

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ
ВАЗИРЛИГИ**

ТОШКЕНТ КИМЁ-ТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ

«ОЗИҚ-ОВҚАТ МАХСУЛОТЛАРИ ТЕХНОЛОГИЯСИ»

ФАКУЛЬТЕТИ

“БИОТЕХНОЛОГИЯ” КАФЕДРАСИ

“Биотехнология асослари” фанидан

РЕФЕРАТ

МАВЗУ: Ферментлар

Бажарди: Аҳмедова М.

Қабул қилди: Нурмухамедова В.З.

2013 йил

ФЕРМЕНТЛАР

Режа:

1. Ферментлар ҳақида умумий тушунча ва уларнинг халқ хўжалигидаги аҳамияти;
2. Ферментлар ишлаб чиқариш технологияси;
3. Ферментатив продуцентларни ўстириш;

Ферментлар (энзимлар) - хилма-хил биокимёвий ва кимёвий реакцияларни амалга оширувчи оксил табиатига эга бўлган биокатализаторлардир.

Ферментлардан биологик катализатор сифатида одамлар, турли хил соҳадаги амалий фаолиятларида кенг фойдаланиб келишмоқда. Ферментлар манбаи ҳайвон тўқималари, ўсимликлар хужайралари ва микроорганизмлар бўлиши мумкин. Ҳозирги замонда икки мингдан ортиқ ферментлар борлиги аниқланган, улардан бир неча юзтаси алоҳида модда сифатида тоза ҳолда ажратиб олинган.

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. Бунинг устига кўпгина микроорганизмлар ферментларни ўз хужайра қобикларидан ташқарига чиқарадилар, бу эса микроорганизмлардан янада фаолроқ фойдаланиш имкониятини яратади.

Метаболизмнинг катта интенсивлигидан ташқари микроорганизмлар биомассасини ўсиш тезлиги жуда каттадир. Бу қисқа вақт орлиқида айрим вақтлари 24-72 соат ичида фермент ажратиш учун жуда катта миқдорда ҳам-ашё олиш мумкин, уни ҳайвон ва ўсимлик хом ашёлари билан солиштириб бўлмайди.

Кўплаб микроорганизмларнинг муҳим хусусиятларидан яна бири улар озуқа сифатида ҳар хил чиқиндилардан фойдаланиб ўсиш қобилиятига эгадирлар (целлюлоза, нефт углеводородлари, метан, метанол ва бошқалар). Микроорганизмлар фойдалана оладиган айрим хом-ашёлар одам ва ҳайвонлар учун захарлидир. Шундай экан микроорганизмлар ферментлар синтез қилиш билан бир қаторда, атроф-муҳит муҳофазаси учун ҳам хизмат қиладилар.

Айрим ферментларнинг синтезланиш миқдори микроорганизмлар хужайрасида жуда юқори бўлиши мумкин. Масалан: рибулезобисфосфаткарбоксилазанинг миқдори айрим вақтларда фототроф бактериялар синтез қиладиган сувда эрийдиган оксилнинг 40-60% ни ташкил этади.

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 таълуқлидир. Бир қанча ферментлар фақат микроорганизмлардагина учрайди. Молекула ҳолидаги азотдан аммиак ҳосил қилишда иштирок этадиган нитрогеназа ферменти азотни ўзлаштириш қобилиятига эга бўлган бактериялардагина учраши аниқланган.

Айрим бактерияларнинг ҳарактерли хусусиятларидан яна бири уларнинг аорганик субстратларни: аммиакни, нитритларни, сульфид ва олтингугуртни бошқа бирикмаларини, ва шунга ўхшаш икки валентли темирни оксидлаш қобилиятидир. Бундай жараёнларни амалга ошириш микроорганизмларда алоҳида ферментларнинг мавжудлиги билан боғлиқдир. Бир қанча бактериялар ва сув ўтлари молекула ҳолидаги водород ҳосил қилиши ҳамда оксидланиш-қайтарилиш реакцияларини олиб борувчи дегидрогеназа ферментлари сақлаши аниқланган.

Кўпчилик бактериялар уларга метан, метанол, метилланган аминларни, углерод оксидини ва бошқа бир хил углеродли бирикмалардан субстрат сифатида фойдаланиб, ўсиш ва ривожланишга ёрдам берадиган ферментларни синтезлаш қобилиятига эга. Атроф

муҳитни, уни ифлослантирувчи бир қанча моддалардан тозалаш микроорганизмлар ишлаб чиқарадиган ферментлар ҳисобига амалга оширилади, улар пластмасса, пестицидларни ва бошқа заҳарли мураккаб бирикмаларни оддий таркибий қисмга парчалаб юборадилар.

Ферментлар классификацияси. қабул қилинган классификация тизимига биноан ҳамма ферментлар олти синфга бўлинади:

Оксидоредуктазалар;

Трансферазалар;

Гидролазалар;

Лиазалар;

Изомеразалар;

Лигазалар (синтетазалар).

Кенг миқдорда қўлланиладиган микроорганизмлар ферменти - гидролазалар синфига қирувчилардир (гликозидазалар, пептидазалар ва бошқалар).

Булар гликозид, пептид, эфир ва айрим бошқа боғларга сув иштирокида таъсир қилади. Гидролазалар кўпинча хужайра ташқарисидаги (экзоген) ферментлардир. хужайрадан чиқиб, улар културал муҳитда тўпланади. Бу ферментларни олиш хужайра ичидаги (эндоген) ферментларни ажратишга нисбатан қулай ва арзондир.

Гликозидазалар. *Гликозидазалар* -гликозид боғларини гидролиз қилувчи ферментлардир. Булар кўп вақтлардан бери ўрганилади ва ишлатилади. Бу гуруҳга крахмални гидролиз қилувчи амилolitik ферментлар, β-амилазалар ва гликоамилазалар қиради. Кўп микроорганизмлар α-амилаза ҳосил қилади, β-амилаза синтези эса кам кузатилади.

Амалий мақсадларда қўлланиладиган α-амилазани ажратувчи *Bacillus licheniformis*, *Bac.amyloliquefaciens*, *Aspergillus oryzae* ва бошқа микроорганизмлардир. α-амилаза *Bac. licheniformis* дан олинадиган жуда юқори ҳароратга чидамли ва крахмални 100⁰С атрофидаги ҳароратда гидролиз қилиш қобилиятига эгадир. Микроорганизмларнинг экстремал шароитда тараккий қилиш қобилиятини, яъни паст ва юқори ҳароратда, молекуляр кислород мавжуд бўлмаганда, ишқорли ва кислотали муҳитда, тўзни юқори концентрациясида ўсиши кўпинча уларнинг ферментлари характери билан аниқланади.

Шундай қилиб, хулоса қилиб шунни айтиш мумкинки, микроорганизмларда жуда юқори фаол ферментатив реакция олиб бориш қобилияти мавжуд, микроорганизмлар, бошқа йўллар билан амалга ошириб бўлмайдиган жуда кўп жараёнларни ўзларининг махсус ферментлари туфайли амалга ошириш имкониятига эгалар.

Макро- ва микроорганизмларда бир хил функцияли ферментлар, ўзларининг хосса ва хусусиятлари жиҳатидан ҳар хил бўлиши мумкин ва микроорганизмларда ўзини фаоллигини юзага чиқариши учун алоҳида шароитга муҳтож бўлади. Шунинг учун турли хил микроорганизмлар ферментларини ўрганиш жуда муҳим вазифадир.

Глюкоамилаза - (*1,4-α-D-глюкан-глюканогидролаза*) асосан замбуруғларда кенг ўрганилган. *Asp.niger* замбуруғида у молекуляр массаси 100 000 далтон атрофида бўлган иккита гликопротеинлардан иборат. Демак, бу ферментни хусусиятлари бир-биридан фарқ қиладиган иккита формаси (шакли) мавжуд.

Декстраназа - (*1,6-α-D-глюкан-глюканогидролаза*) декстриндаги 1,6-гликозид боғига таъсир қилади.

Лактоза ёки β-галактозидаза (β-D-галактозид-галактогидролазалар) лактозани глюкоза ва галактозага айлантиради. Бу фермент *E.Coli*, *Asp.niger*, *Sacch.cerevisiae*, *Curvularia inaequalis*, *Alternaria tenuis* ва айрим бошқа микроорганизмларда синтез бўлади.

Инвертаза - (*β-D-фруктофуранозид-фруктогидролаза*) саҳарозани глюкозага ва фруктозага парчалайди. Уни *Aspergillus* туркуми вакиллари (*Asp.awamori*, *Asp.batatae*, *Asp.niger*), ачитки замбурғи, *Bacillus subtilis* ва *Bac.diastaticus* ларнинг алоҳида штамплари ҳосил қилади.

Целлюлитик ферментлар (целлюлазалар) - фаол оқсилларнинг мураккаб

комплексидир, целлюлоза молекуласининг ҳар хил боғларига таъсир қилади, С компонент (экзонуклеаза) табиий ҳолдаги целлюлозага (пахта, филтр қоғози) таъсир қилади. С_x -компоненти (эндонуклеаза) эрийдиган шаклга ўтказилган клетчаткани (карбосиметилцеллюлозани) гидролизлайди.

Целлюлоза билан бир қаторда микроорганизмлар целлобиаза (β-глюкозидаза) ҳосил қилади, бу фермент целлюлозани ва гемицеллюлозани парчалайди. Целлюлозани гидролизининг охириги босқичи, глюкоза ҳосил бўлиши билан тугалланади.

Саноатда ишлаб чиқариладиган целлюлотик фермент препаратлари одатда С₁ ва С_x ва шунга ўхшаш целлобиаза ва гемицеллюлаза ферментлари бўлиб, бу препаратларнинг рН кўрсаткичи 3,0 дан 8,0 гача. Мана шу рН лар оралиғида улар турғундирлар. Целлюлазани ҳосил қилувчилар кўпинча мицеллиали замбуруғлардир, шулардан *Penicillium notatum*, *P.vuriabili*, *P.iriense*, *Trichoderma roseum*, *Verticillium alboatrum* ва бошқалардир.

Пектиназалар - пектинни парчаловчи ферментлар синтез қилади. Пектолитик ферментлар комплекс ҳосил қилади, уни алоҳида компонентлари пектин молекуласини ҳар хил жойларидан парчалайди.

Пектиназалар (полигалактуроазалар) микроорганизм-ларда кенг тарқалган бўлиб ўсимликларда кам учрайди.

Протеиназалар. Протеиназалар ёки протеазалар - (пептид-пептид-гидролазалар) оқсил молекуласидаги пептид боғларини узиш реакциясини катализ қилади, натижада эркин аминокислоталар ди- ва полипептидлар ҳосил қилади.

Бундай ферментлар жуда кўп. Улардан айримлари кристалл ҳолатда олинган. Микроорганизмлар протеиназаси ўзларининг хоссалари билан тубдан фарқ қилиши мумкин. Улар нейтрал бўлиши мумкин (*Bacillus subtilis*, *Asp.terricola*), кислотали (*Asp.foetidus*) ва ишқорли, яъни рН нинг ҳар хил даражасида фаолдирлар. Айрим микроорганизмлар бир қанча протеиназалар синтезлаш қобилиятига эгадирлар. Масалан: *Actinomyces fradiae* 6 та протеиназа синтезлайди.

