

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ
МИРЗО УЛУҒБЕК НОМИДАГИ
ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ

КИМЁ ФАКУЛЬТЕТИ
ТАБИЙ БИРИКМАЛАР КИМЁСИ КАФЕДРАСИ

ВАЛИЕВ ШАХБОЗ АКМАЛОВИЧ

ФЕРМЕНТОЛИЗ ЙЎЛИ БИЛАН ЎСИМЛИК ЧИҚИНДИЛАРИДАН
ФОЙДАЛИ ОЛИГОСАХАРИДЛАР ОЛИШ

кимё бакалаври даражасини олиш учун ёзилган

МАЛАКАВИЙ БИТИРУВ ИШИ

Илмий раҳбар:

“Табиий бирикмалар кимёси”

кафедраси доценти, к.ф.н. Ш.Я.Мирзаахмедов

Тошкент-2014

МУНДАРИЖА

Кириш.....	3
I БОБ. Адабиётлар шарҳи.....	5
I.1. Целлюлотик ферментлар ва улар иштирокида борадиган гидролиз реаксиялари.....	6
I.2. Олигосахаридларнинг муҳим вакиллари ва уларнинг қўлланилиш соҳалари.....	22
II БОБ. Олинган натижалар ва уларнинг муҳокамаси.....	26
II.1. Айрим ўсимлик полисахаридларини ажратиб олиш.....	26
II.2. Ажратилган полисахаридларнинг ферментатив гидролизланиш шароитларини ўрганиш.....	29
III БОБ. Тажрибавий қисм.....	33
III.1. Фойдаланилган материаллар.....	33
III.2. Фойдаланилган реактивлар	33
III.3. Фойдаланилган асбоблар ва ускуналар.....	33
III.4. Айрим ўсимлик полисахаридларини ажратиб олиш.....	34
III.5. Ажратилган полисахаридларнинг ферментатив гидролизланиш шароитларини ўрганиш.....	34
IV. Хулосалар.....	39
Фойдаланилган адабиётлар рўйхати.....	40

КИРИШ

Мавзунинг долзарблиги: Биотехнологиянинг ривожланиши туфайли охирги йилларда ферментларга, хусусан, целлюлоза чиқиндиларидаги полисахаридларни парчаловчи гидролазаларга бўлган қизиқиш сезиларли даражада ошди. Маълумки, полисахаридларни парчаловчи ферментлар гидролазаларга синфига мансуб бўлиб, уларнинг манбаи турли микроорганизмлар (бактериялар ва замбуруғлар) ҳисобланадилар.

Микроорганизмлардан ажратиб олинган ферментларнинг саноатнинг турли соҳаларида қўлланилиши анча илгари бошланган. Ҳозирги кунга келиб ферментлар технологияси биологик хом-ашёларга ишлов беришнинг энг самарали усулига айланган. Ферментлардан биокатализаторлар сифатида фойдаланиш озиқ-овқат таминоти ва ем-ҳашак базасини сезиларли даражада кенгайтишига, уларнинг янги шакллари яратилишига ва мавжудларини сифат даражасини яхшилашга имкон яратмоқда. Бундан ташқари ананавий усуллардан биотехнологик усулларга ўтиш чиқиндисиз технология яратиш ва экологик тоза маҳсулот ишлаб чиқаришнинг ягона чораси бўлиб қолди [1].

Атроф-муҳитни, уни ифлослантирувчи бир қатор моддалардан тозалаш микроорганизмлар ишлаб чиқарган ферментлар ҳисобига амалга оширилади, яъни улар пластмасса, пестицидларни ва бошқа захарли мураккаб бирикмаларни оддий таркибий қисмларга парчалаб юборадилар. Микроорганизмлар фойдалана оладиган (озикланадиган) айрим хом-ашёлар одам ва ҳайвонлар учун захарлидир. Шундай экан, микроорганизмлар фермент ҳосил қилиш билан бир қаторда атроф-муҳит муҳофазаси учун ҳам хизмат қиладилар [2].

Саноат миқёсида целлюлоза маҳсулотларини қайта ишлашда қўлланилаётган кимёвий услубларнинг ўрнига ферментатив усулларни қўллаш технологик жараёнларнинг самарадорлигини ошишига, сарф-харажатларнинг камайишига ва олинган маҳсулотларнинг сифат даражасини юқори бўлишига олиб келади.

Целлюлолитик фермент препаратларнинг қўлланилиш соҳалари кенг бўлиб асосан, саноатда, тиббиётда ўсимликлардан доривор моддаларни ажратиш олишда, қишлоқ хўжалигида қавш қайтарувчи ҳайвонлар учун озуқа тайёрлашда қўлланилади. Хусусан целлюлазалар озиқ овқат саноатида, асосан дуккакли ўсимликларни қуритиш жараёнида целлюлозани гидролизлаш мақсадида ишлатилади [3]. Бундан ташқари целлюлазалар ювувчи воситаларда ва саноатда, қоғоз саноати ва фармацевтикада, шу билан биргаликда биоёқилғидаги биомассаларни ферментациялашда қўлланилади [3-4].

Тадқиқотнинг мақсади: Буғдой сомони ва гуруч кепегидан ажратиш олинган полисахаридларга ферментатив ишлов бериш ундан фойдали олигосахаридлар олиш.

Тадқиқотнинг вазифалари:

1. Буғдой сомони ва гуруч кепегидан полисахаридларни ажратиш олиш;
2. Ажратилган полисахаридларнинг ферментатив гидролизланиш шароитларини ўрганиш;

Тадқиқот объекти ва предмети: Буғдой сомони ва гуруч кепеги тадқиқот объекти ва ундан ажратиш олинган целлюлоза макромолекуласи тадқиқот предмети ҳисобланади.

Тадқиқот услублари: Ушбу ишда биоорганик кимё ва энзимология (ферментатив фаолликлар ва каталитик хусусиятларини аниқлаш) услубларидан фойдаланилган.

Малакавий битирув ишининг ҳажми ва тузилиши: Малакавий битирув иши кириш қисми, адабиётлар шарҳи, олинган натижалар ва уларнинг муҳокамаси, тажрибавий қисм, хулосалар, ҳамда 48 та фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Ушбу иш 45 бет компютер матнида баён этилган бўлиб, 4 та расм ва 1 та жадвални ўз ичига олади.

I-БОБ. АДАБИЁТЛАР ШАРҲИ

Ферментлар – турли биокимёвий реакцияларни амалга оширувчи оксил табиатига эга бўлган, танлаб таъсир этувчи юқори самарали биокатализаторлар ҳисобланади. Улар реакция тезлигини миллион ва ҳатто миллиард мартача ошириши мумкин. Масалан, *уреаза ферменти* (рН 8,0; 20⁰С) мочевиначинг гидролиз реакция тезлигини 10¹⁴ мартача оширади. Ферментлар юқори танлаб таъсир этувчанликка эга биокатализаторлар ҳисобланади. Улар кимёвий катализаторлардан фарқ қилиб реакцияда қўшимча маҳсулотлар ҳосил қилмайди. Чунки улар субстратга нисбатан фазовий танлаб таъсир этиш хусусиятига эгадирлар [5].

Ферментлардан биологик катализатор сифатида турли соҳадаги амалий фаолиятларида кенг фойдаланиб келинмоқда. Ферментлар манбаи ҳайвон тўқималари, ўсимлик ҳужайралари ва микроорганизмлар бўлиши мумкин. Ҳозирга келиб кўплаб ферментлар асосида препаратлар яратилган [5-6].

Микроорганизмлар ферментлар ишлаб чиқарувчи манба сифатида алоҳида қизиқиш уйғотади, чунки улар арзон муҳитда тез ўсадилар. Ишлатиладиган озуқа таркибига қараб керакли ферментни, хоҳлаганча тайёрлаш имкониятини берадилар [6]. Бунинг устига, кўпгина микроорганизмлар ферментларни ўз ҳужайра қобиқларидан ташқарига чиқарадилар, бу эса микроорганизмлардан янада фаолроқ фойдаланиш имкониятини яратади.

Микроорганизмларни яна бир муҳим хусусиятларидан бири, улар озуқа сифатида ҳар хил чиқиндилардан фойдаланиб ўсиш қобилиятига эга эканидир. Кўпчилик бактериялар уларга метан, метанол, метилланган аминларни, углерод оксидини ва бошқа бир хил углеродли бирикмалар субстрат сифатида берилганда, улардан озуқа сифатида фойдаланиб, ўсиш ва ривожланишга ёрдам берадиган ферментларни синтезлаш қобилиятига эга. Атроф-муҳитни ва уни ифлослантирувчи бир қанча моддалардан тозалаш микроорганизмлар ишлаб чиқаришдаги ферментлар ҳисобига амалга

оширилади, улар пластмасса, пестицидларни ва бошқа заҳарли мураккаб бирикмаларни оддий таркибий қисмга парчалаб юборадилар. Бундан ташқари микроорганизмлар фойдалана оладиган айрим хом-ашёлар одам ва ҳайвонлар учун заҳарлидир. Шундай экан, микроорганизмлар ферментлар ҳосил қилиш билан бир қаторда атроф-муҳит муҳофазаси учун ҳам хизмат қиладилар [7].

Юқорида таъкидланганидек, кўп микроорганизмлар катта миқдорда културал муҳитга чиқадиган ферментлар ҳосил қиладилар. Бу ферментлар асосан оксил, крахмал, целлюлоза, ёғларни ва бошқа сувда эримайдиган моддаларни парчалайдиган гидролазаларга тааллуқлидир.

I.1. Ферментларнинг синфланиши.

Таъсир этиш механизмига кўра барча ферментлар қуйидаги синфларга бўлинади:

1. *Оксидоредуктазалар;*
2. *Трансферазалар;*
3. *Гидролазалар;*
4. *Лиазалар;*
5. *Изомеразалар;*
6. *Лигазалар (синтетазалар).*

Кенг кўламда қўлланиладиган микроорганизмлардан ажраладиган ферментлар, бу гидролазалар синфига кирувчи ферментлардир (гликозидазалар, пептидазалар ва бошқалар). Ҳар бир ферментнинг ўзига мос келадиган юқори даражадаги фазовий танлаб таъсир этувчи субстрати мавжуд [5]. Мазкур адабиётлар шарҳи, ферментларнинг гидролазалар синфига мансуб бўлган целлюлолитик ферментларга бағишланган.

I.2. Целлюлотик ферментлар ва уларнинг ишлатилиши.

Целлюлолитик ферментлар (целлюлазалар) - фаол оксилларнинг мураккаб комплекси. Уларнинг жадал равишда ўрганила бошланганига тахминан 50 йил бўлди. Целлюлаза ферментлари субстратга нисбатан юқори

танлаб таъсир этиш хоссасига эга, адсорбцион хусусияти ҳамда температурага чидамлилиги билан бошқа ферментлардан ажралиб туради [8].

Целлюлозани гидролизловчи ферментлар β -1,4-гликозид боғларини гидролизлашга хизмат қилади. Саноатда ишлаб чиқариладиган целлюлотик фермент препаратлари одатда C_1 ва C_x ва шунга ўхшаш целлобиаза ва гемицеллюлаза ферментлари бўлиб, бу препаратлар рН 4-5 қиймат оралиғида юқори фаоллик кўрсатади. Целлюлазаларни ҳосил қилувчи мицеллалар замбуруғларга мисол сифатида *Penicillium notatum*, *Penicillium variabili*, *Penicillium iriense*, *Trichoderma reesei*, *Verticillium alboatrum*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger* ларни келтириш мумкин [9-10].

