyasini idishi; 17-stol; 18-ichiga oziqa muhiti solinishi lozim boʻlgan kyuveta; 19-kyuvetalarni koʻchirilishini taʼminlaydigan harakatchan etajerka; 20-kyuvetalar yigʻiladigan kamera; 21-kondensiyalar; 22-dastlabki tozalashni amalga oshiruvchi filtr; 23-mikroblifiloslanishni oldini oluvchi filtr; 24-tayyor produsentli etajerka; 25-etajerkalarni yuvish; 26-etajerkalarni sterilizatsiyalash; 27-kyuvetani boʻshatish; 28-ifloslangan kyuveta; 29-kyuvetani yuvish; 30-toza kyuveta; 31-kyuvetani sterilizatsiyalash kamerasi; 32-steril kyuveta; 33-maydalagich.

qo'shimchalar muhitni uncha boyitmasada, havoni produsent tomonidan o'zlashtirilishini yaxshilaydi. Bu holatda muhitga yana qo'shimcha ravishda mineral azot va fosfor, shuningdek organik moddalarga boy mahsulotlar, masalan: kartoshka shirasi bilan ishlov berilgan bug'doy maysalari, makkajo'xori ekstrakti kiritilsa samarasi yanada yaxshiroq bo'ladi.

Oziqa muhitini sterilizatsiyalash va produsentni o'stirish. Oziqa muhitini sterilizatsiyasini maxsus hajmdagi idishlarda yoki sterilizatorning o'zida amalga oshiriladi. Dastlab zarur komponentlar aralashtiriladi, keyin ular namlanadi, sterilizatsiyani yaxshi kechishi uchun xlorid kislota bilan nordonlashtiriladi, azot va fosforning mineral manbalari 60 °C da qo'shiladi va sterilizatsiya uchun yo'naltiriladi. Muhitni sterilizatsiya haroratida ushlab turish vaqti suyuq muhitdagiga nisbatan ko'proq bo'ladi, chunki to'liq qizishga erishish qiyinroq bo'lib, odatda buning uchun 60-90 (105-140°C da) minutni tashkil qiladi. Barcha konstruksiyadagi sterilizatorlarda aralashtiruvchi moslama sifatida-aralashtirgich, shneklar, konveyerlar, belkuraklar, silkigichlar asosiy element vazifasini bajaradi .

Muhitni sterilizatsiyalagandan keyin apparatga salqin havo yuborish yoki sovitqichli moslamaga suv yuborish yo'li bilan sovitiladi. Harorat 38-40 °C ga pasayganda apparatga produsent kiritiladi, bunda ham yaxshilab aralashtiriladi. Produsentni oziqa muhitiga ko'proq miqdorda kiritish o'stirish muddatini qisqartiradi, lekin bunda substratning ma'lum qismi energetik almashinuv uchun sarflanadi, CO₂ va H₂O ning ajralishi kuchayadi, ferment sekinroq sintezlanadi va bunga mos holda so'ngi tayyor mahsulotning miqdori kam bo'ladi. Shu sababli o'sish materialining miqdoriy ko'rsatkichi mumkin qadar oz bo'lishi lozim, odatda u muhit massasini 0,02-0,1 % hisobida bo'ladi.

Sanoat ishlab chiqarishi miqyosida o'stirish. Yuza qismida o'stirish 36-48 soat davomida amalga oshiriladi. O'stirish siklini uch davrga bo'lish mumkin:

- dastlabki 10-12 soat oraligida konidiyalar shishadi va o'sadi; bu davrda harorat 28 °C dan kam bo'lmasligi lozim;