Амилазалар - бактерия ва замбуруғлардан олинadиган амилазалар крахмални кичик молекуляр шаклар: декстринлар, глюкозалар, малтозаларгача парчалайди. Бактериал протеазалар пишлоқ пиширишда ва тери ошлашда оқсилларни бузишда қўлланилади. *Bacillus sp.* дан олинadиган глюкозоизомераза ферменти глюкозани фруктозага айлантиришда ёрдамлашади. Кейинги вақтларда олимлар диққат эътиборини қуйидагилар ўзига тортмоқда: циклодикстринглюкозилтрансфераза (ЦДГТ) га мослашиш, циклодекстринлар бирикмаларининг ишлаб чиқарилиш: кимёвий ва фармакологик ишлаб чиқаришда, озиқ-овқат маҳсулотлари сифатини оширишда, косметика ва бошқалар ишлаб чиқаришда зарурдир.

Липазалар - (3.1.1.3-триацил глицеролода гидролазалар липид (ёғ) алмашинувида иштирок этадиган, катта амалий қизиқиши уйғотадиган ферментлар.

Култура ўсадиган муҳитга ажратадиган липазаларни ишлаб чиқарувчиларнинг кўпи мицелиали замбуруғлардир. Улардан *Aspergillus*, *Mucor*, *Geotrichum*, айрим ачитки замбуруғлар (*Candida*) ва бактериялардир (*Pseudomonas*). Липазалар триацилглицеролларни парчалаб ёғ кислоталари ва глицерин ҳосил қилади. Саноат асосида кўп миқдорда ишлаб чиқарилаётган ва кенг миқёсда халқ хўжалигида қўлланилаётган ферментлардан ташқари, кам миқдорда олинadиган ва кам соҳада қўлланиладиган бир қанча ферментлар ҳам бор, лекин буларнинг айримлари ўта даражада муҳимдир. Булар қаторига рестриктазалар (эндонуклеазалар), нуклеин кислоталарни парчаловчи ферментлар ва лигазалар - уларни синтезида иштирок қиладиган ферментлар киради. Бу ферментлар ген муҳандислиги илмий ишларини олиб боришда зарурдир. Буларни ҳам ҳар хил микроорганизмлар ишлаб чиқаради.

Ферментларнинг халқ хўжалигидаги аҳамияти

Микроорганизмлар ферментларидан халқ хўжалигининг турли хил соҳаларида фойдаланиш жуда ҳам истикболлидир. Ҳозирги вақтда микроорганизмлардан олинган фермент препаратлари саноатнинг кўп соҳаларида қишлоқ хўжалигида ва тиббиётда қўлланиб келинмоқда (16-жадвал).

16-жадвал.

Ишлаб чиқариш саноатида баъзи бир ферментларни ишлаб чиқариш учун фойдаланиладиган микроорганизмлар

Фермент	Замбуруғлар	Бактериялар
α-амилаза	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus niger</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> <i>Bacillus licheniformis</i>
Глюкоамилаза	<i>Aspergillus niger</i> <i>Rhizopus niveus</i> <i>Endomycopsis sp.</i>	
Пулланаза		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Декстраназа	<i>Penicillium sp.</i>	
β-Глюконаза	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
Глюкоизомераза		<i>Actinoplanes missouriensis</i>
Инвертаза	<i>Aspergillus sp.</i> <i>Sacch. cerevisiae</i>	
Целлюлазалар	<i>Aspergillus niger</i> <i>Trichoderma roseum</i> <i>Trichoderma viride</i>	
Пектиназалар	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus awomori</i>	
Протеиназалар	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Mucor mihei</i> <i>Mucor rouxii</i> <i>Mucor pusillus</i> <i>Endothia parasitica</i>	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus stearothermophilus</i>
Липазалар	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus awomori</i> <i>Candida cylindrical</i> <i>Mucor mihei</i> <i>Rhizoopus sp.</i>	
Глюкооксидаза	<i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium amagaskiense</i> <i>Penicillium vitale</i> <i>Penicillium notatum</i>	
Каталаза	<i>Aspergillus sp.</i>	
Деацетилаза	<i>Aspergillus sp.</i>	
Аспартаза		<i>Escherichia coli</i>
Фумараза		<i>Escherichia coli</i>
Пенициллинамидаза		<i>Escherichia coli</i>

Пиво ва вино тайёрлашда солод ўрнига замбуруғнинг амилаза фермент препаратидан фойдаланилади. Бу ишлаб чиқаришни арзонлаштиради ва қалла ҳаражатини камайтиради. Шунга ўхшаш амилаза эрийдиган крахмал, декстрин олиш учун ҳам ишлатилади. Амилаза ферменти билан берилган, сабзавот ва мевалардан олинган маҳсулотлар ўзининг таркибида кўп микдорда қанд моддалари сақлайди ва яхши ҳазм бўлади, айниқса, бу болаларга фойдалидир.

Нон ва нон маҳсулотлари тайёрлашда амилаза хамирни ачишини тезлаштиради ва

ноннинг сифатини яхшилади. Кондитер саноатида ачитки замбуруғининг инвертазасидан (сахарозаси) фойдаланилади, сахарозани глюкоза ва фруктозага айлантириб беради, у сахарозани юқори миқдорида кристалланишининг олдини олади.

Замбуруғларнинг пектиназаси мева ва узум шарбатини тиндириш учун ишлатилади. Вино ишлаб чиқаришда узум шарбати чиқиш миқдорини кўпайтириш учун ва кофе ишлаб чиқаришда қўлланилади. Глюкоамилазадан пиво тайёрлаш саноатида пиводан декстрин қолдиғини тозалаш учун ишлатилади. Глюкоизомераза сахарозани ўрнига глюкоза-фруктозали шарбат олишда фойдаланилади.

Лактоза, лактозасиз сут олиш учун ишлатилади. Лактозалар ёрдамида таркибида кўп миқдорда лактоза бўлган сут зардобидан қанд (глюкоза, галактоза) олинади. Замбуруғларни глюкозаоксидазаси катта аҳамиятга эга, чунки булар озик овқат маҳсулотларини глюкоза қолдиғидан ва молекуляр кислороддан озод қилади ва бу билан уларни сақлаш муддатини ўзайтиради.

Глюкозаоксидазани тухум кукунига, майонезга, пивога уларни узоқ муддатга сақлаш учун маълум миқдорда қўшилади. Бу фермент ёрдамида аскарбин кислотасининг (С-витамин) оксидланиши секинлашади.

Целлюлоза препаратидан картошкани қандлаштиришда, картошка ва ғалладан крахмал олишда, сув ўтидан агар-агар чиқаришни кўпайтиришда, сабзавот пастаси тайёрлашда, цитрус мевалари қобиғини ажратишда фойдаланилади. ўсимлик целлюлозасини қандгача парчалашда ишлатилмоқда.

Микроорганизмлардан олинган протеолитик ферментлар пишлоқ тайёрлашда, уни қуюқлаштириш учун ишлатиладиган ренин ўрнини босиши мумкин, кейинчалик улардан гўшти юмшатиш (тендиризация) учун фойдаланила бошланди. Бундан ташқари, балиқ тузланганда унинг пишишини тезлатиш, вино ва пиво тайёрлашда ишлатилмоқда.

Липаза сутни қуруқ ҳолда ишлаб чиқаришда ўз ўрнини топган, пишлоқ тайёрлашда, унинг пишишини тезлаштириш учун, пишлоққа махсус таъм ва ёқимли ҳид бериш учун ишлатилади.

Тўқимачилик саноатида микроорганизмларнинг ферментлари зиғирнинг самонига ишлов бериб, ундан тола олиш учун кўпдан бери ва кенг қўлланиб келинмоқда. Зиғирни намлаш жараёнида иштирок этадиган асосий микроорганизм сифатида *Clastridium* туркумига кирувчи анаэроб бактерия тан олинган. Намлаш вақтида кетаётган жараёнда зиғир самонидан пектин моддаси парчаланаяди ва унинг толаси ажралиб чиқади.

Тери ишлаб чиқариш саноатида микроб протеаза ферменти терини ошлашда ва уни майинлаштиришда ишлатилади. Таркибида протеаза ва липаза бўлган комплекс препаратни ишлатиш натижасида жараён тезлашади ва юқори сифатли жун олиш имконияти вужудга келади.

Ювиш воситалари ишлаб чиқаришда микроб ферментлари кенг микёсда қўлланилмоқда. Одатда уларга протеолитик, амилиолитик ва липолитик фаолликка эга бўлган *Bac.subtilis* ферментлари қўшилади. Препаратлар сиртки фаол моддалар билан биргаликда ишлатилади. Таркибида фермент бўлган ювиш воситалари ювиш муддатини қисқартиради, тўқималарни сақланиш қобилятини ўзайтиради, чунки ювиш 40-60⁰С дан ошмаган ҳароратда олиб борилади.

Ферментларни қишлоқ хўжалигида қўлланилиши икки йўналишда олиб борилмоқда:

1. *ҳайвонларни озуқасида фойдаланилади.*
2. *фермент билан озуқага ишлов бериб, уларни ҳазм бўлишини оширилади.*

Aspergillus oryzae ни озуқа муҳити юзасида ўстириш усули билан амилоризин - препарати олинади, бу асосан ўстирилган замбуруғнинг қуригани бўлиб, таркибидан α-амилаза, декстриназа, малўтоза, глюкоамилаза ва протеаза бўлади. Глюкозаморин - кепакда ўстирилган *Asp.awamori* културасининг қуригани, таркибий қисми α-амилаза, декстриназа, малўтоза, глюкоамилаза, нордон протеиназа ва гемицеллюлозадан иборат. Амилосубтиллин препарати таркибида α-амилаза, протеаза, β-глюконаза ва лизис қилувчи

ферментлар бўлади.

Микроб ферментлари тиббиётнинг турли хил соҳаларида терапевтик восита сифатида ва клиник анализларни олиб боришда қўлланилади. Яллиғланиш жараёнларини ва куйишни даволаш учун протеиназа препаратлари қўлланилади. Одам организмида айрим ферментларни синтезланиши бузилганда, алоҳида ва комплекс ҳолда ферментлар истеъмол қилинади. Масалан: ошқозон ости безини функцияси бузилганда, таркибида протеиназа, амилаза ва липаза комплекси бўлган препарат қабул қилинади.

Лактаза ва глюкоамилаза синтез қилиш қобилияти йўқолганда микроорганизмлардан олинган шу номли ферментлардан фойдаланилади. Овқат ҳазм қилиш жараёни бузилганда айрим вақтларда комплекс ферментлар (α -амилаза, целлюлаза, липаза ва протеиназа) истеъмол қилинади. Микроб ферментларини тиббиётда қўллаш жуда истикболдир.

2. ФЕРМЕНТЛАР ИШЛАБ ЧИҚАРИШ ТЕХНОЛОГИЯСИ

Ферментларнинг продуцентларини ўстириш уларни қаттиқ ва суюқ озиқа муҳитларига экиш усуллари билан олиб борилади. қаттиқ озиқа муҳитларининг юза қисмида фақат аэроб микроорганизмларни ўстириш мумкин.