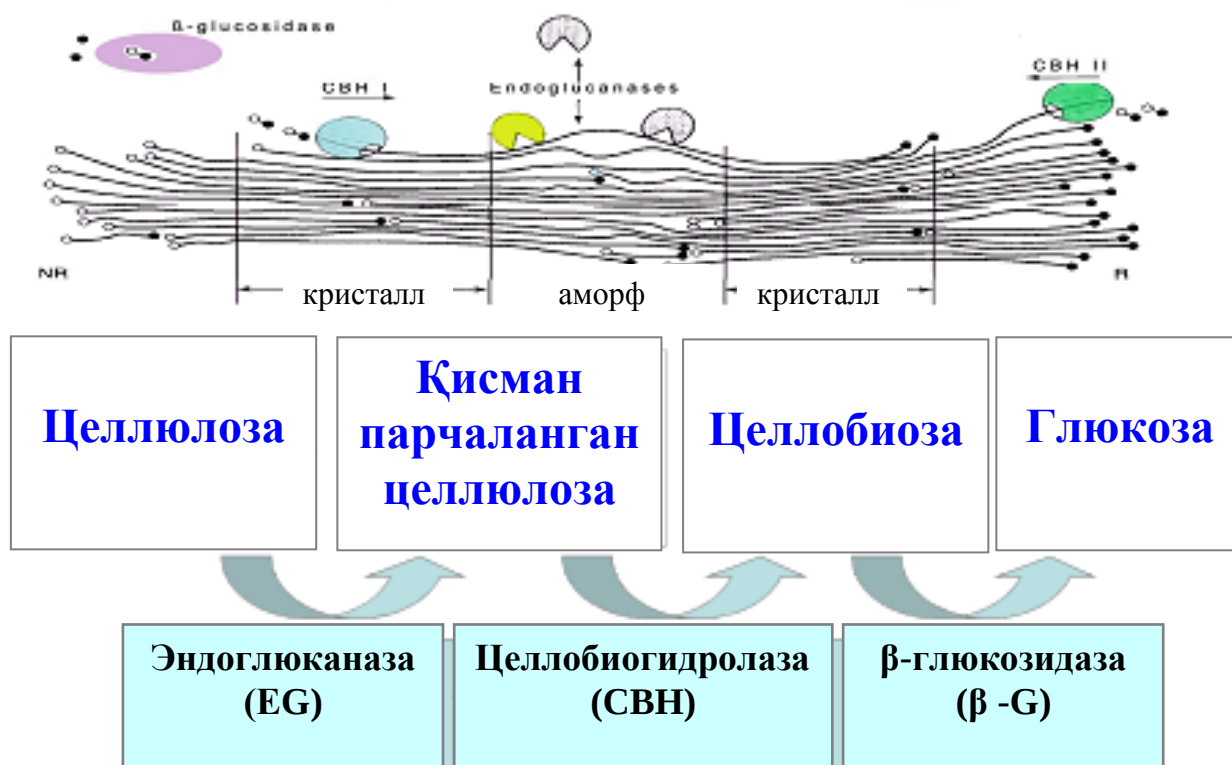
Целлюлолитик ферментлар таъсир этиш механизмига кўра тўртта катта гуруҳларга бўлинади [11] (1-расмга қаралсин):

1. Целлюлозадан олигосахаридлар ҳосил қилувчи - эндоглюканазалар (ЕС 3.2.1.4);
2. Кристалл целлюлозадан целлобиоза ҳосил қилувчи- целлобиогидролазалар (ЕС 3.2.1.91);
3. Олигосахаридлардан глюкоза ҳосил қилувчи – β -глюкозидазалар (ЕС 3.2.1.21);
4. Целлюлоза ёки олигосахаридлардан глюкоза ҳосил қилувчи – экзоглюканазалар (ЕС 3.2.1.74).

Ушбу ферментларнинг хусусиятларини алоҳида кўриб чиқадиган бўлсак:

Эндоглюканазалар - целлюлозанинг ички боғларини узиб олигосахаридлар ҳосил қилувчи ферментлардир. Бу фермент тасирида целлюлозанинг полимерланиш даражаси (ПД) сезиларли тарзда пасайиши кузатилади. Эндоглюканазалар целлюлозанинг аморф қисмини гидролизлайди, лекин *T.koningii* ва *T.reesei* замбруғининг целлюлолитик ферментлари кристалл қисмини ҳам гидролизлаши мумкин [12]. Бундан ташқари тартибли таъсир даражаси турли хил бўлган эндоглюканазалар ҳам

бор. “Кам тартибли” типдаги эндоглюканазаларнинг таъсири натижасида сувда эрувчи целлюлозаларнинг қовушоқлиги йўқолади ва субстратнинг полимерланиш даражаси бирданига пасайиши кузатилади [13].



1-расм. Целлюлозанинг ферментатив парчаланиш механизми.

Замбруғлардан ажратиб олинган эндоглюканазаларнинг молекуляр массаси тахминан 11-100 кДа оралиғида бўлади, булар ичида молекуляр массаси 30-55 кДа бўлган эндоглюканазалар кўпроқ тарқалган. Бактериялардан ажратиб олинган эндоглюканазаларнинг молекуляр массаси замбруғли эндоглюканазалардан бирмунча каттароқ бўлиб, одатда 65 кДа дан юқори бўлади [14].

Целлобиогидролазалар - кристалл целлюлозадан целлобиоза ҳосил қилувчи ферментлар ҳисобланади. Целлобиогидролазалар табиий ёки қисман гидролизланган целлюлозаларнинг тикланадиган ёки тикланмайдиган боғнинг охиридан целлобиозаларни узади, бунда целлюлозанинг полимерланиш даражаси тикланадиган глюкозанинг концентрациясининг ошишига нисбатан интенсив равишда пасаяди.

Целлобиогидралазалар эндоглюканазалардан фарқ қилган ҳолда аморф ва кристалл целлюлозаларни гидролизлайди, асосан кристалл целлюлозаларни гидролизлайди (масалан: пахта, филтр қоғоз) [15].

Эндоглюканазаларга қараганда целлобиогидролазанинг фаоллиги КМЦ га нисбатан юқори, чунки улар охиридан таъсир этадиган фермент учун энг яхши субстрат ҳисобланади. Шунингдек, целлобиогидролазалар, целлобиоза ва лактозанинг нитрофенил ёки метилумберрифенил ҳосилаларига нисбатан юқори фаолликка эга [16].

Экзоглюканазалар - 1,4 - β -гликозид боғ узилишида целлюлозанинг аномер конфигурациясини ўзгартирувчи, табиий ёки қисман гидролизланган целлюлозанинг охирги боғидан глюкоза қолдиғигача узувчи ферментлардир. Целлюлолитик ферментлар ичида экзоглюканазалар ҳозирги пайтда кам ўрганилган. Аввал целлюлозали комплексдан глюкоза ҳосил бўлишида асосий ролни целлобиоза ва экзоглюкозидазалар ўйнайди деб ҳисоблашган. Охирги вақтда гомоген эндоглюканазалар ажратиб олиниб, уларнинг хусусияти ўрганилгандан кейин, улар глюкоза ҳосил бўлишида аҳамиятли эканлиги аниқланди, негаки целлюлозаларни тарқатишда эндоглюканазанинг иштироки ҳақиқий экзоглюкозидаза фаолликини аниқлашга қийинчилик туғдиради.

Гомоген экзоглюкозидазаларни аниқлаш ҳозирги кунгача баъзи ҳолатлардагина кузатилади. Масалан, *R. funiculosum* ва *S. rolfsii* замбруғларидаги экзоглюкозидаза ферментлари гомоген ҳолда ажратиб олинган. Бу фермент ўзига хос хусусиятга эга ва аморф целлюлоза, целлоолигосахаридлар, целлобиозани глюкозагача гидролизлайди [16].

Грачёва И.М нинг олиб борган изланишлари [17] натижасида олган хулосаларига кўра: экзоглюканазалар ва целлобиогидралазалар глюकोпротеидлар бўлиб, уларнинг углевод қисмининг асосий компоненти маннозадир. Эрувчан целлоолигосахаридларнинг целлобиогидралазалар ёрдамида гидролизланиш тезлиги субстратнинг полимерланиш даражасини

учдан олтигача ортиши билан ортиб боради. Целлобиозага улар таъсир кўрсатмайди. Бу целлобиогидралазалар фаол марказининг сорбцион бўлагини кўп сайтли структура эканлигини билдиради.

Целлобиазалар - β -глюкозидазаларнинг бир тури бўлиб, фақат целлобиозани гидролизлайди. Целлобиазалар агликоннинг аномер конфигурациясини сақлаган ҳолда, трансгликозиллаш билан бирга целлобиозани гидролизлайди.

Целлобиазаларнинг молекуляр массалари 50-300 кДа атрофида бўлади. Микроорганизмлардаги кўпчилик целлобиазалар ўзида pH 3,1-5,9 га тенг бўлган кислотали оксилларни намоён қилади, *Trichoderma reesei* ва *Trichoderma viride* замбруғларидан олинган целлобиазаларининг pH қийматлари 8,3 гача бўлиши мумкин [14,16].

Бутова С.Н.нинг олиб борган изланишлари натижасида олган хулосаларига кўра: целлобиазалар олигомерли оксиллардир. Уларга кўпгина β -глюкозидазалар, гликопротеидлар ва нордон оксиллар киради. Глюкозидазалар учун кўп хусусиятлар хосдир. Улар 1→2, 1→3, 1→4 ва 1→6 глюкозид боғларини гидролизлаши мумкин. Кўпгина β -глюкозидазаларда аниқ танлаб таъсир этувчанлик йўқ бўлиб, улар β -D-глюкозидларни ҳам, β -D-ксилозидларни ҳам, β -D-фруктозидларни ҳам ва α -D-арабинозидларни ҳам гидролизлаши мумкин. Целлобиазаларнинг экзоглюконазалардан фарқи шуки, қисқароқ олигосахаридларни тезроқ гидролизлайди [18].

Кўпчилик β -глюкозидазалар целлобиоза билан бир қаторда полимерланиш даражаси юқори бўлган олигосахаридларни ҳам гидролизлашга қодир, лекин одатда уларнинг каталитик хусусиятлари олигосахарид боғининг узунлиги ошиши билан пасаяди. Шундай қилиб, юқорида келтирилган маълумотларга асосан целлюлолитик ферментларга умумий тавсиф берилди.

Микроорганизмлардан ажратиб олинган ферментларнинг саноат соҳаларида қўлланилиши анча аввал бошланган. Ҳозирга кунга келиб

ферментлар технологияси биологик хом-ашёларга ишлов беришнинг энг самарали усулига айланди. Ферментлардан биокатализаторлар сифатида фойдаланиш озиқ-овқат таминоти ва ем-хашак базасини сезиларли даражада кенгайтишига, уларнинг янги шакллари яратилишига ва мавжудларини сифат даражасини яхшилашига имкон яратмоқда. Целлюлолитик фермент препаратларнинг қўлланилиш соҳалари кенг бўлиб асосан, ўсимликларни парчалашда, тиббиётда ўсимликлардан доривор моддаларни ажратиб олишда, қишлоқ хўжалигида қавш қайтарувчи ҳайвонлар учун озуқа тайёрлашда қўлланилади [19]. Хусусан целлюлазалар озиқ-овқат саноатида, асосан дуккакли ўсимликларни қуритиш жараёнида целлюлозани гидролизлаш мақсадида ишлатилади. Бундан ташқари целлюлазалар ювувчи воситаларда ва тикув саноатида, турли мақсад учун қоғоз саноати ва фармацевтикада, шу билан биргаликда биоёқилғидаги биомассаларни ферментациялашда қўлланилади [20]. Масалан, кам ёғли уруғлардан турли касалликларга қарши қўлланилиши мумкин бўлган шифобахш ёғларни целлюлолитик фермент препаратларини қўллаб ажратиб олинган [21].

Шундай қилиб, ҳозиргача мавжуд илмий адабиётларни таҳлил этиш натижасида хомашёни ферментатив гидролизга тайёрлаш усуллари ва целлюлотик ферментларнинг қўлланилаётган соҳалари ҳақида қуйидаги маълумотлар тўпланди:

Устинников И.В. ва бошқалар [22] ишлаб чиққан усулнинг қисқача мазмуни қуйидагича: дон майдаланади, шелуха ва эндоспермга фракцияланади, ҳар бир фракция сув билан аралаштирилади ва иссиқ сув билан ишлов берилади. Шелухали фракция 150 -160°C ҳароратда 1-1,5 соат давомида қиздирилади, сўнгра 60°C гача совитилади ва 3-4 соат давомида крахмал, целлюлоза ва бошқа нокрахмал углеводлар гидролизини амалга ошириш мақсадида целлюлолитик ферментлар замбруғ ёки културал суюқлик ва амилолитик ферментлар кўринишида қўшилади. Шу билан бирга эндосперм сув билан аралаштирилади, 65-75°C да 1-2,5 соат давомида иссиқ

сув билан ишлов берилади, крахмал гидролизини амалга оширган ҳолда 85-95°C да стерилланади ва шу ҳароратда 35-45 минут ушлаб турилади. Гидролиздан кейин эндосперм шелуха билан аралаштирилади ва амилолитик ферментлар билан қўшимча гидролизга жўнатилади. Қўшимча гидролизга эндосперм ва шелуха ёки аралаштириб ёки алоҳида-алоҳида жўнатилиб кейин аралаштирилади. Шулуханинг асосий ферментатив гидролизидан кейин олинган атала иккита қисмга бўлиниши мумкин: қаттиқ ва суюқ. Суюқ қисми эндоспермга иссиқ сувли ишлов бериш ва ферментатив гидролизлаш босқичига қайтарилади, қаттиқ қисми эса спиртдан кейинги тўпонга қўшилади ва ем маҳсулотлари сифатида ишлатилади.

Карпов ўзининг изланишлари натижасида қуйидаги хулосаларга келди: этанол олиш жараёнининг асосида крахмалнинг ферментатив гидролизи натижасида крахмалнинг шакарга айланиши ва унинг замбруғлар ёрдамида этанолгача бижғиши ётади. Технологик ишлов бериш жараёнининг бир нечта вариантлари мавжуд: куруқ ишлов бериш усули ёки хом ишлов бериш усули, даврий ёки узлуксиз бижғитиш усули ва ҳоказолар. Саноатда целлюлозадан этанол ишлаб чиқаришда кислотали гидролиз технологиясидан фойдаланилади. Умуман олганда ферментатив гидролиз ишлаб чиқариш харажатларининг анча пастлиги туфайли юқори самарали усул ҳисобланади [23].