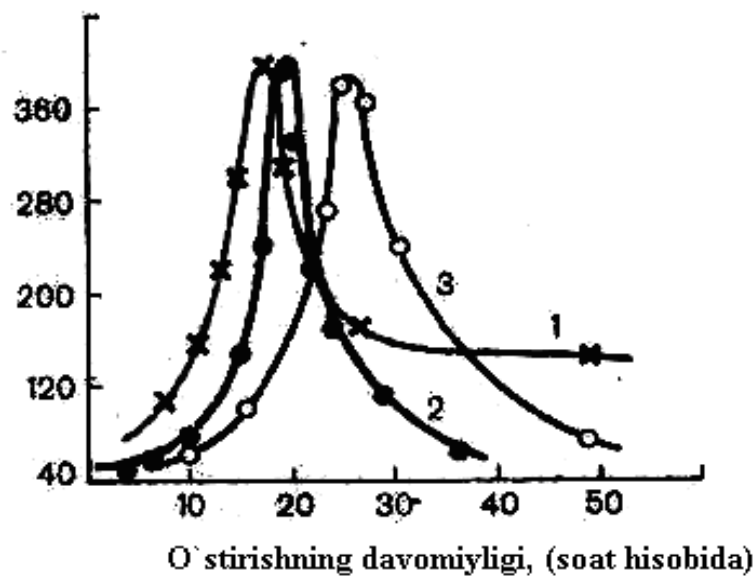
- keyingi 14-18 soat oralig'ida mitselliyning o'sishi kuzatiladi, u kulrang-oqish rangli bo'ladi. Bunda hujayralar asosiy oziqa moddani kuchli ravishda o'zlashtiradi, jadal nafas oladi va ko'p miqdorda issiqlik ajratadi, bu issiqlikni yo'qotish kerak;

- uchinchi davr 12-18 soat oralig'ida davom etadi. Almashinuv jarayonlari susayadi, issiqlik kam ajraladi, lekin fermentlarning sintezlanishi davom etadi, ko'p aspergillarda esa konidiyalarning hosil bo'laboshlashi kuzatiladi.

Yuza qismida o'stirish jarayonining energetikasi. Sintetik va energetik jarayonlar uchun sarflanadigan substrat sarfi tahminan chuqur o'stirishdagi kabi ko'rsatkichga ega, odatda uni iqtisodiy koeffitsiyenti 0,75-0,80 ga teng bo'ladi. Butun sikl davomida ajraladigan issiqlikning umumiy yig'indi miqdori 1 kg oziqa muhiti hisobiga 4000-4200 kDj ni tashkil qiladi va uning eng ko'p miqdori ikkinchi davrning o'rtasiga to'g'ri keladi. Ba'zi produsent zamburug'lar uchun issiqlik ajralish dinamikasi 11- Rasmda keltirilgan.

Gaz almashinuvi dinamikasi. Produsent tomonidan kislorodning qabul qilinishini karbonat angidridning ajralishi orqali nazorat qilsa bo'ladi. Kislorodga nisbatan talabni oshishi ham ikkinchi davrga to'g'ri kelib, issiqlik ajralishi jadalligiga mos bo'ladi.

Issiqlik ajralishi,
kJ/soat



5-Rasm. Mog'or zamburug'larini o'stirish jarayonida solishtirma issiqlik ajralish dinamikasi (I.M.Gracheva bo'yicha).
Bunda: 1-*Asp. niger*; 2- *Asp. oryzae*; 3-*Asp. awamori*.

Oziqa muhitini namligi. Namlik kam bo'lgan sharoitda mikroorganizmlar noqulay sharoitga tushib qoladi va spora hosil qilishga moyil bo'ladi, bunday xususiyatdan ekish materialini ajratib olishda foydalanish yaxshi samara beradi. Fermentlarni ajratib olish maqsadida produsentni o'stirganda namlik 55-70 % bo'lishi optimal hisoblanadi.