Суюқлик ичида ўстириш усулида асосан микроорганизмлар суюқ озиқа муҳитларида ўстирилади ва бунда ҳам аэроб ҳам анаэроб микроорганизмларни ўстириш мумкин. Ферментларнинг аксарият продуцентлари аэроб бўлган микроорганизмлардир ва шунинг учун қаттиқ ва суюқ озиқа муҳитларида ўстирилганда узликсиз ҳаво билан таъминлаб турилади.

Ферментлар продуцентларини ўстириш жараёнига таъсир этувчи омиллар

Ферментларнинг ҳосил бўлиш жараёнига ташқи муҳит шароити, озиқа моддалари таркиби, уларнинг миқдори, метаболитларнинг чиқиши, муҳитда фаол кислотанинг ўзгариши, ҳарорат, муҳитнинг эриган кислород билан тўйиниши, продуцент културасининг ҳолати ва ўстириш муддатлари, шунингдек бошқа омиллар таъсир этади.

Бу омилларнинг аҳамияти ва фермент биосинтези жараёнига бўлган таъсир даражаси турлича бўлиб, улар асосан микроорганизмни ўстириш усули ва продуцентларнинг физиологик хусусиятларига бўйсинган ҳолда кечади. Бироқ баъзи умумий қонуниятларга эътибор бериб ўтиш керак.

Микроорганизмларни ўстиришда қаттиқ ва қуруқ озиқа муҳитларининг намлиги жуда катта аҳамиятга эга. Агарда муҳитнинг намлиги 11-20% атрофида бўлса, микроорганизмлар умуман ўсмайди. Бирмунча кўпроқ ўсишни намлик 30% бўлганда кузатиш мумкин. Намликнинг 40-45% бўлиши микроорганизм културасининг мўътадил ўсишига ва спора ҳосил қилишига жуда қулай шароит ҳисобланади. Бу ҳолат спора ҳосил қилувчи фермент продуцентларининг экиш материалларини олишда ишлатилади. Муҳитнинг намлиги 53-58% бўлганда ҳосил қилинган ферментларнинг тўпланиши кузатилади. Намлик 60-68% бўлганда ферментларнинг биосинтези пасая бошлайди ва бу ҳолат озиқа муҳити ичига кирадиган ҳавонинг ёмон ўтиши билан тушунтирилади.

Култураларни қаттиқ озиқа муҳитида ўстириш натижасида унинг таркибида қуруқ моддаларнинг миқдори камайиб, CO_2 ва сувга айланади. Шу сабабли, агарда микроорганизмни ўстириш ёпиқ идишларда (колба, маҳсус кюветалар ва ҳ.к.) олиб борилса, буғланиш натижасида намликнинг ортиши кузатилади. Агарда ўстириш жараёни очиқ идишларда олиб борилса, културани ва озиқа муҳитининг қуриб қолиши ва ҳосил бўлган маҳсулот фаоллиги камайиши кузатилади. Намликнинг даражаси ва мўътадиллиги ҳар бир ўстирилаётган продуцентнинг физиологик хусусиятларига, озиқа муҳит таркиби ва бошқа омилларга боғлиқ бўлиб, ҳар бир омил тадқиқот йўли билан аниқланади.

Ўсаётган културани ҳаво билан таъминлаш даражаси кўпинча ўстириш усули ва фермент продуцентларининг физиологияси билан белгиланади. Бу жараён асосан уч мақсадни ўз олдига қўяди:

- *Ўсаётган микроорганизмларни ўсиш ва ривожланиши учун зарур бўлган кислород*

- билан таъминлаш;
- Газ кўринишидаги моддалар билан ифлосланган ҳавони чиқариб ташлаш;
 - Микроорганизмларнинг ўсиш жараёнида ҳосил бўладиган иссиқликни қисман бартараф қилиш ёки чиқариб юбориш.

Микроорганизмларни қаттиқ озиқа муҳити сиртида ўстиришда вужудга келган иссиқликни чиқариш масаласи катта аҳамиятга эга.

Шунинг учун микроскопик замбуруғларни ўстиришда уларнинг ўсиш босқичларига катта эътибор бериш керак, чунки айнан шу гуруҳ микроорганизмлар қаттиқ озиқа муҳити сиртида ўстирилади.

Биринчи гуруҳ - замбуруғ спораси ёки конидияларини бўқиши ва ривожланишидир. Унинг муддати 10-12 соатга чўзилади. Бу босқич айтарли иссиқлик ажралиши билан кузатилмайди ва озиқа муҳит компонентлари ўзгармайди.

Озиқа муҳити сиртида пўпанак ҳосил бўлиши билан иккинчи босқич (тропофаза) мицелияларнинг фаол ўсиш босқичи бошланади. У одатда 12-40 соат ва шу билан бирга озиқа муҳитидаги моддаларни кўп миқдорда истеъмол қилиши, иссиқлик, ис гази ва сув ажратиши билан давом этади. Бунда микроорганизм озиқани мицелиялари билан тўлиқ ўраб олади. Айнан мана шу босқичда кўп миқдорда иссиқлик ажралади ва умумий ажраладиган иссиқликнинг 75-80% ини ташкил қилади.

1 тонна, култура бир соат давомида фаол ўсиш босқичида 7,6 м³ га яқин кислородни ўзлаштиради ёки ҳавога бўлган нисбатда эса 36,5 м³ ни ўзлаштиради. Замбуруғларни мўътадил ўсиши умумий ҳавонинг сарфи ўрта ҳисобда 1 тонна култура учун 600-650 м³ ни ташкил қилади.

Учинчи босқич (идиофаза) културани морфологик ва биокимёвий ихтисослашиши кузатилади, яъни бунда микроорганизмлар конидияларни ва иккиламчи метаболитларни ҳосил қиладилар. Ушбу босқичда микроорганизмлар ҳужайра ташқарисига чиқарилувчи ферментларни ҳосил қиладилар. Бунда ўстириш хоналарида ҳароратни 3-4⁰С га тушириш ва ҳаво алмаштиришни 3-5 мартага камайтириш зарур.

Микроорганизмларни суяқ озиқа муҳитларида ўстириш давомида ҳам ҳаво билан таъминлашга ва ис гази билан ифлосланган ҳавони ферментёрдан чиқиб кетиш режимига эътибор бериш керак. Масалан, бир култура ҳар хил аэрация шароитларида бир хил ферментни ҳар хил хусусияти билан ҳосил қилиши мумкин. Умуман олганда ҳаво билан таъминлаш микроорганизмни ўстириш жараёнини ва фермент ҳосил қилишини тезлаштиради.

Ўстириш давомийлиги ҳам муҳим кўрсаткичлардан бири бўлиб, у максимум фермент ишлаб чиқариш самарадорлигини белгилайди. У жуда кўп омилларга боғлиқ: озиқа муҳити таркиби ва уни продуцентга узатиш усули, муҳитни ҳаво билан таъминланганлик даражаси, продуцент тури, фермент хусусияти ва бошқалардир. Ўстириш давомийлиги кўпинча продуцентнинг физиологик хусусиятларига боғлиқ бўлади. Масалан, *B.mesentericus* ПБ учун - 36 соат бўлса, *Asp.awamori* учун эса 144 соатни ташкил этади.

рН кўрсаткичининг таъсири

Микроорганизмларни қаттиқ озиқа муҳити сиртида ўстиришда муҳитнинг рН кўрсаткичи унинг намлиги кам ва кучли буферли бўлганлиги сабабли ферментларнинг ҳосил бўлиш жараёнларига кам таъсир қилади. Лекин рН кўрсаткичи суяқ озиқа муҳитида асосий ҳал қилувчи аҳамиятга эга бўлиб, озиқани стерилизация қилишда ва културани ўстириш давомида тез ўзгаради.

қаттиқ озиқа муҳитлари сиртида продуцентларни ўстириш жараёнида улар сув билан намланади ва намланган муҳитнинг рН кўрсаткичи 5,0-5,6 ташкил қилади. Кўпинча озиқа муҳити сифатида ишлатилган ўсимлик бўлақчалари хлорид, сульфат ёки сут кислоталарининг кучсиз эритмаси билан намланади ва уларнинг рН кўрсаткичи 4,5-5,0

атрофида бўлади. Кислоталарни қўшиш натижасида озика муҳити микроскопик замбуруғларнинг ўсиши учун селектив шароитга айланади. Бунда ҳаво ва озикани стерилизация қилиш харажатлари бир мунча камаяди.

Суюқ озика муҳитлари рН кўрсаткичи микроорганизмларни ўстиришда жуда катта аҳамиятга эгадир. Энг кўп эътиборни албатта, озиканинг бошланғич ва стерилизация ҳамда микроорганизм ўсиши пайтида катион ва анионларни истеъмол қилиши натижасида ўзгарадиган рН кўрсаткичига бериш керак. Шундай истеъмол натижасида културал суюқлик ё кислотали ёки ишқорли муҳитга ўтиб кетади.

Муҳитнинг мўътадил рН кўрсаткичи продуцентнинг хусусиятига боғлиқ шунга қарамай баъзи умумий қонуниятларни кўриш мумкин.

Замбуруғ ва ачитқи микробларига ўхшаш организмлар рН кўрсаткичи 3,8-5,6 бўлган шароитда яхши ўсади ва фермент ҳосил қилади. Бактериялар эса рН кўрсаткичи нейтрал (6,2-7,4) қийматларда фаол ривожланади. яна шундай маълумотлар борки, агарда рН кўрсаткичи фақат маълум бир қийматда ушлаб турилса бундай шароитда ўстирилган продуцент битта керакли ферментни ҳосил қилиши мумкин. Кўпчилик микроорганизмлар рН омили таъсирга жуда таъсирчан бўладилар ва бу кўрсаткичнинг сезиларли даражада салбий ёки ижобий томонга ўзгариши, уларнинг фермент ҳосил қилиш қобилиятларига бирданига таъсир қилади.

Ҳароратнинг таъсири

Кўпгина ферментларнинг продуцентлари, хусусан микроскопик замбуруғлар, мезофил микроорганизмлар ҳисобланади ва уларнинг ривожланиши учун мўътадил ҳарорат 22-32⁰С атрофида бўлади.

Ферментларни бактериал продуцентлари орасида кўпгина термофиллари ҳам учрайди ва уларни мўътадил ўстириш ҳарорати 35-55⁰С дир. Масалан, *B.mesentericus* ПБ бактерияси 37⁰С ни талаб қилса, *Bac.diastaticus* 60-65⁰С ни, *Asp.oryzae* эса атиги 28-30⁰С ни талаб қилади. ҳамда липаза ферментининг продуценти *Rhizopus microsporus* замбуруғининг фаол ривожланиши ва фермент ҳосил қилиши учун 40⁰С ҳарорат мўътадил ҳисобланади.

Саноатда термофил микроорганизмлардан фойдаланишнинг бир қанча ижобий томонлари бор. чунки уларни юқори ҳароратда ўстирилганда жараённинг стериллигига бўлган талабни ўз-ўзидан камайтиради. Бундан ташқари термофил микроорганизмлар юқори ҳароратга бардошли бўлган ферментларни ҳосил қилади. ҳарорат ҳосил бўлаётган фермент миқдорининг ўзгаришида катта аҳамиятга эгаллиги билан ҳам ажралиб турувчи омилдир.