Постникова ва Митраковалар биоэтанол ишлаб чиқариш учун муҳим хом-ашё ҳисобланадиган шакар олиш мақсадида макулатура хом-ашёсини дастлабки қайта ишлаш ва ферментатив гидролизланиш шароитларини ўргандилар. Биоэтанол ишлаб чиқариш учун хом-ашё сифатида ишлатиладиган макулатура ферментатив гидролизга тайёрланиши (титиш, майдалаш ва термокимёвий ишлов бериш) кераклигини айтиб ўтдилар [24].

Роджернинг қилган иши, ўсимлик чиқиндиларни қайта ишлашга тааллуқли бўлиб у этанол ишлаб чиқаришни қуйидаги босқичларда олиб борди: ферментатив гидролиз билан ишлов бериладиган чиқиндиларни

саралаш ва бу целлюлозали компонентларни майдалаш, қайнатиш. Бижғиётган массадан этанолни ажратиб олган ҳолда рН ни оптималлаштиришни кўриб чиқади. Майдаланган целлюлозали компонентлардан биттадан вариант олиниб 1:1 масса нисбатда концентрланган сульфат кислота билан ишлов берилади. Олинган масса 80-100°C ҳароратли сув билан суюлтирилади. Сўнг 100°C да аралаштирилиб қайнатилади ва қаттиқ фазада филтрланади. Филтрат кислота таркибли эритма ва шакар таркибли эритмага ажратилади. Шакар 12-14% гача концентрланади, рН 6 гача олиб келинади. Шакарнинг концентрланган эритмасини ферментациялашда замбуруғлардан фойдаланган ҳолда амалга оширилади. Бошқа вариант бўйича майдаланган целлюлозали компонент кислотали гидролизга учратилади. Гидролизат узлуксиз ион алмашилиш хроматографияси ёрдамида кислота таркибли эритма ва шакар таркибли эритмага ажратилади. Шакар концентрацияси 12-14% гача тескари осмос филтри билан олиб борилади, рН аммиак билан 6 гача олиб борилади. Концентрланган шакар эритмасининг ферментацияси замбуруғлар ёрдамида 25-36°C ҳароратда ачитқи кўшиш билан амалга оширилади. Ачитқидан этанол дистиляция қилиб олинади. Учинчи вариант бўйича майдаланган целлюлозали компонент сульфат кислота билан 40-100°C да гидролизланади. Эрувчан компонент эримайдиган компонентдан ажратилади. Эримайдиган компонент қуригилади ва концентрланган сульфат кислота билан 1:1 масса нисбатда қисман гидролизланган аралашма олиниши билан ишлов берилади. Аралашма 80-100°Cда сув билан суюлтирилади, 100°Cда аралаштирилган ҳолда қайнатилади, қаттиқ фаза филтратдан ажратиб олинади. Филтрат кислотали ва шакарли эритмага ажратилади. Шакар 12-14% гача концентрланади, рН қиймати 6 га келтирилади. Шакар эритмаси ферментацияси замбуруғлар билан амалга оширди. Глюкоза олиш усули хом-ашёни майдалаш, уни концентрланган сульфат кислота билан 1:1 масса нисбатта 30-80°C ҳароратда ишлов беришни ўз ичига олади. Олинган

аралашма сув билан 80-100°C да суюлтирилади ва 100°Cда аралаштириб қайнатилди. Сўнгра эримайдиган компонент ажратиб олинади ва глюкоза олинади [25].

Привалова ўзининг мақоласида целлюлозанинг ферментатив гидролизи реакцион қобилятига сомон таркибининг тасирини ўрганиш натижаларини келтирилган. Сомоннинг лигноцеллюлозали комплексининг “Целлолюкс-А” фермент комплекси билан гидролиз даражаси энг аввало мум, лигнин таркибига ва кам даражада целлюлоза макромолекуласининг тартиблилиги даражасига боғлиқлиги кўрсатди. Қўлланилган делигнификация усули ҳам целлюлозани реакцион қобилятига кучли тасир кўрсатади [26].

Холм ва Герлахларнинг иши этанол лигноцеллюлозали биомассага этанол ва бошқа маҳсулотларни олиш учун узлуксиз гидротермик дастлабки ишлов бериш усулига таълуқли. Лигноцеллюлозали биомасса сифатида жўхори пояси, майдаланган ўсимлик ва сўтаси олинган. Бу усул лигноцеллюлозали биомассани бўктириш ва босим остида 170-200°C ҳароратда узлуксиз гидротермик дастлабки ишлов беришни ўз ичига олади. Лигноцеллюлозали биомассани бўктириш босқичида, кейинги босқичларда ҳосил бўладиган органик кислоталар билан шимдирилади. Дастлабки ишлов берилган хом-ашё тола ва суюқ фракцияни олган ҳолда босим остида сиқилади. Бунда лигноцеллюлозали биомассанинг толали структураси сақланиб қолинади. Гемицеллюлозали шакарларнинг лигноцеллюлоза биомассада суюқ фракцияга ўтиб қолиши дастлабки лигноцеллюлозали биомассанинг 60% ни ташкил қилади. Лигноцеллюлозадаги лигнинининг 80% дан ортиғи тола фракциясида сақланиб қолинади. Тола фракцияси ферментатив юмшатилади ва шакарланади. Тола фракциясини ферментатив юмшатиш, кўтариловчи мослама билан таминланган роторли цилиндр барабанда олиб борилади. Ферментация натижасида лигнин микроразрачалари кўмир чанги билан бирга қўшиб ёқиладиган қаттиқ моддага айланиб қолади. Суюқ фракциянинг бир қисми кавш қайтарувчи

хайвонлар учун озуқа олишда ишатилади. Бу усул кам энергия талаб қилувчи усул ҳисобланиб, лигноцеллюлозали биомассадаан кейинчалик чиқариб ташланиши керак бўлган кислота, асос ёки бошқа кимёвий реактивларни қўшмаган ҳолда этанол олишни имкониятини берди [27].

Канадалик олим Ли ўз изланишларини ўсимлик хом-ашёларининг ферментатив гидролизини мувофиқлаштиришга қаратган. Ўрганилаётган ўсимлик қолдиқлари жўхори пояси ва сўтасини ўз ичига олади, улар фементатив гидролизгача КОН эритмаси билан дастлабги ишлов беришдан ўтказилади ва 40°C 800 U/гр ферментни субстратга тасир эттирган ҳолда жўхори пояси ва сўтасининг ферментация гидролизидан чиққан глюкозанинг унуми мос равишда $65.4 \pm 2.3\%$ ва $51.1 \pm 2.3\%$ ни ташкил этади. Жўхори поясининг ферментатив гидролизини мувофиқлаштириш хўл субстрат билан амалга оширилди. Бунда субстрат КОН билан ишлов беришдан олдин майдаланади ва дастлаб ферментнинг ярим дозаси қўшилади ва жараённинг ўртасида ферментнинг қолган ярми қўшилади. Жўхори поясидан 1 литр этанол олиш учун эксплуатацион ҳаражатлар 4.97 \$ ни ташкил этди [28].

Лаборатория шароитида арпа кепегидан нитрат кислотали ва комбинацияли усуллардан олинган техник целлюлозани ацетатли буферда ферментатив гидролизлаш ўрганилган. Жараён ҳажм бўйича масштаблаштирилган ва 11 л ҳажмли ферментёрда сувли шароитда олиб борилган. Арпа кепеги таркибидаги техник целлюлозага ферментатив гидролиз усулида ишлов бериш энг самарали усул эканлиги аниқланган [29].

Мискантус техник целлюлозанинг ацетатли буферда BrewZyme BGX фермент препарати билан ферментатив гидролизини ўрганилган. Бунда қайтарувчи моддаларнинг сўнгги концентрациясининг бошланғич субстратнинг концентрациясига чизиқли боғлиқлиги ўрганилган. Целлюлозанинг сувдаги шароитда BrewZyme BGX, Celluxil, “Целлолюкс-А фермент препаратларини кетма-кет қўшиши натижасида гидролиздан олинган гидролизатларнинг бижғиш натижалари уларнинг юқори

сифатлилигидан далолат беради. Шунинг учун бу гидролизатлардан этанол, бактериал целлюлоза гел-плёнкаи ва микробиологик трансформациянинг бошқа маҳсулотларини олишда ҳам фойдаланиш мумкин [30].

Лаборатория шароитида мискантусдан нитрат кислотали ёки комбинацияли усулда олинган техник целлюлозанинг ацетатли буферда ферментатив гидролизи олиб борилди. Жараён бирламчи масштаблаштиришга ўтказилди ва сувли шароитда ҳажми 1 л бўлган ферментёрда олиб борилди. BrewZyme BGX, “Целлолюкс-А и Рапидазу CR ларни ўз ичига олувчи ва самарали гидролизни таъминлаб берувчи мулти-фермент комплекси таркиби ўрганилди; 0,04 г субстратга препаратларни бир вақтнинг ўзида қўшиш мақсадга мувофиқлиги кўрсатилди. Ферментатив гидролизнинг самарадорлиги субстратнинг олиниш усулига боғлиқлиги аниқланди. Олинган гидролизатларда қайтарувчи моддалар концентратияси 70 г/л га етди. Олинган гидролизатларнинг қайтарувчи моддалари *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ У-1693 штамми билан ферментацияси орқали этанолга айлантирилди. Гидролизатларнинг юқори сифатлилиги кўрсатиб берилди, техник целлюлозани азот кислотали услубдан фойдаланиб биожғишининг иқтисодий коэффициенти 0.406, ва комбинацияли услубдан фойдаланилган ҳолда 0,443 га тенглиги ҳисобланди. Кетма-кет ректификация ҳисобига сифатини ошириш имкони бўлган биоэтанолнинг тажриба намуналарининг кимёвий таркиби ўрганилди [31].

Субстратни даврий механик майдалаш ёрдамида ферментатив реакция тезлигини камайиб бориш билан амалга оширилган целлюлозанинг ферментатив гидролизи фаолланиш жараёни ўрганилди. Ишлов бериш целлюлозанинг кристаллиги камайиши ва оксил молекуласига мос юзанинг ортиши ҳисобига целлюлозанинг реакция қобилятини ошишига олиб келади. Таклиф этилган лигноцеллюлозани ферментатив конверсия жараёнини фаоллаштириш услуби турли ўсимлик хом-ашёларининг

углеводли қисмининг конверсиясини 90% гача олиб чиқиш имконини беради [32].

Арпа ва Россия мискантуси кепегидан (4% нитрат кислота билан ишлов берилган) лигноцеллюлозали материаллар олишнинг оптимал шароитлари аниқланди; 2012 йилда тажрибали ишлаб чиқаришда лигноцеллюлозани материаллар намуналарини тайёрлаш олиб борилди. Ферментация учун энг истиқболли субстратлар деб 4% ли нитрат кислота билан ишлов берилган арпа ва мискантус кепакларининг лигноцеллюлозали материалларининг намуналари ҳисобланиши кўрсатилди. Бунда парчаланишдан олинган моддаларнинг унуми субстрат массасига нисбатан олганда 73-80% ташкил этади [33].

Ультрадисперс заррачалар ҳосил бўлгунга қадар майдаланган ёғоч полисахаридлари ферментатив гидролизининг самарадорлиги ўрганилди. Майдаланган хом-ашёда қайтарувчи шакарларнинг таркиби ва полисахаридларнинг ферментатив гидролизиди уларнинг чиқиш унуми ультрадисперс заррачаларнинг ўлчамига боғлиқлиги аниқланди. Лазер интерференцион, микроскопия ва динамик сочилиш усуллари билан субстратларни майдалаш вақтининг 20 дан 40 минутгача оширилиши натижасида муҳитда 2 дан 200 нм гача бўлган заррачаларнинг ҳосил бўлишига олиб келиши кўрсатилди. Ультрадисперс заррачаларнинг ферментатив гидролизатларида асосан глюкоза ва галактозанинг тўпланиши кузатилди. Майдалаш интенсивлиги (тегирмоннинг айланиш тезлиги) ва вақт ёғочнинг ферментатив гидролизини тўлиқ амалга ошишига кучли тасир қилди [34].