Oshiqcha namlik esa muhitning yumshoqligiga putur yetkazadi va havoni kirib kelishini susaytiradi, natijada biosintez ham susayadi. Aerob ferment produsentlari kislorodni konstruktiv almashinuv va ayniqsa energetik almashinuv uchun sarflaydi. O'stirishning ikkinchi davrida produsent o'stirilayotgan kameraning bir hajmiga 60 hajm havo yuborish talab qilinadi va bunda nisbiy namlik 100 % ga yaqinlashuvi lozim. Havo sarfi juda kuchli bo'lganligi sababli uni resirkulyatsiya yo'li bilan takror-takror foydalanishga harakat qilinadi. Sirkulyatsiyalanadigan havo havo sovutqich orqali o'tkazilib undan qayta foydalaniladi, ishlatib bo'lingani esa, filtr yordamida tozalanadi va tashqi muhitga chiqariladi. Yuqorida keltirilgan 10-Rasmdagi texnologiyaga muvofiq produsentni o'stirish kyuvetalarda amalga oshiriladi. Ular rux bilan qoplangan tubi perforatsiyalangan temir idishlardan tayyorlanadi. Ularning kattaligi 600X800X30 mm bo'lib, perforatsiya 2X20 mm li teshiklar tarzida bajarilgan bo'ladi. Ichi to'ldirilgan kyuvetalar etajerkalarga bo'yiga qarab har 10-12 sm oraliqda sal qiya qilib joylashtiriladi. Ko'p yarusli harakatchan etajerkalar (m hisobida) kattaligi 2X10X2 bo'lgan kameralarga joylashtiriladi. Kameralar ikki tomondan germetik eshigi bo'lgan yuklovchi va yukni tushiruvchi dahlizi bo'lgan xonaga joylashtiriladi. Har bir kameraning kameralariga 700 kg oziqa muhiti ketadi, uni yuklash va yukni tushirishga 4 soat vaqt ketsa, yuvish va

dezinfeksiyalash uchun 3 soat vaqt sarflanadi. Produsentni bu xil korxonalarda ajratib olish juda oddiy bo'lsada, qo'l mehnati ulushi anchagina bo'lganligi sababli tan narxi qimmat bo'ladi.

Tayyor mahsulotni maydalash va quritish. Yuqoridagi uslubda tayyorlangan mahsulot muhitning shishgan zarrachalariga yopishgan miseliydan tashkil topgan bo'ladi. Tayyor massadan keyingi bosqichlarda foydalanish uchun kattaligi 5-6 mm li zarrachalar tarzida maydalash lozim bo'ladi. Bunga xilma-xil maydalash apparatlaridan foydalanish orqali erishiladi. Maydalangan mahsulot 40-50 % li namlikka ega bo'lib, uni fermentativ faolligini saqlash maqsadida 10-12 % namlikkacha quritiladi, quritish 40 °C da 30 minut davomida o'tkaziladi. Kukun holatiga keltirilgan mahsulot 15-30 kg dan polietilen xaltachalarga qadoqlanadi. Bu mahsulot toza ferment preparati bo'lmay, uni toza ferment preparatiga aylantirish uchun qo'shimcha tozalash uslublaridan foydalaniladi.

Ferment preparatlarini tovar mahsuloti sifatida ajratib olish. Yuza qismda va chuqur o'stirish uslublarida tayyorlangan mikroorganizm produsentlari ko'p miqdorda keraksiz moddalarga ega bo'ladi. Ular jumlasiga: produsentning biomassasi, o'zlashtirilmagan muhit komponentlari, metabolizm mahsulotlari kiradi. Faol oqsillar-fermentlar ulushi hisobiga yuza qismli o'stirishda 1 %, chuqur o'stirish uslubida o'stirishda 0,1 % to'g'ri keladi. Fermentlarni ajratish va tozalash juda qiyin va qimmatga tushadigan jarayon hisoblanadi. Shu sababli ba'zi holatlarda tozalanmagan ferment preparatlaridan to'g'ridan-to'g'ri foydalaniladi: teri va spirt sanoatida tozalash darajasi ish sifatiga uncha ta'sir ko'rsatmaydi. Hayvonlar oziqasi tarkibiga produsent biomassasini qo'shib berish yem-oziqaning oziqa birligini oshiradi.