Микро- ва макроэлементлар таъсири

Микроорганизмларни ўстириш учун озика муҳитларини тайёрлашда фермент саноати ёки қишлоқ хўжалиги ўсимликлари қолдиқларидан кенг кўламда фойдаланилади. қаттиқ озика муҳитлари асосан қишлоқ хўжалиги ўсимликларининг қолдиқларини майдалаб, намлигини маълум даражага келтириб ва унга бошқа макро ва микроэлементларнинг эритмаларини аралаштириб тайёрланади.

Суюқ озика муҳитлари тайёрлашда эса кам эрувчан компонентлардан миқдори чекланган ҳолда фойдаланиш мумкин. Акс ҳолда унинг эримаган қолдиқлари озика муҳити ва културал суюқликни қайта ишлашда халақит беради. Озика муҳити таркибига ҳар хил ўсимлик ва фермент саноати қайнатмалари ва гидролизатлари дағал филтратларини ҳамда спирт бардаси, микроблар биомассаси плазмолизатлари, аминокислоталар ва бошқаларни қўшиб тайёрлаш мумкин. Буларда йирик қолдиқларнинг бўлмаслиги тўхтовсиз ўстириш жараёнида жуда катта аҳамиятга эга. Суюқ озика муҳитлари таркибида, одатда 2,5% дан 20% гача қуруқ моддалар эритма ҳолида бўлади. Муҳитнинг рН кўрсаткичи уни тайёрлаш вақтида ва стерилизациясидан кейин назорат қилинади.

Углерод манбалари

Гидролитик ферментлар асосан индуцибел табиатга эга бўлганлиги учун озиқа муҳити таркибига керакли бўлган ферментни фаол тўплаш мақсадида унинг индукторини кўшиш даркор.

Углерод манбаси микроорганизмлар учун энг керакли бўлган компонентдир, чунки барча организмларда энг асосий метаболик жараёнлар айнан шу элемент иштирокида амалга оширилади. Углерод манбаси вазифасини ҳар хил органик бирикмалар бажариши мумкин ва улар ҳужайра моддаларини бошланғич материаллари ҳамда энергия манбаси сифатида ишлатилади.

Микроорганизмлардан гидролитик ферментларни олишда углерод манбасига алоҳида эътибор бериш керак, чунки улар шу комплекс ферментларнинг стимуляторлари бўлиб ҳисобланади. Агарда углерод манбаси (крахмал, пектин ва ҳ.к.) озиқа муҳитига кўп миқдорда кўшилса, улар ҳаракатсиз бўлиб қоладилар ва шунинг учун микроорганизм талабига қараб уларни қисм-қисм қилиб кўшиш керак.

Углерод манбасини танлаш албатта, микроорганизмнинг физиологик хусусиятларига ва у ҳосил қиладиган ферментнинг турига боғлиқдир ҳамда ҳар бир микроорганизм учун тадқиқотлар йўли билан аниқланади.

Азот манбалари

Муҳитда азот манбаси вазифасини минерал тузлар ёки азотнинг органик бирикмалари бажариши мумкин. Масалан, протеиназалар ҳосил бўлишида азот манбалари нафақат озиқа муҳитининг муҳим компонент сифатида, балки, биосинтез жараёнини фаоллаштирувчи вазифасини ҳам бажаради. Энг яхши натижалар муҳитга оқсиллар ва уларнинг парчаланиш маҳсулотларини кўшиш йўли билан олинади.

Азотнинг органик манбаларига ҳайвонларнинг ҳар хил оқсиллари (пептон, казеин, гемоглобин, желатин, тухум оқсили), ўсимлик хом ашёлари оқсиллари (ёғсизлантирилган соя, маккажўхори экстракти), микроорганизмларнинг биомассаси ҳамда оқсилларнинг кислотали, ишқорли ва ферментатив гидролизатлари, аминокислоталар ва бошқа бирикмалар киради.

Азотнинг ноорганик манбалари сифатида асосан ҳар хил азот кислотаси ва аммонийнинг тузларидан фойдаланилади. Ноорганик азот манбаларини танлашда катион ва анионларнинг физиологик таъсирига эътибор бериш керак. Муҳит рН кўрсаткичини ишқорий ёки кислотали томонга ўзгариши продуцентнинг биосинтетик хусусиятига каттиқ таъсир қиладди.

Кўп тадқиқотчиларнинг маълумотларига қараганда, азотнинг органик манбаларидан фойдаланиш ноорганикларга нисбатан кўпроқ ижобий ҳисобланади. Лекин уларни биргаликда маълум ўрганилган миқдорда ишлатилса, уларнинг таъсири кўп ҳолларда ижобий томонга бурилади.

Озиқа муҳитида азот ва углероднинг нисбати шундай бўлиши керакки, микроорганизм иккала элементга ҳам муҳтожлик сезмаслиги керак. Бир элемент танқислигини иккинчи элемент ҳисобига тўғирлаш мумкин эмас. Масалан, глюкозаоксидаза ва каталаза ферментларини *Penicillium vitale* замбуруғи азот ва углероднинг ўзаро нисбатига қараб ҳосил қиладди ва ушбу нисбатни ўзгартириш йўли билан ёки глюкозаоксидаза, ё бўлмаса каталаза олиш мумкин.

Фосфор манбалари

Фосфор элементи озиқа муҳитига фосфор кислотаси тузи ёки органик бирикма - фитин шаклида кўшилади. Фосфор муҳит учун энг зарур бўлган элементдир, чунки у ҳужайрада энергия алмашинуви жараёнида АТФ, АДФ ва АМФ таркибига киради.

Микроорганизмлар логарифмик ўсиш фазасида фосфор элементини жуда кўп миқдорда талаб қиладди. чунки бу босқич ҳужайра моддаларини ва биокимёвий жараёнларнинг интенсив ўтишига тўғри келади. Одатда бу даврда 83-91% гача бўлган фосфор озиқа муҳитидан микроорганизм биомассасига ўтади.

Фосфор протеаза, амилаза, пектолитик каби ферментларнинг биосинтезини тезлаштиради. Агар фосфорни фосфор кислоталарининг тузи кўринишида табиий

қайнатмалари бор муҳит таркибига қўшилса энг яхши натижаларга эришиш мумкин.

Витаминлар ва ўстириш моддалари

Микроэлементларсиз, витаминларсиз ва ўстириш моддаларсиз микроорганизм хужайрасидаги моддалар алмашинуви жараёнини тўлиқ ўтиши эҳтимолдан узоқдир. Лекин ҳамма микроорганизмлар ҳам ўсиш ва ривожланишлари учун бу бирикмаларни қўшилишини талаб қилавермайди. Шу нуқтаи назардан назардан келиб чиқиб микроорганизмлар икки турга бўлинади:

- ***Ауксоавтотрофлар** - витаминларни ташқаридан қўшилишини талаб қилмайдиган микроблар бўлиб, улар ўзлари ишбу моддаларни синтез қилиш қобилиятларига эга;*
- ***Ауксогетеротрофлар** - витаминларни синтез қила олмайдиган микроорганизмлар гуруҳи бўлиб, улар учун албатта, озиқа муҳити таркибига витаминларни қўйиши керак.*

Агарда ауксоавтотроф микроорганизм ўстирилувчи муҳитга витаминлар ва ўстирувчи бирикмалар қўшилса, улар бу продуцентнинг ўсиши ва ривожланишига ҳеч қандай таъсир кўрсатмайди.

Агарда ауксогетеротроф продуцент озиқасига жуда ҳам кам миқдорда юқорида зикр этилган моддалар қўшилса, уларнинг ўсиш ва ривожланиши сезиларли даражада тезлашади. Афсуски жуда кўп продуцентлар ауксогетеротроф организмлар бўлиб, улар ферментлар биосинтезида қатнашувчи В витаминлар гуруҳи комплекси (В₁, В₃, В₅, В₆, В₈) , яъни биотин, инозит, пантотен кислотаси, тиамин, пиридоксин ва бошқаларнинг озиқада бўлишига муҳтождирлар.

Биотин аминокислоталарнинг ҳосил бўлиш реакцияларида қатнашади, бир неча ферментларнинг фаол марказига киради ва ёт кислоталарининг карбоксилланиш ва декарбоксилланиш жараёнларини катализлайди. Инозит эса фосфор кислотасининг олти молекуласи билан бириқиб ачитқи микробларни ўсишини тезлаштирувчи инозитфосфор кислотасини ҳосил қилади. Пантотен кислотаси КоА таркибига кириб, хужайрадаги энг муҳим модда алмашинув жараёнларида иштирок этади.

Макро ва микроэлементлар озиқа муҳитларининг ажралмас қисми ҳисобланади. Кўп металл ионлари ферментларнинг фаол маркази таркибига киради ёки ферментларнинг структурасини тутиб туришда ва организмдаги ферментатив фаолиятни таъминлашда иштирок этади. ҳозиргача маълум бўлган ферментларнинг 1/4 қисми металлоферментлар ҳисобланади. Улар нафас олиш жараёнини, оксидланиш-қайтарилиш реакциясини, аминокислоталар, шакарлар, нуклеотидлар, пиримидин асослари синтезларини фаоллаштиради, биокутбли оқсил молекулалари, гликогенлар, нуклеин кислоталари ҳосил бўлишини ҳамда уларнинг трансформацияси ва парчаланишини бошқарадилар.

Ҳамма металлоферментлар икки гуруҳга бўлинади:

- ***Биринчи гуруҳ** ҳақиқий металлоферментлардир, яъни улар метал ионлари ва оқсил молекулалари ўртасида бузилмас бог ҳосил қилиб, ионитлардан ўтказилганда ҳам парчаланмайди.*
- ***Иккинчи гуруҳ** металлоферментлари эса диализ жараёнида металл ионлари билан бўлган богни узадилар ёки ферментга бошқача ишлов бериш жараёнида каталитик фаоллигини йўқотадилар. Бу гуруҳ ферментларига яна ташқаридан металллар қўшилса улар фаоллигини тиклайдилар.*

Оксидланиш-қайтарилиш жараёнларида темир, мис, марганец, рух, бор ва молибден талаб қилувчи ферментлар иштирок этади. Умуман олганда микроорганизмларда борадиган барча жараёнлар макроэлементлардан ташқари микроэлементларнинг иштирокига муҳтождир. Шунинг учун, айниқса синтетик озиқа муҳитлари тайёрлашда микроэлементларнинг улуший миқдорини эътиборга олиш лозим.

3. Ферментатив продуцентларни ўстириш усуллари қаттиқ озиқа муҳитида ўстириш

Продуцентларни ўстириш жараёни совитилган стерил озиқа муҳитига экиш материални сепишдан бошланади. Даврий стерилизация шароитида экишни одатда стерилизаторнинг ўзида узлуксиз аралаштириш йўли билан ўтказилади. Узлуксиз стерилизация қилиш шароитида эса озиқага экиш стерилизаторнинг совитиш бўлимида амалга оширилади ва экилган озиқа муҳити култура билан биргаликда ўстириш цехига юборилади.

Култураларнинг қаттиқ озиқа муҳити сиртида ўстириш жараёнини ҳар хил усуллар билан бажариш мумкин. Кюветаларга экиб ўстириш ананавий усул ҳисобланиб, кўп қўл меҳнатини ва кўп ишлаб чиқариш майдонини талаб қилади. Продуцентларни механизациялашган қурилмаларда ўстириш бирмунча янги усул бўлиб ҳисобланади.