Кашфиёт, чорвачилик хусусан, ем ишлаб чиқаришда қўлланишга мўлжалланган. Услуб ўсимлик хом-ашёсини майдалаш ва ферментатив гидролизини ўз ичига олади. Ферментатив гидролиз ўсимлик хом-ашёсига умумий массасига нисбатан 5-10% миқдордаги олдиндан тайёрланган *Microtus arvalis* кўричагидан олинган препарати қўшилди. Препарат ўсимлик

хом-ашёси билан аралштирилиб 1-3 сутка ушлаб турилди ва аралашма 35-37°C ҳароратли оқиб турган сув билан тўхтовсиз ювилди. Препарат *Microtus arvalis* кўричагидан олинган бактериал флорани азотсиз целлюлозали субстратда ўстириш йўли билан олинди. Таклиф этилган усулда ўсимлик хом-ашёси сифатида целлюлоза сақловчи ўсимлик чиқиндиларидан фойдаланилади: сомон, қипиқ, целлюлоза саноати чиқиндилари ва қоғоз саноати чиқиндилари. Олинган ем ёки ем қўшимчаси қишлоқ хўжалик ва уй ҳайвонлари томонидан осон ейилади ва ўзлаштирилади. Олинган ем ёки ем қўшимчаси холестерин даражасини ва ичак перисталтика фаолиятини бошқаришда иштирок этади ҳамда ичакни шлаклардан тозалайди. Озуқанинг ўзлаштирилиши ва ҳазм қилинишини ошириб овқат ҳазм қилиш органларининг ферментларини фаоллаштиради [35].

Кашфиёт микробиология ва озиқ овқат саноатига таълуқли ҳамда целлюлозали чиқиндиларни йўқотишда ҳам фойдаланилиши мумкин. Бу усул арпа ёки шоли кечаги пахта линти ёки ғўзапояни кристалл тузилишини бузиш ва солиштирма юзасини ошириш мақсадида целлюлозали хом-ашёга дастлабки ишлов беришни ўз ичига олади. Бу ишлов бериш экструдерда амалга оширилади. Олинган экстракт *Asp. mix B 2000 yoki B1 mix yoki selloviridin Г20х* фермент препаратлари билан фермент: экстракт 1-3:1-9 масса нисбатларида (мос равишда) ферментатив гидролизга учратилади. Таклиф этилган услуб экологик ва арзон ҳисобланиб қисқа вақт ичида юқори даражадаги хом-ашё биоконверсиясини амалга ошириш мумкинлиги билан характерланади [36].

Комбинацияли усул билан сули кечагидан олинган техник целлюлозалар (дастлабки гидролиз, ишқорий делигнификация, нитрат кислота эритмаси билан ишлов бериш) «Брюзайм БГХ» ва «Целлолюкс-А» фермент препаратлари арлашмаси билан гидролиз қилинганда юқори реакцион қобилятга эга эканли маълум бўлди. Парчаланган моддалар ўсиб бориши субстратнинг дастлабки концентрациясига боғлиқлиги 15-120 г/дм³

концентрация оралиғида ўрганилди ва субстратнинг бошланғич концентрацияси ортиб бориши билан парчаланган моддаларнинг сўнгги унуми 88-65%- гача (72 соатдан кейин) чизиқли камайиб бориши маълум бўлди [37].

Кашфиёт ўрмон ёғочни қайта ишлаш қишлоқ хўжалик саноатининг ўсимлик хом-ашёлари чиқиндиларни ферментатив гидролизи технологиясига таълуқли. Бу усул қуйидагиларни кўриб чиқади. *Myceliophthora termophila F-2109* замбуруғнинг термофил штаммидан фойдаланиб суюқ фазали ферментацияни амалга оширади. Суюқ фазали ферментацияда олинган крахмал, целлюлоза ва лигнин деградациясини таминловчи ферментлар сақловчи суюқ фазали фракция билан ўсимлик хом-ашёсини гидролизини амалга оширади. Ўсимлик хом-ашёсининг суюқ фазали ферментация ва ферментатив гидролизи маҳсулотлари аралашмасининг 15ммдан ошмайдиган қаватда қаттиқ фазали ферментация амалга оширади. Бунда қайта ишлаш маҳсулотни янги муҳит билан порцион сиқиб чиқариш шароитида амалга оширилади. Кашфиёт ҳайвонларнинг ошқозон ичак системасининг микрофлорасига мос келувчи замбруғ биомассасини олиш, ўсимлик хом-ашёсининг биодеградациясини ошириш имконини беради [38].

Кашфиёт углеводларни олиш усулларига таълуқли бу услуб сув ўтлари полисахарид комплексларининг пергидрол ёрдамида кимёвий гидролизининг дастлабки реакциясини кўриб чиқади. Кейинги босқичларда целлюлаза, гемицеллюлаза ва пектиназа фермент комплекслари ёрдамида углеводлар олиш билан ферментатив гидролиз реакциясини олиб боради. Бунда кимёвий ва ферментатив гидролиз реакциялари барабан типига кўп бўлимли реакторда босқичма-босқич олиб борилади. Кашфиёт сув ўтларининг полисахаридли комплексларидан юқори унум билан углеводлар олиш, ҳамда ишлаб чиқариш вақтини қисқартириши, оддий ускуналардан фойдаланиш ва ишчи сонини камайтириш ҳисобига технологик жараённи оддийлаштириш имконини беради [39].

Кашфиёт ем ишлаб чиқаришда фойдаланиш учун мўлжалланган бўлиб ҳайвонлар паррандалар балиқлар учун биологик фаол моддалар тайёрлашга қаратилган. Асосий озуқага целлюлоза сақловчи хом-ашё шунингдек целлюлоза сақловчи чиқиндиларни анаэроб шароитларда ишлов бериш қаттиқ фазали ёки оқимли ферментатив жараён ёрдамида олинган биологик фаол қўшимча киритилади. Ўсимлик хом-ашёсини ферментатив гидролизи учун олдиндан тайёрланган монокултура ёки азот фиксацияловчи, целлюлолитик ва йўлдош микроорганизмлар комплексида фойдаланилади. Микроорганизмлар комплекслари ўтхўр ҳайвонларнинг ҳазм қилиш органларининг бази қисмларидан ёки уларнинг янги аҳлатидан олинади. Препаратнинг унумдорлиги қўшимча микроорганизм штаммлари ёки селен қўшиб оширилади. Олинган биологик фаол қўшимча ҳазм қилиш жараёни самарадорлигини оширади ва юқори сорбцион хоссага эга ҳисобланади [40].

Бу усул ҳайвонлар учун озуқа олишга таълуқли. Усул донни намлаш, майдалаш ва ферментатив гидролизни ўз ичига олиб, бунда дон ва сувнинг нисбати 1:1, сувнинг ҳарорати 35-44⁰С, фермент сифатида эса 1-1,5 у/г крахмал α -амилазаси ва 1-2 у/г целлюлоза ксиланазаси ишлатилади. Усул осон ўзлаштириладиган углеводлар сақловчи маҳсулот олиш имкониятини беради [41].

Лигноцеллюлозали хом-ашёни шакарланиш усули, хом-ашёни дастлабки қўпол ва нозик майдалашни ўз ичига олади. Тайёрланган хом-ашё ферментли препарат билан ишлов берилади. Ферментли препарат сифатида *Penicillium verruculosum* ВКМ F-3972D штаммидан олинган културал суюқлик ишлатилади. Услуб бижғувчи шакарлар унумини ошириш имконини беради. Эритмада шакарнинг умумий миқдори 6,12-8 кг, глюкоза унуми 5,75 кг ёки умумий шакар миқдорининг 94% ташкил этади [42].

Бу кашфиёт ёғ-мой саноатида донли ўсимликларнинг муртагидан ўсимлик мойини олишда ишлатилиши мумкин. Кашфиётнинг мазмуни: донли ўсимликларнинг муртаги сувли шароитда амилаolitik, протиolitik ва

целлюлоза фаоллигига эга бўлган 0,5-2,0 бирлик, 0,1 - 0,5 бирлик ва 1,0 - 5,0 бирлик (мос равишда) фермент препаратларини 1 г хом-ашёга 2-3 соат давомида хом-ашёдаги крахмал клейстрланишининг қуйи температурасидан паст бўлмаган ҳароратда ишлов берилиб олинган гидролизатга хом-ашё массасидан 0,3-0,4% миқдорда трилон Б қўшилади. Кейин қаттиқ фаза ажратилиб этил спирти билан қаттиқ фаза ва этил спиртининг 1 га 0,6 дан 1-4 гача бўлган нисбатда ишлов берилади, 55-65⁰С ҳароратда намлик 7% бўлгунча қуритилади. Мой 96-100% этил спирт билан экстракция қилиниб унинг мицелладаги концентрацияси 18-22% бўлгунга қадар сув қўшиб ажратиб олинади [43].

Тажрибада целлюлозали субстратлари ферментатив гидролизи тезлигига ва гидролиз даражасига аралаштиришнинг тасири ёритилди. Бунда α-целлюлоза целлюлаза препаратидан фойдаланиб субстратнинг турли концентрияларида (2,5%; 5%; 7,5%) ва урта режимда: узлуксиз паст тезликда (25 айлана/мин), узлуксиз юқори тезликда (150 айлана/мин) ва узлукли юқори ва паст тезликда ферментализ қилинди. Узлуксиз юқори тезликли аралаштириш юқори унумларни берди. Узлукли ва паст тезликдаги ишлов бериш натижасида конверсия пасайди. 72 соатдан кейин барча бижғитувчи режимларда субстратнинг паст концентрациясидан (2,5%) фойдаланилганда унум юқори (82,79-80%), юқори концентрацияли (7,5%) субстратда эса унум пастроқ (68,63-68%) узлукли режимда субстрат концентрацияси ошириб борилиши билан конверсия унуми юқори тезликли аралаштириш натижаларига яқинлашди. Шундай қилиб узлукли режим ишлаб чиқаришда кам энергия сарфлаган ҳолда юқори унумларни беради [44].

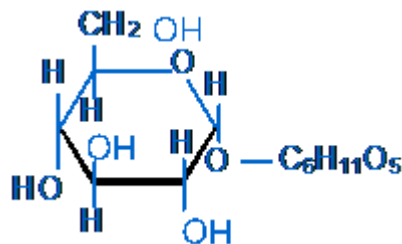
I.2. Олигосахаридларнинг муҳим вакиллари ва уларнинг қўлланилиш соҳалари

Таркибида 2 тадан 10 тагача моносахарид қолдиғи тутган, гликозид боғлари орқали боғланган углеводлар олигосахаридлардир. Улар моносахаридларнинг ангидридлари ҳисобланиб, ўсимлик ва ҳайвон организмларида учрайди. Олигосахаридлар бир хил моносахарид қолдиғидан (гомоолигосахарид) ёки турли моносахарид қолдиқларидан (гетероолигосахарид) тузилган бўлиши мумкин.

Олигосахаридлар хоссаларга кўра оддий углеводларга яқин туради. Масалан, олигосахаридлар сувда осон эриб, чин молекуляр эритмалар ҳосил қилади, кўп ҳолларда улар ширин таъмга эга, яхши кристалланади.

Гидролизланганда ҳосил бўладиган моносахаридлар молекуласининг сонига қараб олигосахаридлар дисахаридлар, трисахаридлар, тетрасахаридлар, пентасахаридлар ва ҳоказоларга бўлинади. Булардан энг аҳамиятлиси дисахаридлар, яъни биозалардир.

Гидролиз қилинганда ҳар бир молекуласи икки молекула моносахаридга парчаланадиган олигосахаридлар дисахаридлар дейилади. Дисахаридлар $C_{12}H_{22}O_{11}$ умумий формула билан ифодаланади. Улар гликозидлар типи бўйича тузилган бўлиб, ундаги агликон ролини иккинчи молекула моносахарид бажаради:



Дисахаридлар гликозидлар типига тузилганлиги учун кислотали муҳитда осон гидролизланади.

Дисахаридлар ҳосил бўлишида бир моносахарид доимо ўзининг глюкозид гидроксиди билан қатнашади, иккинчи моносахарид молекуласи эса ё глюкозид гидроксиди билан ёки бошқа бирорта спирт гидроксиди билан

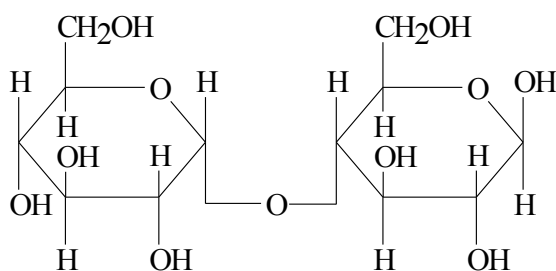
қатнашади. Агар дисахаридлар молекуласи ҳосил бўлишида бир моносахарид молекуласи глюкозид гидроксيلي, иккинчи моносахарид молекуласи эса спирт гидроксيلي билан қатнашса, бундай дисахаридлар молекуласида алдегид гуруҳга осон ўта оладиган эркин гликозид гидроксيلي бўлади (халқали-оксо-таутомерия). Бундай дисахаридлар мутаротация ҳодисасини беради, алдегидларга ҳос бўлган реакцияларга киришади - оксим ҳосил қилади, Фелинг суюқлигини осон қайтаради, "кумуш кўзгу" реакциясини беради. Шунинг учун бундай дисахаридлар қайтарувчи дисахаридлар дейилади. Малтоза, лактоза ва целлобиоза шу гуруҳ дисахаридларга киради. Иккала молекула моносахаридларининг глюкозид гидроксиллари ўзаро таъсирланиши натижасида ҳосил бўлган дисахаридларнинг молекуласида алдегид гуруҳга осон ўта оладиган гуруҳи йўқ. Бундай дисахаридлар алдегидларга ҳос реакцияларга киришмайди, оксим ва гидразонлар ҳосил қилмайди, цианид кислотани бириктириб олмайди. Шунинг учун ҳам бундай дисахаридлар қайтармайдиган дисахаридлар деб аталади. Бу дисахаридларга сахароза мисол бўлади.