Shu bilan birgalikda oziq-ovqat sanoati, to'qimachilik va mikrobiologik sanoatlarda, ayniqsa tibbiyotda faqat yuqori darajada tozalab ajratib olingan ferment preparatlaridan foydalanilishni alohida e'tirof etish joiz. Fermentlarni tozalab ajratib olishning xilma-xil uslublaridan foydalaniladi. Ular jumlasiga:

1. Produsent-fermentli biomassadan qattiq massani ajratish.
2. Fermentli eritmani konsentrlash.
3. Ultrafiltrasiya.
4. Konsentrlangan fermentli eritmada fermentlarni organik erituvchilar yordamida cho'ktirib ajratib olish.
5. Xromatografiya uslubida tozalash.

Ferment preparatlari xilma xil uslublarda ajratib olinadi va ularning hammasi quritiladi hamda quritilgan bu preparatlar o'zlarining tozalik darajalariga mos tarzdagi faollikni namoyon qiladi. Ularning faollik va namlik ko'rsatkichlari standartga moslashtirilgandan keyin germetik qoidalarga rioya qilingan holda qadoqlanadi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Бекер М.Е. и друг. Биотехнология. – М: Агропромиздат, 1990. 354 с.
2. Биотехнология лекарственных средств. Учебное пособие/ Под ред. Быкова В.А. и Далина М.В. – М.: Медбиозэкономика. - 1991. – 303с.
3. Биотехнология. Принципы и применения. – Пер. с англ./ Под ред. И.Хиггинса, Д.Беста, Дж. Джойса. – М.: Мир. – 1988.
4. Биотехнология: Учебное пособие для ВУЗов. В 8 кн./ Под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М.: Высшая школа. – 1987.
5. Молекулярные и клеточные аспекты биотехнологии/ Под ред. Инге-Вечтомова С.Г. – Л.: Наука. - 1986.- 256с.
6. Синицин А.П., Райнина Е.И., Лозинский В.И., Спасов С.Д. Иммуобилизованные клетки микроорганизмов. – М.: Изд-во МГУ.- 1994.- 288с.
7. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. – М.: Изд-во МГУ. – 1994. – 512с.
8. Егоров Н.С. Биотехнология. Проблемы и перспективы. – М.: Высшая школа. – 1987.
9. Ешков Н.П. Основы биотехнологии. – СПб.: Наука. – 1995.
10. Седых Н.В. Контроль качества биотехнологической продукции. – Рига.: Зинатна. – 1990.
11. Стакишкис. Оптимизация управления биотехнологическими процессами. – Вильнюс.: Мокалос. – 1984.
12. Бартошевич Ю.Е. и др. Современное состояние и перспективы биокатализа в производстве β -лактамных антибиотиков. – Антибиотики и медицинская биотехнология. – 1986. - № 2. – С 101.
13. Основы биотехнологии: Методические рекомендации к занятиям/ Сост. Гурина С.В., Потехина Т.С. – СПб.: СПХФИ. – 1997. – 44с.
14. Иммуобилизованные ферменты. Современное состояние и перспективы/ Под ред. Березина И.В., Антонова В.К., Мартиника К. – Т. 1,2.- М.: Изд-во МГУ. – 1976.
15. Экологическая биотехнология/ К. Форстер. – Л.: Химия. – 1990.- 320с.
16. Биотехнология – сельскому хозяйству/ Под ред. Лобанка А.Г. – Минск: Ураджай. – 1988. – 198с.
17. Основы биотехнологии: Методические рекомендации к занятиям/ Сост. Гурина С.В., Потехина В.Г. Биотехнология.
18. Мосичев М.С. Общая технология микробиологических производств
19. Воробьева Л.И. Промышленная микробиология: Учебник для вузов. – М.: МГУ. – 1989. – 293с.
20. Вакула В.Л. Биотехнология, что это такое? М.: Молодая гвардия – 1989. – 301с.
21. Мишустин Е.Н. Биотехнология. Сб.: Знание. – 1988. – 64с.
22. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды/ Пер. с англ. Мехедова С.Л., Миркина С.М. – М.: Мир. – 1987. – 410с.
23. <http://www.biotechnologii.narod.ru>

24. <http://www.nauka.ru>
25. <http://www.wikipedia.ru>