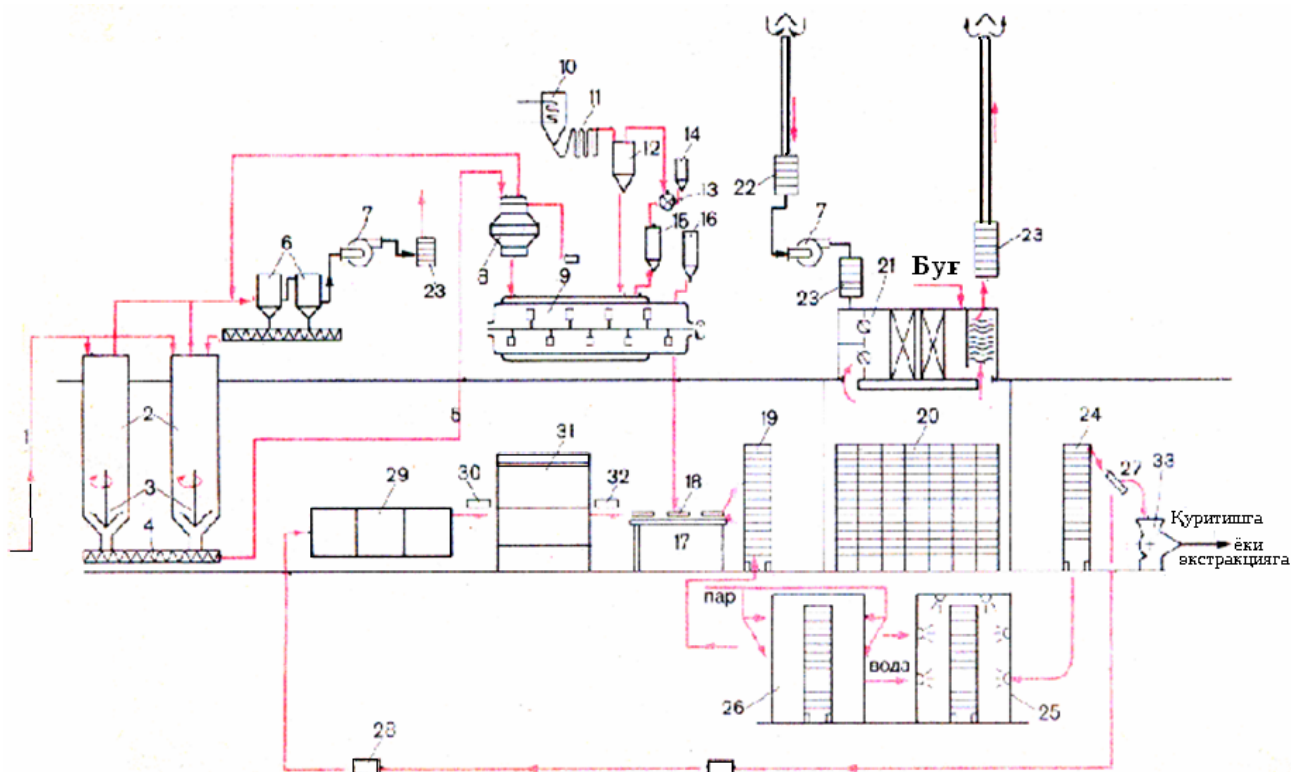
Кюветали ўстириш усулининг элементар ячейкаси бўлиб оддий рухланган темир туникадан ясалган усти очик ёки ёпиқ ва баландлиги 20-50 мм ли 0,25-0,50 м² майдонга эга бўлган идиш ташкил қилади. Бу идишнинг таг қисми тешикли ёки тешиксиз бўлади.

Кюветаларга 2-2,5 см қалинликда намланган, экилган озиқа муҳити солинади ва у ўстириш хонасига юборилади. Бу ерда кюветалар ҳаракатланувчан ёки стационар ускуналарда бир неча қаватли қилиб терилади. ҳар бир қават ораси 10-11 см бўлади. Одатда бу қаватлар сони 18 та атрофида бўлиб, умумий бўйи 2 м дан ошмаслиги керак. Биринчи кювета 20-25 см баландликда ўрнатилади. ҳамма темир ускуналар каррозияга қарши материал билан қопланган бўлиши лозим. Кюветаларни ўстириш хонасига бўшатишда улар формалин билан дезинфекция қилинади. ўстириш хоналари ҳар хил шакл ва кўринишда бўлиши мумкин. Кўпинча улар узун энсиз икки томонига эшик ўрнатилган йўлак шаклида бўлади. ўстириш хонаси тепасида ҳаво ҳайдаш ва ҳавони тозалаш мосламалари ўрнатилади. ўстириш хоналарида олиб бориладиган бутун технологик жараёнлар 36-90 соат давом этади.

Механизациялашган ўстириш қурилмаларини яратишнинг имкониятлари озиқа муҳити қаватларининг орасида ҳавонинг яхши айланиши, зичлашиб қолмаслиги ёки тезда қуриб қолмаслиги каби талаблар билан чекланган. Шу билан бирга уларни шундай қуриш керакки, агарда ўстирилаётган микроорганизмлар ифлосланиб қолса, ўстириш тизимини тўхтатмасдан шу ердаги ифлосланган озиқа муҳитларини бемалол алмаштириш ва стерилизация қилиш имкониятлари бўлиши керак. Бундай нисбатан яхши қурилмаларга Джеффрис, Христенсен, Андеркофлер, Валерштейн, чехословакия ва ВНИИФС, ВНИИ биотехника ва бошқалар ишлаб чиқарган ускуналарни киритиш мумкин (2 – расм).

Джеффрис ва Христенсен қурилмалари тузилиши жиҳатидан бир-бирларидан сал фарқ қилсада, ишлаш механизми ҳаракатланувчан тасма ёки транспортерга асосланган ва ҳар бир ўстириш жараёни тўлиқ бажарилади. Лекин бу қурилмаларда ифлосланиш ҳодисаси руй берса бутун бошли тизимни тўхтатиш ва ҳамма қисмларини стерилизация қилиш керак бўлади.

Микроорганизмларни механизациялашган ўстиришнинг Андеркофлер, Валерштейн ва чехословакия қурилмаларида ўстиришни узлуксиз олиб бориш, ҳар бир қисм ва жиҳозларни алоҳида стерилизация қилиш мумкин ва ифлосланиш жараёнида бутун тизимни тўхтатиш шарт эмас. Уларнинг самарадорлиги суткасига 0,4 тоннадан 10 тоннагача бўлиши кузатилган.



8-расм. Микроорганизмларни юза қисмга экиш усулининг технологик чизмаси.

1-донадор компонентларнинг пневмотранспорти; 2- бункер; 3- ворошитель; 4- шнек; 5-кепак пневмотранспорти; 6- чиқувчи газларни тозалаш учун циклонлар; 7- вентелятор; 8-кепакни автоматик меъёрловчи ускуна; 9- донадор компонентлар стериллизатори; 10-сув стериллизатори; 11-иссиқлик алмаштирувчи; 12- стерил сув ўлчагич; 13-меъёрловчи (дозатор); 14-хлорид кислота тўпланувчи идиш; 15-суялтирилган хлорид кислотани ўлчов ускунаси; 16-экиш суспензияси учун идиш; 17-стол; 18- кюветаларга жойлаш; 19-кюветаларни кетма-кет жойлаштириш учун жавонлар; 20-ўстириш камераси; 21-совутгич; 22-дастлабки тозалаш учун фильтр; 23-микробиологик ифлонишларни тозалаш учун фильтр. 24-тайёр культуралар учун жавонлар; 25-жавонларни ювиш жойи; 26-жавонларни стериллаш; 27-кюветалардан қуйиб олиш; 28-ифлосланган кювета; 29-кюветаларни ювиш; 30-тоза кювета; 31-кюветаларни стериллаш камераси; 32-стерил кюветалар; 33-майдалагич ускуна.

Продуцентларни суюқ озика муҳитида ўстириш

Бу усул қаттиқ озика муҳити сиртида ўстириш усулига қарганда бир қатор, яъни ишлаб чиқариш майдонини бир неча маротаба қисқартишга, оғир қўл муҳнатини бартараф қилишга, меҳнат гигиенасини яхшилашга, ишлаб чиқаришни автоматик тизимини яратишга ва бошқа устунликларга эгадир.

Суюқ озика муҳити ичида ўстиришда озикани бир мунча иқтисод билан ишлатишга ва фермент препаратларини тозароқ ҳамда юқори фаоллик билан олишга эришиш мумкин.

Микроорганизмларни суюқ озика муҳити ичида ўстириш вертикал ҳолатда жойлашган ферментёрларда олиб борилади. Ферментёрга қўйилган энг асосий талаб - продуцентни ўстириш жараёнида интенсив ҳаво алмашинуви билан бирга асептика шароитларини вужудга келтириш имкониятларидир. ўстириш жараёнида мураккаб бўлган уч фазали суюқлик-қаттиқ, жисм-газ тизими билан ишлашга тўғри келади. Бу тизимда масса алмашинув жараёнлари жуда қийин кечади ва усқунани ўстиришнинг ҳамма босқичларига мослаб яратиш анча мушкулдир.

Саноатда ишлатилаётган ферментёрларни ҳаво алмашинуви учун энергия узатиши ва

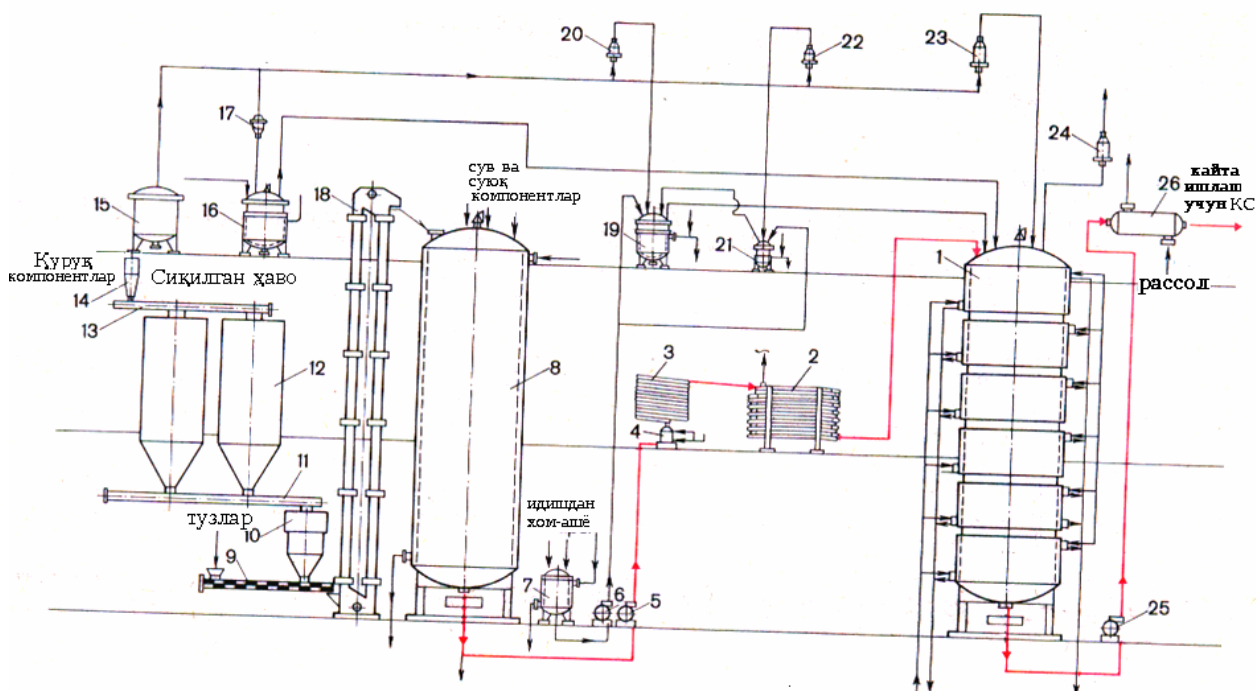
аралаштириш усулларига қараб уч гуруҳга бўлиш мумкин:

- *Механик аралаштиргичли ва пуркама ускуналар (бирлаштирилган);*
- *Сиқилган ҳавони пуркаш тизимига (энергияни суяқлик ичига пурковчи) асосланган ускуналар;*
- *Пуркашга асосланган (энергияни газ фазасига узатувчи) ускуналар.*

Фермент саноати учун биринчи гуруҳ ферментёрлари асептика талабларига жавоб беришлари билан жуда катта аҳамиятга эга. Бу ускуналар асосан цилиндр шаклиги эга бўлиб, бир-бирларидан ҳажми, ички тизим конуструкцияси, айлантириш тезлиги ва қурилмалари ҳамда иссиқлик алмаштириш мосламалари билан фарқ қилади.

Ферментёрларнинг энг йириги механик айлантиргичлари ва кўпик сўндиргичлари билан биргаликда 2000 м³ ҳажмга эга. “Хеман” фирмаси 360-400 м³ ли ферментёрларни ишлаб чиқаришни жорий қилиш билан шуғилланади.

Бизда асосан Россияда ишлаб чиқарилган 50 м³ ли ва 100 м³ ли герметик берк бўлган ва механик аралаштиргичли ҳамд аҳавони пурковчи ферментёрлардан кенг миқёсда фойдаланилади. Бундан ташқари Германия махсулоти бўлган 63 м³ ли ферментёрлар жуда кўплаб фермент корхоналарида ишлатилади.



3-расм. Микроорганизмларни суяқликда ўстиришнинг технологик чизмаси

1-ишлаб чиқариш ферментёри; 2-музлагич; 3-сақлагич; 4-қизитувчи колонка; 5-6, 25-насослар; 7-инокулянтларни учун озука муҳити пайёрлаш идиши; 8-аралаштиргич; 9-шнек; 10-автоматик торозилар; 11-, 13-трубоконвейр; 12-бункер; 14-озуқанинг қуруқ элементлари пневмотранспорти циклони; 15-бош филтър; 16-кўпиксизлантирувчиларни сақлаш стериллаш идиши; 17, 20, 22, 23-алоҳида филтърлар; 18-сўриб-кўтаргич; 19-экиш ускунаси; 21-инокулятор; 24-чиқувчи ҳавони тозалаш филтър; 26-совутилган культурал суяқликнинг иссиқлик алмаштирувчиси.

Ферментёрлар кўпи билан 0,25 МПа босим ва стерилизация вақтида 130-140⁰С ҳароратда ишлашга мўлжалланган. Продуцентни ферментёрда ўстириш жараёнида асептика нуқтаи назаридан энг муҳим бўлган омил - ферментёр қисмларини тўғри ва ўз қоидасига биноан ечиб улашдир. Агарда ҳар бир қисм ферментёрни ишлатиб бўлгандан кейин алоҳида ювиб, тозалаб, яхши стерилизация қилинмаса ифлосланишнинг манбаси

бўлиб қолиши мумкин.

Ўстириш жараёнида ферментёрда ҳосил бўладиган кўпикка ва уни бартараф қилувчи мосламаларга ҳам катта эътибор бериш керак. Фермент саноатида ишлатиладиган барча ферментлар кўпикни бартараф қилувчи моддаларни киритувчи ва кўпик миқдорини назорат қилиб турувчи алоҳида мосламалар билан жиҳозланган. Кўпикни чиқариб ташлаш мақсадга мувофиқ эмас, чунки бунда ҳаво тозаловчи филтрлар намланиб қолиши ва натижада ускунанинг герметиклиги ҳамда стериллиги бузилиши мумкин.

Микроорганизмларни ферментёрларда ўстириш жараёнида ҳосил бўлаётган ферментларнинг тўпланиши, продуцент биомассасининг ҳолати, муҳит рН кўрсаткичи, озиқани ташкил қилувчи баъзи компонентларнинг камайиши ва бошқа бир қанча омиллар доим назорат қилиб борилиши лозим.

Ўстириш жараёнининг тугаллиниши билан културал суюқлик ишлаб чиқаришга узатилади ёки суюқлик фазасини биомасса ва қаттиқ фазадан ажратиш бўлимига узатилади. Баъзи ҳолларда продуцент биомассаси ҳар хил тозаликдаги фермент препаратларини олиш учун манба бўлиб хизмат қилади.

Микроорганизмлардан фермент препаратларини ажратиб олиш усуллари

қаттиқ ёки суюқ озиқа муҳитларида ўстирилган микроорганизмларнинг култураси ва уларнинг културал суюқликлари таркибида жуда кўп миқдорда балласт моддалар бўлади. Ферментларни ажратиш ва тозалаш - кўп меҳнат ва харажат талаб қилувчи жараёндир. Агарда фермент препарати микроорганизм култураси кўринишида ишлатилса у тозаланмайди. Спирт ва терини ошлаш тармоқларида тозаланмаган микроорганизмлар културасини ишлатиш мақсадга мувофиқдир ва худди шундай микроорганизмларни кишлок хўжалигида ем-хашак тайёрлашда ёки фермаларда емларни қайта ишлашда қўллаш мумкин.

Озиқ овқат саноатининг бир қанча тармоқларида (нон, пиво, вино, пишлок, крахмал ва шарбат экстракция қилувчи) ҳамда енгил саноат, мўйна ва микробиологик саноатларда, шу жумладан тиббиётда балласт моддалардан қисман ёки тўлиқ тозаланган, яъни фақат тоза фермент препаратлари ишлатилади.

Тоза фермент препаратларини олишнинг бошланғич материали бўлиб, филтрланган културал суюқлик, продуцентнинг биомассаси ёки қаттиқ озиқа муҳитда ўстирилган културанинг сувли экстракти хизмат қилади. Фермент препаратлари кукун ёки суюқ концентрат кўринишида олиниши мумкин. Ажратиш жараёнида препаратнинг умумий массасида фаол оқсилнинг нисбий улуши ортади, яъни унинг улуший фаоллиги ортади.

Тозаланмаган, комплекс фермент препаратларининг олиниши

Тозаланмаган фермент препарати дегани, бу - микроорганизм културасини мўътадил шароитда намлиги 8-12% га олиб келинган ва бутун озиқа муҳити қолдиқлари билан биргаликдаги массасидир.

Тозаланмаган фермент препарати културани қаттиқ ёки суюқ озиқа муҳитида ўстириш йўли билан олиниши мумкин. Суюқ муҳитда ўсган култура қуритишдан олдин биомассаси ва озиқа муҳити қолдиқларидан қисман тозаланган ёки шундайлигича қуритилган бўлади.

қаттиқ озиқа муҳитида ўстирилган микроорганизм култураси одатда 35 дан 58% гача намликка эга бўлади. Бундай маҳсулот чидамсиз бўлганлиги сабабли уни тезда ишлаб чиқаришга жорий қилиш ёки намлигини 10-12% гача қуритиб олиш керак. қуритиш жараёнидан олдин, ўстириш хонасидан олинган микроорганизм майдаланади ва кейин қуритилади.

Микроорганизм култураларини қуритиш учун тасмали, тоннелли, шахтали, барабанли, жавонли (шкафли) ва тебранувчан қуритгичлардан фойдаланиш мумкин. Ишлаб чиқаришда, юқорида қайд қилинганларига нисбатан кўпроқ тўғри йўналтирилган барабан типигаги қуритгичлар ишлатилади. Бунда ҳўл култура иссиқлик берувчи қуритма билан биргаликда 80-85⁰С да қуритгичга тушади. Бундай юқори ҳароратда қуритилувчи

хўл микроорганизмнинг майда бўлақларидаги намнинг буғланиши ҳисобига қаттиқ қизиб кетиш ҳолати кузатилмайди ва ундаги ферментларнинг фаоллиги тўлиқ сақланади. Кўпчилик барабанли қуритгичларнинг ички томонида парраксимон куракчалар мавжуд бўлиб, барабан 3-8 мин⁻¹ тезликда айланиши ҳисобига қуритилаётган материалнинг бир текисда тарқалишини ва қуритилишини таъминлайди.

Шунинг учун бундай типдаги қуритгичда қуритилган маҳсулот бутун массаси бўйлаб бир хил намликка эга бўлади. Ушбу қуритгичда микроорганизм бўлақчалари 3-7 минут давомида қуритилади, берилаётган иссиқлик тезлиги 2-3 м/с, 80-85⁰С ҳароратда ҳамда чиқишда эса 60-65⁰С бўлади ва қуритилаётган материал ҳарорати 40⁰С дир. қуритиш жараёнида атиги 3-10% гача фермент йўқотилиши мумкин.

Микроорганизмларни қуритишда ишлатиладиган қуритгичларнинг яна бир тури - герметик берк бўлган лентали буғ конвейрли қуритгичдир. Бундай қурилмаларда ферментнинг фаоллиги кўп йўқотилади, лекин улар ихчам ва юқори самарадорликка эга.

қаттиқ озика муҳитида ўстирилган микроорганизмларни қуритиш учун ҳар хил конструкцияли қуритгичлардан фойдаланиш мумкин, қайсики маҳсулотнинг фаоллиги пасайишини минимумгача туширишни, унинг қуритгичда 5-8 минут давомида бўлишини ва чиқишида 40-42⁰С дан пастда бўлишини таъминлайди.

Тайёр қуруқ микроорганизмлар маҳсус кадоклаш ускуналарида 25-40 кг қилиб копланеди ва тайёр маҳсулотлар омборига юборилади.

Кўпчилик продуцентлар синтез қилган ферментларнинг асосий қисмини суюқ озика муҳитига чиқарадилар ва тўплайдилар. Тоза фермент препаратларини продуцентнинг биомассаси билан биргаликда филтрларда, центрифугаларда ёки сепараторларда ажратилади.

Микроббиотехнология саноатида асосан ташқи томони билан филтрловчи ячейкали-барабанли тўхтовсиз ишловчи вакуум филтрлар ишлатилади. Бу филтрлар юқори даражада механизациялаштирилган бўлиб, ҳар хил суспензияларни бир хил тезликда филтрлаш имконини беради. Барабаннинг сирти тўмтоқсимон бўлиб, бўз ёки филтрловчи сунъий газлама билан ўралган ва у филтрланувчи суюқликка чўктирилган бўлади. Филтрловчи сиртда тўпланган ҳар хил эримаган компонент ва биомасса маҳсус пичок ёрдамида тозаланади.