Дисахаридлар молекуласида бир нечта озод спирт гидроксиллари мавжуд бўлгани учун улар кўп атомли спиртларнинг хоссаларини қайтаради: мис (II) - гидроксидни эритиб кўк рангли эритма ҳосил қилади, осон метилланади ва ацетилланади.

Қуйида биз дисахаридларнинг айрим намояндалари билан танишиб чиқамиз.

Малтоза - буғдой қанди, крахмалга диастатик ферментни таъсир эттириб олинади. Бу фермент арпа ва буғдой уруғларининг янги кўкарган майсаларида кўп учрайди. Малтоза молекуласида икки молекула D-глюкопиранозанинг қолдиқлари ўзаро α -1,4-гликозид боғ оқали бириккан. Гликозид боғ ҳосил қилишда иштирок этган аномер углерод атоми α -конфигурацияга эга, эркин глюкозид гидроксил тутган аномер углерод атоми

эса ёки α -(α -малтоза), ёхуд β -(β -малтоза) конфигурацияга эга бўлиши мумкин.

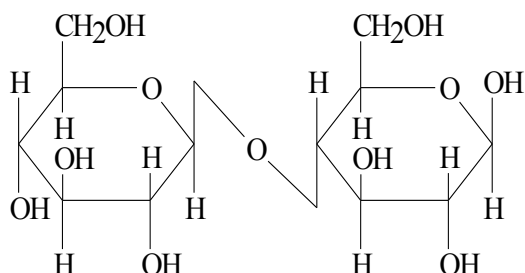


мальтоза.

4-(α -гликозидо)- глюкоза

4-(α -глюкопиранозил)-D-глюкоза
(мальтозани β -аномери)

Целлобиоза - ҳайвонот ва ўсимликлар дунёсида кўп тарқалган. Унинг солод, арпа ва жовдар уруғларининг ўсимталарида, ўрик данаги мағзида ва шиллиққуртларнинг қорин шираларида ҳам борлиги аниқланган. Целлобиоза ўзаро β -1,4-гликозид боғи орқали бириккан икки молекула D-глюкопираноза қолдиқларидан ташкил топган. Малтозадан фарқли равишда гликозид боғи ҳосил бўлишида иштирок этган аномер углерод атоми β -конфигурацияга эга:



целлобиоза.

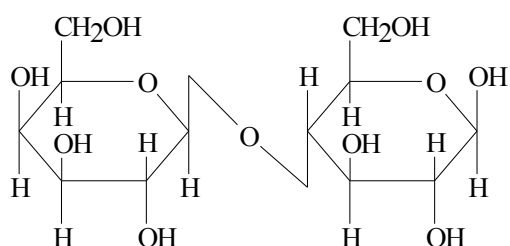
4-(β -гликозидо)- глюкоза

4-(β -D-глюкопиранозил)-D-глюкоза
(целлобиозани β -аномери)

Целлобиоза целлюлозанинг гидролизланишидан ҳосил бўлади. У малтоза каби қайтарувчи дисахаридлар, малтоза киришган кимёвий реакцияларга киришади.

Инсон организмида малтоза α -глюкозидаза (малтаза) ферменти билан парчаланади. α -глюкозидаза ферменти целлобиозани парчаламайди, целлобиоза β -глюкозидаза ферменти билан парчаланади. β -глюкозидаза ферменти инсон организмида йўқ. Шунинг учун ҳам, целлобиоза ва ундан ташкил топган полисахарид целлюлоза инсон томонидан ҳазм қилинмайди. Ваҳоланки, қавш қайтарувчи ҳайвонлар целлюлоза билан овқатланиши мумкин, чунки ҳайвонларнинг овқат ҳазм қилиш йўлларидаги бактерияларда β -глюкозидаза бўлади.

Лактоза ёки сут шакари – сутда кўпроқ учрайдиган дисахариддир. У сигир сути таркибида 4-5,5 %, аёллар сутида 5,5-8,4% бўлади. Лактоза β -1,4-глюкозид боғи билан бириккан D-галактопираноза ва D-глюкопираноза қолдиқларидан ташкил топган. Гликозид боғнинг ҳосил бўлишида иштирок этган D-галактопиранозанинг аномер углерод атоми β -конфигурацияга эга. D-Глюкопиранозанинг аномер углерод атоми эса ёки α -(α -лактоза), ёхуд β -конфигурацияга (β -конфигурацияга (β -лактоза) га бўлиши мумкин:

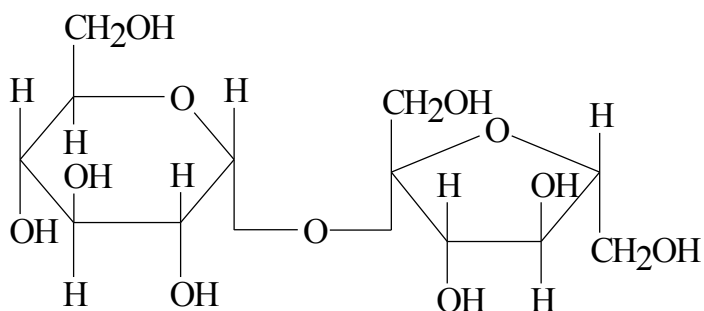


лактоза.

4-(β -галактозидо)- глюкоза4-(β -D-галактопиранозил)-D-глюкоза
(β -аномер)

Лактоза бошқа шакарлардан гигроскопик эмаслиги билан фарқланади, шунингдек фармацияда осон гидролизланувчи дори сақловчи порошоклар тайёрлашда ва ёш болалар учун пархез таомлар тайёрлашда ишлатилади. Лактозанинг аҳамияти ғоят катта, чунки у муҳим озуқа модда бўлиб, одам ва сут эмизувчи ҳайвонларнинг ўсаятган организми учун айниқса зарур.

Сахароза - шакарқамиш, қанд лавлаги (қуруқ массага нисбатан 28% гача сақланади) палма меваси ва жухорининг таркибида учрайди, у α -D-глюкопираноза ва β -D-фруктофураноза қолдиқларидан иборат. Шу сабабли сахароза халқа-оксо-таутомерияга учрамайди, эритмаси мутаротация ходисасини бермайди, қайтарувчанлик хоссасини намоён қилмайди ва Толленс ҳамда Фелинг реактивлари билан реакцияга киришмайди.



сахароза.

 α -гликозидо- β -фруктозид(α -D-глюкопиранозил)- β -D-фруктофуранозид

II-БОБ. Олинган натижалар ва уларнинг муҳокамаси

II.1. Буғдой сомони ва гуруч кепегидан полисахаридларини ажратиб олиш

Малумки, барча ўсимлик тўқималари полисахаридлар, лигнин ва кам миқдорда бошқа органик ва анорганик моддалардан ташкил топган. Целлюлоза полисахарид таркибнинг асосий қисми ҳисобланади, ҳатто унинг миқдори 90% гача етиши мумкин. Ўсимликларнинг полисахарид таркибига Целлюлозадан ташқари гемицеллюлоза ва пектинлар киради [25-29]. Миқдор жиҳатдан полисахаридлардан кейинги ўринда аниқ тузилиш формуласига эга бўлмаган полифенол табиатли бирикма - лигнин туради.

Полимерлар орасида ҳосил бўладиган тўрсимон ковалент боғланиш, ўсимлик хужайрасига мустаҳкамлик беради ва бундан ташқари уларда кечадиган барча биологик жараёнлар, шу билан бир қаторда ферментатив гидролиз реакцияларини боришини қийинлаштиради. Ўсимлик хужайрасидаги полисахаридларнинг ферментатив гидролизланиш унумини ошириш учун аввало, унинг полисахаридлар ва лигнинларнинг миқдорий нисбатларини аниқлаш ва целлюлозани ажратиб олиш керак бўлади.

Мазкур малакавий битирув ишида ферментатив гидролизни амалга ошириш учун объект сифатида буғдой сомони ва гуруч кепеги олинди. Буғдой ва гуручнинг Ўзбекистон ҳудудида кенг миқёсда экилиши, буғдой ҳосили йиғиб олингандан кейин қоладиган сомон ва гуручни қайта ишлашда ҳосил бўладиган кепакдан озуқавий қиймати ошган маҳсулотлар тайёрлаш ва уларни чорвачиликда қўшимча озуқа сифатида фойдаланиш имкониятларини очади.

Хозиргача ўрганилган адабиётларнинг таҳлили буғдой сомони ва гуруч кепегининг полисахаридлар таркиби етарлича ўрганилмаганини кўрсатди. Шу сабабли уларнинг кимёвий таркибини ўрганиш ва ферментатив гидролизни ўрганиш учун целлюлоза қисмини ажратиб олиш зарур эди.

Бунинг учун буғдой сомони ва гуруч кепагининг хар бирдан 100 гр дан тортиб олиб хона ҳароратида 2 ҳафта давомида қуритилди. Сўнг ушбу объектларни ховончада майдаланди ва уларни ёғсизлантириш ишлари олиб борилди. Бунинг учун буғдой сомони ва гуруч кепагининг кукунларини (хар бири 80 гр дан) аввал 3 марта 200 мл дан хлороформда ва сўнг 3 марта 200 мл дан гександа экстракция қилиш орқали ёғсизлантирилди. Ундан сўнг қолган чўкмаларнинг хар бирини этанол ва бензолнинг 1:2 нисбатдаги эритмаларида 24 соат давомида экстракция қилинди. Натижада экстракт олиб ташлангандан сўнг қолган чўкмалар қуритилди. Текшириш натижаларига кўра ёғсизлантирилган буғдой сомони ва гуруч кепагининг улуши бошланғич массага нисбатан тегишли равишда 95% ва 89% ташкил этиши аниқланди.

Олиб борилган илмий текширишларнинг кейинги босқичида белгиланган вазифа ёғсизлантирилган буғдой сомони ва гуруч кепагининг таркибидаги лигнинлар миқдорини ўрганиш эди. Маълумки лигнинлар Комаров ва Вильштеттер лигнинларига бўлинади. Шунинг учун ўрганилаётган объектларнинг таркибидаги ушбу лигнинларни алоҳида-алоҳида тадқиқ қилишга киришилди.

Комаров лигнинларининг миқдорини ўрганиш учун буғдой сомони ва гуруч кепагидан 5 гр дан тортиб олинди ва уларнинг хар бирига 50 мл дан 72% H_2SO_4 кўшилиб, 25°C ҳароратда 2.5 соат давомида ишлов берилди [45]. Кислотали гидролиз натижасида ажралган лигнинлар чўкмадан ажратиб олингандан сўнг, чўкмаларни дистилланган иссиқ сув билан ювилди 3 марта ювилди ва қуритилди. Натижада буғдой сомони ва гуруч кепагидаги Комаров лигнинлари мос равишда 21.4% ва 18.5% эканлиги аниқланди (1-жадвалга қаралсин).

Кейинги босқичда буғдой сомони ва гуруч кепагининг таркибидаги Вилштеттер лигнинларини аниқлаш мақсадида аввалги босқичдан қолган қуритилган чўкмаларга хлорид кислота билан ишлов берилди. Унинг учун қуритилган чўкмаларнинг хар бирига 120 мл дан HCl қуйилди [46]. Сўнг 5-

6 соат ўтгач, чўкмани ажратиб олиб сув билан нейтралланди ва қуритилди. Натижада буғдой сомони ва гуруч кепагида Вилштеттер лигнинлари миқдори куруқ массага нисбатан мос равишда 4.1% ва 3.2% эканлиги аниқланди (1-жадвалга қаралсин).

Ўтказилган тадқиқотларнинг кейинги босқичи буғдой сомони ва гуруч кепагининг таркибида целлюлозанинг миқдорини аниқлаш эди. Мазкур иш Кюршнер ва Хоффер услуби [45] ёрдамида амалга оширилди. Унинг учун делигнификация қилинган буғдой сомони ва гуруч кепагининг қолдиқларига (хар биридан 2 гр дан қўлланилди) HNO_3 ва этанолнинг 1:4 нисбатдаги аралашмасидан 25 мл дан қуйилди ва 1 соат давомида қайнатилди. Реакция вақти тугагач, реакцион массалар филтрлаб олинди, ювилди ва қуритилди. Натижада буғдой сомони ва гуруч кепагидаги целлюлозанинг миқдори мос равишда 49.2% ва 40.7% эканлиги аниқланди (1-жадвалга қаралсин).

1-жадвал

Буғдой сомони ва гуруч кепагининг лигнин ва полисахарид таркиби
(куруқ массага нисбатан % ҳисобида)

Хомашё тури	Комаров лигнинлари	Вилштеттер лигнинлари	Целлюлоза
Буғдой сомони	21.4	4.1	49.2
Гуруч кепаги	18.5	3.2	40.7

1-жадвалда келтирилган натижалар буғдой сомони ва гуруч кепагининг таркибида полисахаридларнинг миқдори мос равишда 49.2% ва 40.7% эканидан далолат бермоқда. Бу кўрсаткичлар ўз навбатида буғдой сомони ва гуруч кепагининг ферментатив гидролизлаш учун етарли даражада тадқиқот объекти бўлиши мумкинлигини асослайди.

Шу билан бирга мазкур объектларнинг таркибида Комаров ва Вильштеттер лигнинларининг нисбатан кам миқдорларда бўлиши, уларни табиий шароитларда ферментатив гидролиз қилиш вақтида, танланган рН ва хароратнинг оптимал қийматларида ижобий натижаларга эришиш ҳақида аввалдан тахмин қилиш имкониятини беради.

II.2. Буғдой сомони ва гуруч кечаги полисахаридларнинг ферментатив гидролизланиш шароитларини ўрганиш

Буғдой сомони ва гуруч кечаги полисахаридларни ферментатив гидролиз қилиш учун Ўзбекистон Фанлар Академиясининг академик Обид Содиқов номидаги Биоорганик кимё институтида аввал яратилган “Фермент препарати” дан фойдаланилди. Ушбу фермент препаратининг таркибига целлюлолитик ферментлар кирган бўлиб, унинг таркиби Целлюлаза-I (0,9%); Целлюлаза-II (0,3%); Ксиланаза-I (1,4%); Ксиланаза-II (1,1%) ва Пектиназа (1,6%) ферментларининг йиғиндисидан иборат.

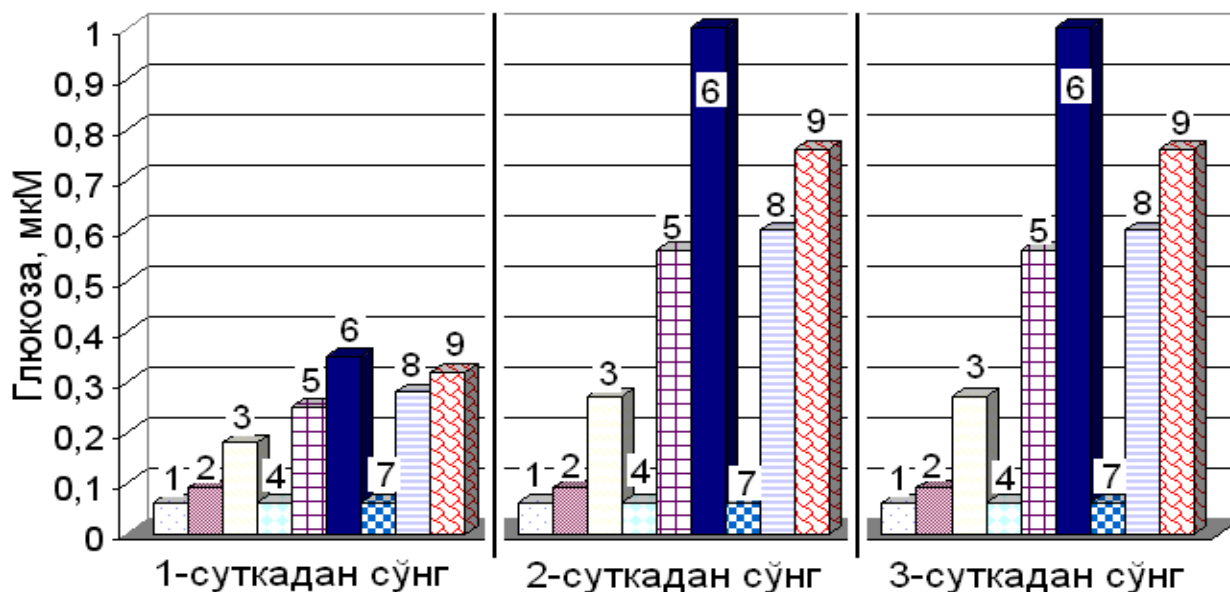
Буғдой сомони ва гуруч кечаги полисахаридларнинг ферментатив гидролизи 9 хил реакцион шароитда, яъни рН муҳитнинг 3-5 диапазонида, ҳамда ҳароратининг 20-40⁰С оралиқ қийматларида олиб борилди ва барча ҳолатларда фермент препаратининг тадқиқ қилинаётган объектларга нисбати 1:2000 ни ташкил этди.

Натижада текширилаётган полисахаридларнинг гидролизатларидан ҳар суткада олинган намуналарни эндоглюканаза фаолликка скрининг қилиш орқали ҳосил бўлаётган глюкозанинг миқдори аниқланди ва полисахаридларнинг гидролизланиш даражасига баҳо берилди. Бунда буғдой сомони ва гуруч кечаги полисахаридларнинг гидролизланиш жараёни 3 суткагача давом этди.

Қуйидаги 2-расмда (30-бетга қаралсин) буғдой сомони полисахаридларнинг 9 хил шароитда ферментатив гидролизлаш натижалари кўрсатилган.

Унда акс этирилгандек фермент препаратининг таъсирида буғдой сомонининг полисахаридлари реакцион муҳитнинг шароитига боғлиқ ҳолда турли даражада ферментатив гидролизга учраган. Айниқса 6 (рН4; 40⁰С) ва 9-шароитларда (рН5; 40⁰С) олинган натижалар алоҳида аҳамиятга эга экани яққол кўринади. Масалан, 6-шароитда ўтказилган тажрибада 1 суткадан сўнг

фермент препарати буғдой сомони полисахаридларидан 0,34 мкМ гидролиз маҳсулотини ишлаб чиқарган бўлса, 9-шароитда 0,31 мкМ ҳосил бўлган.



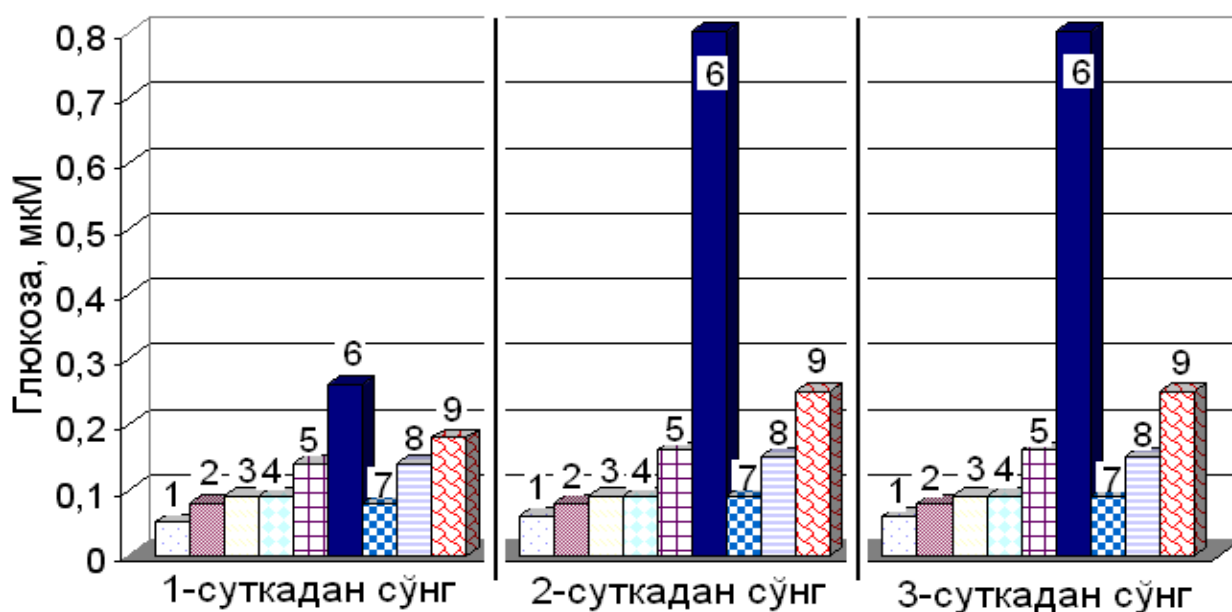
2-расм. Буғдой сомони полисахаридларнинг ферментатив гидролизланиш самарадорлиги. Тажрибалар қуйидаги шароитларда олиб борилган: 1) рН3, 20⁰С; 2) рН3, 30⁰С; 3) рН3, 40⁰С; 4) рН4, 20⁰С; 5) рН4, 30⁰С; 6) рН4, 40⁰С; 7) рН5, 20⁰С; 8) рН5, 30⁰С; 9) рН5, 40⁰С.

Реакция вақтини 2 суткага узайтириш натижасида гидролиз маҳсулотларининг қиймати кескин кўтарилиб, 6-шароитда ўтказилган тажрибада 1,0 мкМ, ва 9-шароитда 0,75 мкМ га эришган. Ферментатив гидролиз вақтини 3 суткагача узайтириш натижасида 6 ва 9-шароитда ўтказилган тажрибаларда маҳсулотнинг қиймати 2 суткага нисбатан ўзгармай қолиши аниқланди. Агар 6 ва 9-шароитда ўтказилган тажрибаларда 2 суткадан сўнг олинган натижаларни ўзаро солиштирсак 6-шароитда ҳосил бўлган маҳсулотнинг унуми юқори экани кузатилди.

Гуруч кечаги полисахаридларининг фермент препарати билан 9 хил шароитда ферментатив гидролизлаш натижалари 3-расмда акс эттирилган (31-бетга қаралсин).

Унга кўра ҳам, турли шароитларда ферментатив гидролиздан ҳосил бўлаётган маҳсулотнинг қийматлари турлича бўлди. Шунини таъкидлаш лозимки, гуруч кечаги полисахаридларини ферментатив гидролиз қилиш учун энг оптимал шароит, худди буғдой сомони полисахаридларининг гидролизида аниқланганидек 6-тажрибада қўлланилган реакция муҳитининг

pH4 ва 40⁰C ҳароратга мос келди. Яъни мазкур шароитда гуруч кепаги полисахаридларини 1 сутка давомида ферментатив гидролиз қилиш натижасида қолган шароитларга нисбатан юқориқ даражада глюкоза (0,24 мкМ) ҳосил бўлган бўлса, 2 сутканинг охирига келиб унинг миқдори қолган шароитдагиларга нисбатан анча ўсиб кетди ва 0,8 мкМ ни ташкил этди. Реакцион жараённинг 3 суткасида эса барча шароитларда ҳосил бўлган маҳсулотнинг миқдорлари 2 суткага нисбатан деярли ўзгармай қолиши маълум бўлди.



3-расм. Гуруч кепаги полисахаридларининг ферментатив гидролизланиш самарадорлиги. Таҷрибалар қуйидаги шароитларда олиб борилган: 1) pH3, 20⁰C; 2) pH3, 30⁰C; 3) pH3, 40⁰C; 4) pH4, 20⁰C; 5) pH4, 30⁰C; 6) pH4, 40⁰C; 7) pH5, 20⁰C; 8) pH5, 30⁰C; 9) pH5, 40⁰C.

Агар буғдой сомони ва гуруч кепаги полисахаридларининг ферментатив гидролиздан олинган натижаларни ўзаро таққосланса, барча шароитларда ҳам ферментатив гидролиз гуруч кепаги полисахаридларига нисбатан буғдой сомони полисахаридларида самарали тарзда кечгани кўринади. Бу эса қийин гидролизланувчи полисахарид қисмларнинг миқдори гуруч кепаги полисахаридларида буғдой сомони полисахаридларига нисбатан каттароқ эканидан далолат беради.

Шундай қилиб олинган натижалар буғдой сомони ва гуруч кепаги полисахаридларини ферментатив гидролиз қилиш учун қўлланилган 9 та

шароитлар орасида фақатгина муҳитнинг рН қиймати 4 ва 40⁰С ҳароратда (6-шароит), 2 сутка мобайнида иккала намунанинг гидролизи оптимал даражада бўлишини кўрсатди.

III-БОБ. ТАЖРИБАВИЙ ҚИСМ

III.1. Фойдаланилган материаллар

Целлюлолитик фермент препарати Ўзбекистон Фанлар Академиясининг академик Обид Содиқов номидаги Биоорганик кимё институтидан олинган.