Барабан филтрлар биомассани ажратиш учун жуда қулай, лекин улар паст самарадорлиги, кўполлиги ва асепитка шароитларини таъминлай олмаслиги билан ажралиб туради.

Фермент саноатида кўпинча рамали зич-филтр ҳам ишлатилади. Маҳсулот қўл ишига асосланган ҳолда олинади. Рамали зич-филтрларнинг филтрловчи ҳажми кичик бўлганлиги сабабли барабанли вакуум-филтрга нисбатан ҳам кам самарадордир. Рамали филтрда филтрлаш жараёни 0,4-0,6 МПа босим остида олиб борилади. Одатда филтратнинг биринчи қисми тиник бўлмайди ва у қайта филтрланади.

Зич-филтрнинг камчиликлари горизонтал камерали типдаги ФПАКМ да бир мунча бартараф этилган. У устма-уст жойлашган филтрловчи плиталар ва филтрловчи газламадан иборат. Ушбу ускунанинг иши автоматлаштирилган ва иш юзаси 2,5 дан 50 м² ҳажмга эга. Нисбий самарадорлиги бошқаларига нисбатан 6-8 марта юқори ва фермент фаоллиги 4-5% атрофида йўқотилади. Уларни ишлаб чиқаришга жорий қилиш жуда истикболли ва бактериялар културал суюқлигини филтрлашда жуда қўл келади.

Фермент саноатида ВСМ типдаги сепараторлар ҳам кенг қўлланилади. Улар ичига барабан ўрнатилган идиш кўринишида бўлади. Барабанларнинг ичида цилиндрик тўсиқлар ўрнатилган бўлиб, юқори тезликдаги марказдан қочма куч ҳисобига унинг тагида чўкма ҳолида биомасса ва бошқа компонентлар чўқади. Сепараторнинг самарадорлиги юқори бўлиб 2000-5000 л/с гача етади. Бизда АСЭ-3, АСИ, АСЭ-Б типдаги сепараторлар ҳамда “Алф-Левалү” (Швеция) фирмасининг сополи сепараторлари ишлатилади.

Биомассани филтрлаш самараси ишлатилаётган ускуна типига, озика муҳити

таркибига, ажратилаётган бўлакчалар катта-кичиклигига, эримаган фракциялар миқдорига, филтрловчи материалнинг физик-кимёвий хусусиятларига, ҳарорат режимига ва бошқа омилларга узвий боғлиқдир. Филтрлаш жараёнини яхшилаш мақсадида културал суюқлик кимёвий қайта ишланади, яъни ишқорийлиги рН 8,85 га келтирилиб, 0,1% ли CaCl_2 эритмасига ва ҳар хил кизелгурлар (тиатомит, радиолит, микролиз, кларгелү ва ҳ.к) кўшилади. Бу тўлдирувчилар филтрлаш самарасини оширади, лекин фермент фаоллигига салбий таъсир қилади. Олинган биомасса (биошрот) стерилизация қилинади ва куритилиб чорва молларига ем сифатида ишлатилади. Културал суюқлик филтрлати эса тоза фермент препарати олиш учун қайта ишлашга юборилади.

қаттиқ озика муҳитида ўстирилган микроорганизмлардан ферментларни экстракция қилиш

Ҳамма ферментлар асосан сувда эрувчандир. Шунинг учун энг яхши экстрагент бўлиб сув ҳисобланади. Микроорганизмлардан ферментларни олиш учун улар майдаланиб қилиниб, хужайра деворлари механик ёки автоматик ҳолда бузилиб, экстракция жараёнига жалб қилинади. Бу усулда ҳам ҳўл ҳолдаги, ҳам қуруқ ҳолдаги микроорганизмдан фермент эритмасини олиш мумкин.

Биомассадан фермент экстракциясини тўлиқ амалга ошириш учун: ҳарорат, рН, жараён давомийлиги, экстракция ускунасининг конструктив хусусиятлари, ажратилаётган фермент табиати ва бошқа бир қанча омилларга боғлиқ. Бу омиллар ҳар бир продуцент мисолида алоҳида тадқиқотлар ёрдамида аниқланади ва тавсия этилади. Масалан, ҳарорат экстракция жараёнига катта таъсир кўрсатади, яъни жуда кўп ферментлар термолабил бўлиб, ҳаттоки, $35-40^{\circ}\text{C}$ да инактивацияга учрайди.

Шунинг учун завод шароитида иложи борича сувнинг ҳарорати $22-25^{\circ}\text{C}$ да ушлаб турилади ва ҳар хил микрофлора ўсмаслиги учун антисептиклардан (формалин, бензол, толуол, хлороформ ва ҳ.к) фойдаланилади. Кўпчилик ҳолларда ферментларни рН 5-7 кўрсаткичида тўлиқ ажратиш олиш мумкин.

Биошрот билан ферментларнинг кам исрофгарчилиги асосида қуюқлаштирилган экстрактлар олиш учун махсус экстракция ускуналарини ишлатиш даркор. яқингача диффузияли батареялар кенг қўламда ишлатилар эди. Бу қурилмада экстракция қилинган микроорганизм ферменти нисбатан кўп фаолликни йўқотади ва қўл ишига асосланган ҳолда кўп харажат талаб қилади. Шу билан бирга кам самарадордир. Шунинг учун тўхтовсиз ишловчи экстракция ускуналари устида тадқиқотлар олиб борилмоқда. Булар жумласига фермент саноатида бир мунча қизиқиш уйғотган юқори босимда ишловчи “Ниро Атомайзер” (япония) фирмаси ва ротор типидagi “Роунс-Даунс” фирмаси экстракторларидир.

Лекин ҳозирги вақтда пресс-диффузия жараёнига асосланган ускуналарга қайтиш анъанаси кузатилмоқда. Унинг моҳияти шундаки, сувда ушлаб турилган култура прессланади ва яна сувда тиндирилиб прессланади ва ҳ.к. ларга асосланади. Эҳтимол экстракциянинг бу усули келажакда ўз ривожини топиши мумкин.

Вакуум-буғлантириш усулида фермент эритмаларини қуюқлаштириш

қаттиқ ва суюқ озика муҳитларида ўстирилган микроорганизмларнинг экстрактлари сақлаш учун чидамсиздир. Тайёр техник препарат формаларини (П2х ва Г2х) олиш учун уларни қуюқлаштириш керак. қуруқ техник ёки тоза фермент препаратларини олишда вакуум-буғлантириш усули ҳам бир босқич бўлиб ҳисобланади.

Одатда ферментлар буғлантириш ҳароратига жуда таъсирчан бўлади. Шунинг учун қуюқлаштиришнинг асосий шarti паст ҳароратда қайнатиш ва жараёнини қисқа муддат ичида олиб бориш билан бирга, буғлантирилаётган суюқликни қизиб кетишни ва ферментларнинг инактивацияга учрашини олдини олишдир.

Агарда қуюқлаштирилаётган эритма қанчалик тоза бўлса, шунчалик кам миқдорда ҳар хил моддаларни кам тутати ва ундаги ферментлар юқори ҳароратга жуда ҳам таъсирчан бўлади. қаттиқ озика муҳитида ўстирилган организм экстрактида жуда кўп миқдорда химояловчи бирикмалар бўлади ва улар қуюқлаштириш жараёнида фермент

инактивациясининг олдини олади, лекин културал суюқлигини куюқлаштиришда бунинг аксини кузатиш мумкин, яъни фермент кўп миқдорда ўз фаоллигини йўқотади.

куюқлаштириш жараёнида фермент эритмаларидаги моддаларнинг миқдори ва минерал таркиби бир мунча ўзгаради, куюқ модда ҳисобига эса 11-20% гача камаяди ва куюқлашган экстрактнинг рН кўрсаткичи ҳам ўзгаради. Продуцентларнинг турига қараб уларнинг културал суюқликлари ҳам ҳар хил кимёвий таркибга ва ферментлар комплексига эга бўлганлиги учун, вакуум-буғлантиришнинг ҳарорат режимлари тадқиқот йўли билан аниқланади.

Фермент фаоллигини куюқлаштириш жараёнида йўқотилиши нафақат уни олиб борилиш режимига, балки ускуна ёки курилманинг конструкциясига ҳам боғлиқдир. Кейинги йилларда вакуум-буғлантиргич ускуналари анча такомиллаштирилмоқда. Ушбу ускуналар трубка шаклида (горизонтал, вертикал ва қия) бўлиб, жараённинг ўтиш муддатини 10 маротабага яқин қисқартирди ва ферментнинг фаоллиги йўқолишини бир мунча камайтирди. Булар жумласига “Алўфа-Лавалў” (Швеция), “Единство” (Югославия), “Люва” (Швейцария), “АРV” (Франция) ва бошқа бир қанча фирмалар ускуналарини киритиш мумкин ва уларнинг самарадорлиги 200 дан 20000 л/с ни ташкил қилади ҳамда ферментнинг фаоллиги 10% атрофида йўқотилади.

Ушбу ускуналар юқори самарадорлигига қарамай вакуум-буғлантириш усули билан ферментларни куюқлаштириш кўпгина камчиликлардан холи эмас. Шунинг учун бу усул ўз ўрнини аста-секин ултрафилтрлаш усулига бериши мумкинлиги яққол исботланмоқда.

Фермент эритмаларини мембраналар ёрдамида тозалаш

Мембранали тозалаш усулига диализ ва электродиализ, биромембранали усулга эга қайтарилувчан осмос, ултрафилтрация, микрофилтрация ва нозик филтрация кабилар киради.

Эритмадаги моддаларни диализ усулида ажратиш мембранани модда массасига қараб танлаб ўтказувчанлик хусусиятига асосланган. Бу жараён учун ярим ўтказгич мембрананинг ҳар икки томонида эритмалар миқдорининг фарқи вужудга келиши керак. Диализ жараёни ушбу тенглик билан ифодалаш мумкин:

$$Q \text{ қ } D_d S \Delta C$$

бунда, Q - маълум вақт ичида мембранадан ўтган модда миқдори; D_d - диализ коэффициент; S - мембрана сиртининг юзаси; ΔC - мембрананинг ҳар икки томонидаги моддалар миқдорининг фарқи.

Диализдан фермент препаратларини кичик молекулали моддалардан тозалашда фойдаланилади. Масалан, фермент эритмаларини шакар, аминокислоталар, минерал тузлар ва бошқалардан 60-100% гача бўлган миқдорда тозалашга эришиш мумкин. Айниқса ферментлар юқори миқдорли тузлар билан чўктирилганда диализдан ва электролиздан унумли фойдаланиш керак. Лекин тўртламчи структурага эга бўлган ферментларни ва металлоферментларни ажратишда электродиализдан фойдаланиш мумкин эмас, яъни фермент ушбу жараёнда ўз фаоллигини йўқотади.

Диализ жараёни жуда секин ўтувчи жараёндир ҳамда эритманинг миқдори кўп бўлганда, жуда кўп миқдорда мембрана сарфланади. Диализда қуйидаги ҳар хил кўринишдаги ярим ўтказгич мембраналар ишлатилади: пергамент, целлофаннинг ҳар хил турлари, ултрафилтрацияда ишлатиладиган мембраналар ва бошқаларидир.