III.2. Фойдаланилган реактивлар

Ушбу ишда қуйидаги реактивлардан фойдаланилди:

- Натрий сульфат (Na_2SO_4) «КТ» ГОСТ 4171-76;
- Натрий калий тартрат($\text{C}_4\text{O}_6\text{H}_4\text{NaK}$) «ат» ГОСТ 5845-74;
- Натрий карбонат (Na_2CO_3) «КТ». ГОСТ 83-79;
- Натрий гидрокарбонат (NaHCO_3) «КТ» ГОСТ 4201-79;
- Мис куппороси ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) «Т» ГОСТ 4165-78;
- Амминий молибдат кристалогидрати ($(\text{HN}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) «Т» ГОСТ 3765-78;
- Натрий гидроарсенат (Na_2HAsO_4);
- Концентранган сульфат кислота (H_2SO_4) «КТ» ГОСТ 4204;
- Сирка кислота (CH_3COOH);
- Натрий гидроксид (NaOH);
- Гексан (C_6H_{14});
- Хлороформ (CHCl_3);
- Етанол ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$);
- Бензол (C_6H_6);
- Хлорид кислота (HCl);
- Нитрат кислота (HNO_3);
- Дистилланган сув (H_2O);

III.3. Фойдаланилган асбоблар ва ускуналар

Ушбу ишда қуйидаги асбоб, ускуналар ва идишлардан фойдаланилди:

Аналитик тарози Torsion Balance В. ЛБЕ-404. Венгрия;

Электрон тарози СУW 220 Х. № Д454000207;

Сув җаммоми;

Термостат ТС-80М. 220 В. 50 Гц. 180 Вт. ТУ 64-1-1382-76. Россия;

Центрифуга «К-23». Германия;

Спектрофотометр “SPEKOL 1300” Германия;

Пипеткалар “GILSON” Франция;

Магнитли аралаштиргич ММ-5. ТУ 25-11. 834-80. 220 В. 50 Г. Россия;

Насос: “GILSON” Франция

Тегирмон “Циклон”

Шиша филтр №1;

Чинни ховонча;

Мензуркалар 50, 100, 250, 500 ва 1000 мл;

Конуссимон колбалар 100, 250, 500 ва 1000 мл;

Конуссимон пробиркалар 10 мл. ГОСТ 1770-74;

Филтр қоғоз ДДР-9303. Ниедершлаг. Пост Буренстеин. № 89;

pH -метр РНМ-63 “Радиометер” Дания;

III.4. Айрим ўсимлик полисахаридларини ажратиш олиш

Хом-ашёни тайёрлаш.

100 гр қуритилган буғдой сомони ва гуруч кепаги бирма-бир ховончада бир хил массага келгунча майдаланди. Сўнгра ёғсизлантириш мақсадида гексан сўнгра хлороформ билан ишлов берилди. Ёғсизлантиришдан сўнг олинган масса этанол ва бензолнинг 1:2 ҳажмли 200 мл эритмасида 24 соат мобайнида (3 марта 8 соатдан) [45] услубида экстракция қилинди. Экстракциядан олинган буғдой сомони ва гуруч кепаги қуритилди ва уларнинг миқдори дастлабки массага нисбатан фоиз улушида топилди. Сўнгра “Циклон” тегирмонида ун ҳолатига келгунча майдаланди.

Комаров лигнинларни ажратиш.

Сулфат кислотада эрийдиган лигнинларни ажратиш учун Комаров услубидан фойдаланилди [45]. Бунинг учун сомон ва кепадан 5 грдан олиб конуссимон колбаларга солинади ва ҳар бирига 72% ли 50 мл H_2SO_4

қуйилди. Жараён 25°C ҳароратда 2.5 соат давомида тинимсиз аралаштириб турган ҳолатда олиб борилди. Сўнгра реакцион аралашма 200 мл дистилланган сув билан суюлтирилди ва 1 соат давомида қайнатилди. Шундан кейин реакцион аралашма шиша филтрдан №1 ўтказилди, олинган лигнин рН кўрсаткичи нейтрал ҳолатга келгунча иссиқ дистилланган сув билан ювилди ва қуритилди. Олинган маҳсулот миқдори дастлабги ҳақиқий ёғсизлантирилмаган массага нисбатан фоиз улушида топилди.

Вилштеттер лигнинларни ажратishi.

Бу вазифа Вилштеттер [46] услуби ёрдамида амалга оширилди. Бунинг учун олдинги босқичдан қолган чўкмалар алоҳида колбаларга солинди, 120 млдан ($\rho=1,22\text{г/см}^3$) HCl қуйилди ва олинган суспензион аралашма 35 мин мобайнида уй ҳароратида аралаштирилди. Аралашма чўкма ва кислотали эритмага ажратилди ва эритмага 50 мл музли сув солинди ва 5-6 соатга қолдирилди. Олинган чўкмалар филтрланди, рН кўрсаткичи нейтрал ҳолатга келгунча дистилланган сув билан ювилди ва қуритилди. Олинган маҳсулот миқдори дастлабги ҳақиқий ёғсизлантирилмаган массага нисбатан фоиз улушида топилди.

Целлюлоза миқдорини аниқлаш.

Целлюлозанинг миқдорий анализи Кюршнер ва Хоффер услуби [46] ёрдамида аниқланди. Бунинг учун олдинги босқичларда делигнификация қилинган буғдой сомони ва гуруч кепаги қолдиқларидан 2 гр дан олиб 50 мл ҳажмли конуссимон колбаларга солинди ва устига концентрланган HNO_3 ва $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ нинг 1:4 нисбатдаги аралашмасидан 25 мл қуйилди. Реакцион аралашма 1 соат давомида қайнатилди. Аралашма совутилгандан кейин шиша филтрдан ўтказилди ва нейтрал муҳит ҳосил бўлгунга қадар дистиллинган сувда ювилди, сўнгра доимий массага келгунча қуритилди. Олинган целлюлозанинг миқдори дастлабки массага нисбатан фоиз улушида аниқланди.

III.5. Буғдой сомони ва гуруч кемаги полисахаридларнинг ферментатив гидролизланиш шароитларини ўрганиш

Эндоглюканаза фаолликни аниқлаш (Wood ва Bhat услуби [48])

Фермент препарати эритмасини тайёрлаш:

Фермент препаратининг 1,0 мгр миқдори 10 мл дистилланган сувда эритилди.

Буғдой сомони эритмасини тайёрлаш:

3 та колбага 1 гр дан буғдой сомони кукуни солинди ва 80 мл дистилланган қайноқ сув қуйиб бўктирилди ва 20 минут магнитли аралаштиргичда аралаштирилди. Эритмалар хона ҳароратигача совитилгач, уларга 5 мл 2М CH_3COONa буфери (рН 3; 4; 5) қўшилди ва дистилланган сув билан эритмаларнинг якуний ҳажми 100 мл га келтирилди.

Гуруч кемаги эритмасини тайёрлаш:

3 та колбага 1 грдан гуруч кемаги кукуни солинди ва 80 мл дистилланган қайноқ сув қуйиб бўктирилди ва 20 минут магнитли аралаштиргичда аралаштирилди. Эритмалар хона ҳароратигача совитилгач, уларга 5 мл 2М CH_3COONa буфери (рН 3; 4; 5) қўшилди ва дистилланган сув билан эритмаларнинг якуний ҳажми 100 мл га келтирилди.

2М рН 3 натрий ацетат буфер эритмасини тайёрлаш: 3 гр CH_3COOH (1,05 г/мл) 400 мл дистилланган сувда эритилди ва унга 5 М NaOH эритмасидан томчилаб қўшиш орқали эритманинг рН 3 га келтирилди. Эритманинг якуний ҳажми 0,5 л бўлгунга қадар дистилланган сув қўшилди.

2М рН 4 натрий ацетат буфер эритмасини тайёрлаш: 3 гр CH_3COOH (1,05 г/мл) 400 мл дистилланган сувда эритилди ва унга 5 М NaOH эритмасидан томчилаб қўшиш орқали эритманинг рН 4 га келтирилди. Эритманинг якуний ҳажми 0,5 л бўлгунга қадар дистилланган сув қўшилди.

2М рН 5 натрий ацетат буфер эритмасини тайёрлаш: 3 гр CH_3COOH (1,05 г/мл) 400 мл дистилланган сувда эритилди ва унга 5 М NaOH эритмасидан

томчилаб қўшиш орқали эритманинг pH 5 га келтирилди. Эритманинг якуний ҳажми 0,5 л бўлгунга қадар дистилланган сув қўшилди.

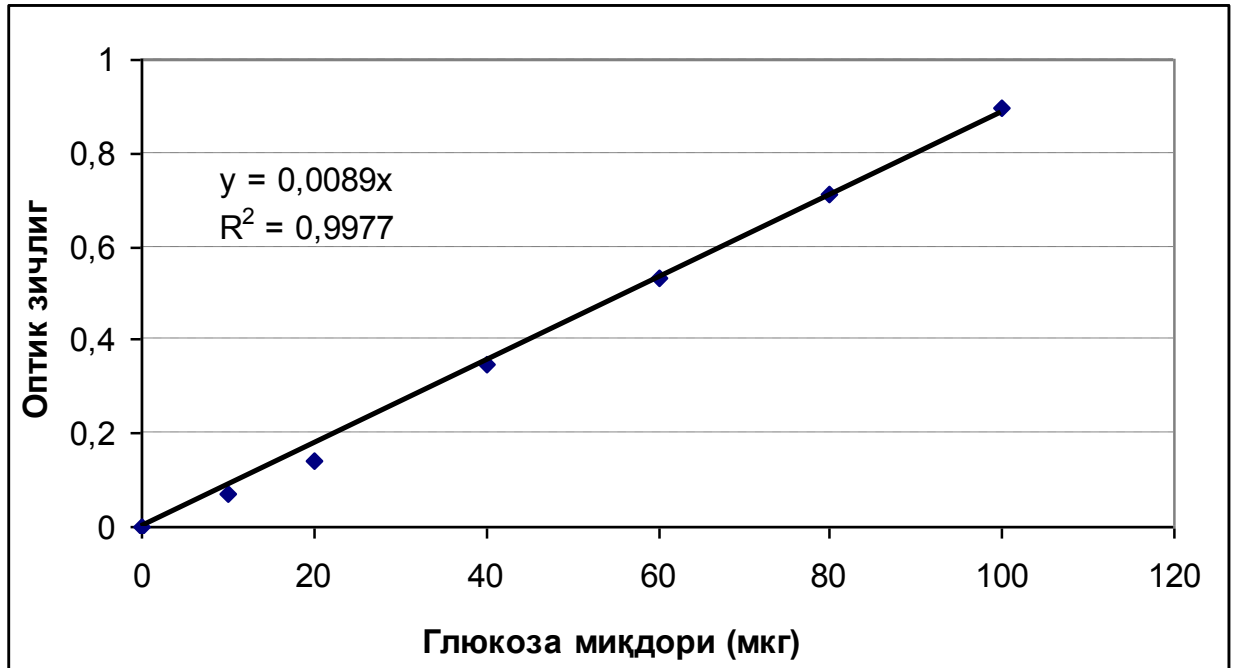
Самоджи-1 эритмасини тайёрлаш: Na_2SO_4 (108гр) тузи 1 л қайноқ дистилланган сувда эритилди ва унга яна Na/K-тартрат (9 гр), Na_2CO_3 (18 гр), NaHCO_3 (12 гр) тузлари қўшиб эритилгач, унинг якуний ҳажми 800 мл бўлгунга қадар дистилланган сув қўшилди.

Самоджи-2 эритмасини тайёрлаш: Na_2SO_4 (72 гр) тузи 300 мл қайноқ дистилланган сувда эритилди ва унга яна CuSO_4 (8 гр) тузи қўшиб эритилгач, унинг якуний ҳажми 400 мл бўлгунга қадар дистилланган сув қўшилди.

Нельсон эритмасини тайёрлаш: 1) Аммоний молибдат (50 гр) тузи 858 мл дистилланган сувда эритилди; 2) Na-арсенат (6 гр) тузини 100 мл дистилланган сувда эритиб унга концентрланган H_2SO_4 (42 мл) қўшилди; 3) 1 ва 2-эритмаларни бир бирига аралаштириб 48 соат мобайнида 37°C да инкубация қилинди.

Ферментатив фаолликни аниқлаш: Бунинг учун 1% pH(3; 4; 5;) буғдой сомони ва гуруч кепаги эритмаларидан 2 мл дан ва фермент препарати эритмасидан 0,1 мл олиб аввал 10 минут 30°C ҳароратда иситилди ва уларни бир бирига аралаштириб 30°C да инкубация қилиш учун термостатга қўйилди. 24, 48 ва 72 соатдан кейин улардаги глюкоза миқдори ўлчаниб борилди. Бунинг учун намуналардан 50 мкл дан алиқвот қисм олиб ҳар бирига Самоджи-1 ва Самоджи-2 эритмаларининг 4:1 нисбатдаги аралашмасидан 1,0 мл дан қўшилди ва 15 минут мобайнида қайнатилди. Реакцион аралашмалар хона ҳароратигача совутилгач, унга 1,0 мл Нельсон реагенти қўшиб кетидан 2,0 мл дистилланган сув билан суюлтирилди. Натижада парчаланмай қолган юқоримолекуляр фракциялар чўкмасини 10 минут давомида 3000 айлана/минут тезлигида центрифугалаб ажратиб ташланди. Сўнг супернатантдаги кўк рангнинг интенсивлиги УБ спекترینинг 520 нм тўлқин узунлиги соҳасида ўлчанди. Текширилаётган намунадаги ферментатив фаоллик глюкоза учун тузилган калибровка эгри

чизиғи орқали ҳисобланди 4-расм. Юқоридаги кетма-кетликлар ҳароратнинг 40°C ва 50°C қийматларида такрорланди ва турли шароитлардаги ферментатив фаолликлар ҳисобланди.



4-расм. Глюкоза миқдорини аниқлашнинг калибровка эгриси

ХУЛОСАЛАР

1. Тадқиқот объекти сифатида танлаб олинган буғдой сомони ва гуруч кепегидан лигнин ва полисахарид фракциялар ажратиб олинди. Олиб борилган тадқиқот натижаларига кўра, буғдой сомони ва гуруч кепегидан мос равишда % ҳисобида: Комаров лигнинлари 21.4 ва 18.5; Вилштеттер лигнинлари 4.1 ва 3.2; ҳамда целлюлозанинг миқдори 49.2 ва 40.7 ни ташкил этди;
2. Буғдой сомони ва гуруч кепеги полисахаридларнинг ферментатив гидролизланиш шароитлари ўрганилди. Бунда барча тадқиқотлар 9 хил реакцион шароитда, яъни pH муҳитнинг 3-5 диапазонида, ҳамда ҳароратининг 20-40⁰C оралиқ қийматларида олиб борилди. Олинган натижаларга кўра қўлланилган 9 та шароит орасида фақатгина муҳитнинг pH қиймати 4 ва 40⁰C ҳароратда (6-шароит), 2 сутка мобайнида иккала намунанинг гидролизи оптимал даражада бўлиши аниқланди.

Фойдаланилган адабиётлар рўйхати

1. Тарабукин Д.В. /Ферментативные технологии направленной биоконверсии целлюлозо-и крахмалсодержащего растительного сырья. //Биотехнология. 2009 г. С: 3-4.
2. Murad, H.A. /Cellulase and dairy animal feeding. // Biotechnol. – 2010. – Vol. 9, № 3. – P.238–256.
3. Гусаков А.В., Синицын А.П./ О механизме действия ферментов-целлюлаз на текстильные материалы: взгляд энзимологов. //Текстильная химия, 1998 г., Т2, №14, С: 68-72.
4. Tikhomirov, D.F., Baraznenok, V.A., Becker, E.G., Sinitsyn, A.P. Novel /Enzymes and Technologies in Denim Wash. 213th ACS National Meeting, //Abstracts of papers, part I, 1996 г. №105.
5. Овчинников Ю.А. /Биоорганическая химия. Москва “Просвещение” 1987 г. С:176-179.
6. Doolotkeldieva, T.D. /Screening of Wild-Type Fungal Isolates for Cellulolytic Activity T.D. Doolotkeldieva, S.T Bobusheva // Microbiology Insights. – 2011. – Vol. 4. – P:1–10.
7. Bajpai, P. /Application of enzymes in the pulp and paper industry. P. Bajpai // Biotechnol. Prog. – 1999. – Vol. 15. – P: 147–157.
8. Берлин А.Х., Тихомиров Д.Ф., Гутьеррес Б.Р., Гусаков А.В., Попова Н.Н., Синицын А.П./Оценка топоферментной активности целлюлаз и ксиланаз. //Прикл. биохим. и микробиол. 1998 г. № 34, С: 382-387.
9. Осипов Д.О. /Получение и характеристика мультиферментных комплексов карбогидраз и исследование их эффективности при осахаривании различных видов целлюлозосодержащих материалов. //Биохимия. Москва. 2011г.
10. Silas B.Ch., Busiswa G., Ignatious N., Elbert J.V., Andrew C. and Emil K.A. /Production, purification and characterization of cellulase-free xylanase from

Aspergillus terreus UL 4209. //African Journal of Biotechnology 2008 y. P:3939-3948

11. Van Hanh Vu, Tuan Anh Pham и Keun Kim. /Улучшение штаммы грибов для продуцирования целлюлозы с использованием регулярных и последовательных мутагенов. //Отдел Бионауки и Биотехнологии, Корея. 2009 y., С: 445-743.
12. Merivuori H., Sands J.A., and Montenecourt B.S./Effects of tunicamycin on secretion and enzymatic activities of cellulase from *Trichoderma reesei*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1985 г P:60-66.
13. Wood T.M., and McCrae S.I./The isolation, purification and properties of cellobiohydrolase component o *Penicillium funiculosum* cellulase. //Biochemistry J., 1980 y P:51-65.
14. Hall J., Hazlewood G.P., Barker P.J., et al. /Conserved reiterated domains in *Clostridium thermocellum* endoglucanases are not essential for catalytic activity. Gene, 1988 y № 69, P:29-38.
15. Gilad, R., Rabinovich, L., Yaron, S., Bayer, E. A., Lamed, R., Gilbert, H. J., and Shoham, Y. Cell, /A non-cellulosomal family-9 enzyme from *Clostridium thermocellum*, is a processive endoglucanase that degrades crystalline cellulose.J. //Bacteriol. 2003 y №185,P:391-398.
16. Jindou, S., Xu, Q., Kenig, R., Shoham, Y., Bayer, E. A., and Lamed, R. / Novel architectural theme of family-9 glycoside hydrolases identified in cellulosomal enzymes of *Acetivibrio cellulolyticus* and *Clostridium thermocellum*. //FEMS Microbiol. Lett. 2006 y №254, P:308-316.
17. Грачёва И.М. /Технология ферментных препаратов. Элевар, 2000 г.
18. Бутова С.Н. /Биотехнологическая деградация отходов растительного сырья. М// Россельхозакадемия, 2004 г.
19. Бирюков В.В. /Основы промышленной биотехнологии. М.: Колос С. – 2004 г. С: 296.

20. Deepmoni Deka, P. Bhargavi, Ashish Sharma, Dinesh Goyal, M. Jawed, and Arun Goyal. /Enhancement of Cellulase Activity from a New Strain of *Bacillus subtilis* by Medium Optimization and Analysis with Various Cellulosic Substrates//2011 y, Article ID 151656, P:8.
21. Mirzaakhmedov Sh.Ya., Ruzmetova D.T., Berdiev N.Sh. Effects of *Aspergillus terreus* Enzymes on Yield of Tomato and Pomegranate Seed Oils. Материалы конференции с международным участием //«Актуальные проблемы химии природных соединений», Ташкент, 2010 С:190.
22. Устинников Б.А., Сергиенко Н.Н., Губрий Г.Г., Пыхова С.В. /Способ производства этилового спирта из зернового сырья. //"Туласпирт" (Россия). Тип: патент на изобретение. №: 2041950. 1995 г.
23. Карпов С. А. /Технология производства экологически чистого этанола. //Химическая технология. Москва. Тип: статья в журнале - научная статья. Том: 8. №: 6. 2007 г. С: 257-262.
24. Постникова М.В., Митракова М.Е. /Макулатура - сырье для производства биоэтанола. //Химическая технология и биотехнология. Пермь. Тип: статья в журнале - научная статья. №: 14. 2012 г. С: 148-155.
25. Чиффэло Роджер, Лайтсей Джордж Р./Способ производства этанола из целлюлозосодержащих отходов (варианты) и способ получения глюкозы из целлюлозосодержащих отходов.// Россия. Тип: патент на изобретение. №: 2159816. 2000 г.
26. Привалова Е. А., Фомина Е. С., Евстафьев С. Н. /Влияние компонентного состава соломы на скорость ферментативного гидролиза целлюлозы. //Иркутск. Тип: статья в журнале - научная статья. Том: 47 №: 7. 2010 г. С: 156-160.
27. Хольм К. Б., Герлах Л. Х. /Способ превращения целлюлозного материала в этанол.//ИНБИКОН А/С. Тип: патент на изобретение №: 2432368.2011 г.

28. LI С./Ферментативный гидролиз целлюлозы из различных источников отходов и их осуществимости качестве сырья для производства этанола. //Канада. Тип: диссертация .2004 г.
29. Скиба Е.А., Будаева В. В., Макарова Е. И., Павлов И. Н /Ферментативный гидролиз целлюлоз плодовых оболочек овса. //Казань. Тип: статья в журнале - научная статья. Том: 16№: 20. 2013г С: 195-198
30. Макарова Е.И. /Результаты ферментации целлюлозы мискантуса в ацетатном буфере и водной среде. //Химия в интересах устойчивого развития. Новосибирск. Тип: статья в журнале - научная статья. Том: 21. №: 2. 2013 г. С: 219-225.
31. Скиба Е.А., Будаева В.В., Павлов И.Н., Макарова Е.И., Золотухин В.Н.,СаковичГ.В. /Получение ферментативных гидролизатов технических целлюлоз мискантуса и их спиртовое брожение. //Биотехнология . Москва. Тип: статья в журнале - научная статья. №: 6. 2012 г. С: 42-53.
32. Голязимова О.В., Политов А. А.,Ломовский О. И. /Механическая активация ферментативного гидролиза лигноцеллюлозы. //Химия растительного сырья. Барнаул. Тип: статья в журнале - научная статья. №: 2. 2009 г. С: 59-64.
33. БудаеваВ.В., Удоратина Е.В.,Кувшинова Л.А., Щербакова Т.П.,Кучин А. /Получение лигноцеллюлозных материалов из недревесного сырья и исследование их в качестве субстратов ферментативного гидролиза. //Барнаул. Тип: статья в журнале - научная статья. №: 1. 2013 г. С: 215-219.
34. Шутова В. В., Юсипович А. И., Паршина Е. Ю., Захаркин Д. О., Ревин В. /Эффективность ферментативного гидролиза полисахаридов ультрадисперсных частиц лигноцеллюлозного сырья в зависимости от их размера. //Москва. Тип: статья в журнале. Том: 48 №:3. 2012 г. С: 346.

35. Павлов Д.С., Наумова Е.И., Ушакова Н.А., Нестерова Н.Г., Жарова Г.К.
/Способ приготовления корма для животных из растительного сырья
//Россия. Тип: патент на изобретение. №: 2153813. 2000 г.
36. Орлова В.С., Кодитувакку А.Диас Э., Филатов Н.Н., Шаимов Р.Г.
/Способ получения глюкозы из целлюлозосодержащего сырья,
преимущественно отходов пивного производства. //Тип: патент на
изобретение №: 2223327. Россия. 2004 г.
37. Макарова Е. И., Будаева В. В., Скиба Е. А. /Ферментативный гидролиз
целлюлоз из плодовых оболочек овса при различных концентрациях
субстрата. //Тип: статья в журнале – научная. № 2 . 2013 г С: 43-50.
38. Редикульцев Ю.В., Кудряшов В.К., Шкидченко А. Н./Способ переработки
отходов растительного сыр. РАН. Тип: патент на изобретение
№: 2354135. 2009 г.
39. Галынкин В. А., Гарабаджиу А. В., Еникеев А. Х./Способ получения
углеводов гидролизом полисахаридных комплексов водорослей
(варианты). //Тип: патент на изобретение №: 2430114. 2011 г.
40. Ушакова Н.А., Наумова Е.И., Павлов Д.С., Чернуха Б.А./Способ
получения биологически активной кормовой добавки из растительного
сырья. //Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова
РАН. Тип: патент на изобретение №: 2202224 2003г
41. Бадаева Н.В., Киселев Р.П., Кочкин С.С./Способ получения кормовой
патоки. //ООО ПО "Сиббиофарм" Тип: патент на изобретение
№: 2265364 2005 г.
42. Давидов Е.Р., Каныгин П.С., Фракин О.А., Черемнов И.В./Способ
осахаривания лигноцеллюлозного сырья. //Дэвон инвестмент лимитед.
Тип: патент на изобретение №: 2405838. 2010 г.
43. Кислухина О.В., Минасян Н.М., Кретов В.Н., Труханов А.А./Способ
получения растительного масла из зародышей зерновых культур.
//Тип: патент на изобретение №: 2074239 1997 г.

44. Ingesson H., Zacchi G., Yang B., EsteghlaliaN A.R., Saddler J.N./Эффект тряски режима на скорость и степень ферментативного гидролиза целлюлозы. //Тип: статья в журнале - краткое сообщение. Том: 88 №: 2. 2001 г С:177-182
45. Obolenskaya, A.V., Shegoleva, V.P., Akim, G.L., Akim, E.L., Kossovich, N.L., Emel'yanova, I.L./ Practical works on wood and cellulose chemistry.// Wood industry, Moskow, 1965 y. P:411 (*in Russian*).
46. Brouns, F.E., Brouns, D.A., Lignin chemistry. //Wood industry, Moskow, 1964 y. P:863 (*in Russian*).
47. Gann, P.H., Khachik, F./Tomatoes or lycopene versus prostate cancer: is evolution anti-reductionist? J. Natl. //Cancer Inst. 5, 95(21), 1563-1565.
48. Bhat, M.K. /Cellulases and related enzymes in biotechnology /M.K. Bhat // Biotechnol. Adv. – 2003. – Vol. 18, № 5. – P: 355–383.