Диализ усули бир қанча камчиликларга эга бўлганлиги сабабли ҳозирги кунда ишлаб чиқаришда ишлатилмайди. Баъзи илмий лабораторияларда ферментларни юқори тозаликда олиш учун ишлатилиши мумкин.

Баромембрана усули ишлатиладиган мембраналар тирқишларининг катта-кичиклигига қараб табақаланади. Масалан, қайтарилувчан осмос ($F3 \times 10^{-4}$ мкм);

ультрафилтрация (15×10^{-5} мкм); микрофилтрация (0,2 мкм) ва нозик филтрация (10 мкм) дир. куюклаштириш ва тозалашнинг осмос ва ультрафилтрация усуллари кимё, нефтни қайта ишлаш, озик-овқат, фармацевтика ва фермент саноатларида жуда кенг тарқалган. Энг асосий жараёни жуда ҳам кам харажатлар ва энергия ҳисобига олиб борилишидир.

Ультрафилтрация жараёнида ферментларни ҳарорат таъсиридаги инактивацияси умуман бартараф қилинган бўлиб, бирваракайига эритма бир қанча балласт бирикмалардан хона ҳароратида тозаланади. Ушбу жараён юқори босим остида ўтганлиги учун самарадорлиги ҳам юқоридир. Бу усулнинг ҳам асосий элементи бўлиб мембраналар ҳисобланади. ҳозирги кунда целофанлардан, каучик, полиэтилен, полистирол, целлюлоза ва бошқа бир неча хил материаллардан тайёрланган мембраналар ишлатилмоқда.

Мембраналар хусусиятига кўра 0,05-2 мкм ли бир қаватли - изотроп ва икки қаватли - анизотроп турларига бўлинади. “Амикон” фирмасининг (АҚШ) “Миллипор” ва “Диаффо” мембраналари жуда ҳам машҳурдир ва улар ҳар хил шароитларга мослаб ишлаб чиқарилади, яъни улардан фойдаланиш тармоқлари жуда кўпдир.

Ультрафилтрация жараёни кўп жиҳатдан ускунанинг тузилишига ва мембраналарнинг техник хусусиятларига боғлиқдир. ҳозирги кунда мембраналар бир қанча ривожланган давлатларда, яъни АҚШ (Акбор, Дюпон, Дорр-Оливер, Амикон, Хавенз), Франция (Рамикон, Дедремо) ва бошқаларда ишлаб чиқарилади.

чўктириш усуллари ва унинг назарияси

Саноат учун зарур бўлган кўпчилик ферментлар сувда эрувчан оксиллардир.

Фермент эритмалари олиниш манбаларига қараб микроорганизмлар лизатлари, экстрактлари, културал суюқлик филтратлари, ўсимлик ёки ҳайвон тўқималари гомогенатлари бўлиши мумкин. Бу фермент эритмалари таркиби жуда мураккаб тизимга эга. Унда ферментлардан ташқари коллоид табиатига эга бўлган ҳар хил бирикма ва моддалар ҳам учрайди. Бундай мураккаб тизимлардан ферментларни ажратиб олиш мушкул вазифадир.

Ферментни кўпроқ ва фаол ҳолда ажратиб олишни таъминлаш учун барча эҳтиёткорлик чораларини кўриш даркор.

Маълумки, оксилнинг гидрофоб гуруҳлари оксил молекуласи ичида тўпланишга ҳаракат қилади, лекин уларнинг етарлича миқдори молекула сиртида жойлашади. Оксилни ҳар хил эритувчиларда эриш даражаси молекула сиртида гидрофоб ва гидрофил қолдиқларнинг тарқалиши билан белгиланади.

Оксилларни асосий эритувчиси бўлиб ҳисобланмиш сувнинг баъзи хусусиятларини (ҳарорат, рН, ион кучи, нейтрал тузлар, органик эритувчилар ёки инерт бирикмаларни кўшиш йўли билан) ўзгартириш ҳисобига, оксил молекуласининг гидрат ёки солүват қатламига таъсир қилиб агергацияга учратиш ва чўкмага тушириш мумкин. Саноатда асосан органик эритувчилар ёки тузлар билан чўктиришдан фойдаланилади. Бу усуллар бир-биридан чўктириш механизми билан фарқ қилади.

Нейтрал тузлар ёрдамида чўктириш

Ферментларни тузлар ёрдамида чўктириш жараёни асосан оксил молекуласини гидрофоблиги даражасига боғлиқ. Типик оксил молекуласи сиртида бир қанча аминокислоталар (тирозин, триптофан, лейцин, изолейцин, метионин, валин ва фенилаланин) занжири шаклида ёпишган гидрофоб қисмларга эга. Оксил молекуласининг гидрофоб қисми сув билан тўқнашганда сув молекулалари билан мўлжалланган қават ҳосил бўлади ва шу жойлар "музлатилган" ҳолатда бўлади. Бундай тартибли структуралар термодинамик жиҳатдан чидамли эмасдир. Агарда сув молекулаларини оксил табиатига ўхшамаган моддалар билан имобилизация қилинса, оксил молекулалари ўзаро таъсирга кириб агрегатлар ҳосил қила бошлайди.

Маълумки тузларнинг ионлари гидратланади, агарда оксил эритмасига маълум миқдорда туз қўшилса у сув билан боғланади ва сувдан бўшаган оксил молекулалари

агрегатлар ҳосил қилади. Туз ионлари қанча кўп бўлса, оксилларнинг агрегатланиши ҳам шунча кучаяди ва чўкмага тушиши ортади.

Тузлар билан чўктириш жараёни таъсирга кўра ҳар хил оксилларда ҳар хил бўлади. Бу биринчидан, оксил молекуласи сиртидаги гидрофоб қисмларнинг миқдори ва ўлчамига боғлиқ, қанча шундай қисмлар кўп бўлса шунча оксил тез чўкмага тушади. Баъзи оксиллар борки тузларнинг энг юқори миқдорида ҳам чўкмага тушмайди. Чўктириш жараёнида оксиллар ёнида турган бошқа оксиллар билан ҳам агрегат ҳосил қилиб чўкмага тушиши мумкин. Бунда бир қанча ферментлар комплексини олиш мумкин. Лекин фракцияларга бўлиб чўктирилса, бир мунча юқори натижага эришиш мумкин.

Оксилларни тузли эритмаларда эрувчанлиги Коннинг эмпирик тенгламасига бўйсунди:

$$\lg S + \lg S_0 - k_s \mu,$$

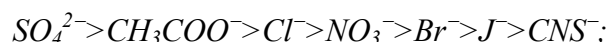
бунда, S , S_0 - оксилнинг тузли эритма ва тоза сувдаги эрувчанлиги; k_s - тузлаш константаси; μ - эритманинг ион кучи.

Тузлар билан чўктириш жараёнини унумли ўтказиш учун $k_s \mu$ кўрсаткичи иложи борица катта бўлиши керак. k_s кўрсаткичи тузнинг табиатига боғлиқ бўлиб, водород ионлари миқдorigа боғлиқ эмас.

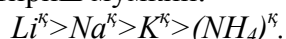
Ушбу жараён гидрофоб ўзаро таъсирга асосланган бўлсада унинг боришига таъсир қилувчи бошқа омиллар ҳам мавжуддир. Улар: мухит рН кўрсаткичи, ҳарорат, фермент эритмаси тозалиги даражаси, жараёни ўтказиш муддати ва бошқалардир.

Туз билан чўктиришда асосан ишқорий металлларнинг нейтрал тузлари ишлатилади. ҳар хил ионларнинг чўктириш самарадорлиги уларнинг ион кучига боғлиқ.

Натрий тузлари анионларини тузлаш таъсири кучига қараб қуйидагича жойлаштириш мумкин:



катионларни эса қуйидагича жойлаштириш мумкин:



Фермент препаратларини туз ёрдамида чўктирилганда уларнинг таркибида 60-85% гача ҳар хил балласт қўшимча моддалар учраши мумкин. Ушбу жараённинг энг қийин босқичи, бу - тузни қўшиш ва уни эритишдир. Эритмада тузнинг локал миқдорини ошириб юбормаслик учун у аввал майдаланиб, секин асталик билан маълум бир қисмдан қўшиб борилади ва тинимсиз аралаштириб турилади. Аралаштириш давомида кўпик ҳосил бўлишига йўл қўймаслик керак. Жараён эриган ва агрегатланган оксилларнинг мувозанати ҳосил бўлгунча 20-40 мин, баъзида бир неча соат давом этади.

Туз билан чўктириш жуда ҳам кўп омилларга боғлиқ бўлган мураккаб технологик жараёндир. Шуни эсда тутиш керакки, туз ҳеч қачон ферментни бутунлай чўктирмайди, балки унинг эрувчанлигини пасайтиради холос. Агарда эритмада 1 мг/мл оксил бўлса, унинг 90% и чўкмага тушиши мумкин, лекин эритмада бор-йўғи 0,1 мг/мл оксил бўлса ҳеч қандай фермент препаратини олишнинг иложи бўлмайди.

Нейтрал тузлар билан оксилларни чўктириб фермент препаратларини олиш усуллари асосан чет элларда кенг тарқалган.

Органик эритувчилар ёрдамида чўктириш

Ферментларни сувда эрувчан органик эритувчилар билан чўктириш усуллари саноат миқёсида кенг қўламда қўлланилади. Оксилларни чўктириш самараси органик эритувчилар таъсирида сувнинг фаоллигини камайиши билан узвий боғлиқдир.

Эритувчининг миқдори ортиши билан ферментнинг зарядланган гидрофил молекулаларини сув таъсирида солватланиш қобилияти пасаяди. Оксилнинг гидрофоб қисмидаги сув молекулалари органик эритувчи томонига ўта бошлайди ва натижада ферментнинг эрувчанлиги пасаяди. Оқибатда оксил молекулалари агрегатланади ва

чўкмага тушади.

Оқсилларни агрегатланиши электростатик ва Ван-дер-Ваалс кучлари таъсирида, алоҳида жойлашган оқсил молекулалари ўртасида юзага келади.

Оқсилларни агрегатланиши жараёни ва чўкма ҳосил бўлиши чўктиришнинг бир қанча омилларига боғлиқдир. Шулардан бири оқсил молекуласининг ўлчамидир. Чўктириш жараёнида оқсил молекуласининг ўлчами қанчалик катта бўлса, эритувчининг салбий таъсир қилувчи миқдори шунчалик паст бўлади. Бу боғлиқликка молекуланинг гидрофоблик даражаси, солват қаватига чидамлилиги ва бошқа омиллар таъсир қилиши мумкин.

Чўктириш учун ишлатиладиган органик эритувчи сув билан тўлиқ аралашини ва фермент билан эса алоқада бўлмаслиги керак. Асосан бу жараён учун этил спирти, ацетон ва изопропил спирти кенг қўлланилса, метанол, н-пропанол, диоксан, 2-метоксиэтанол ва бошқа спиртлар, кетонлар, эфирлар ва уларнинг аралашмалари камроқ ишлатилади. Эритувчиларни танлашда уларнинг токсиклигига, портлаш хавфидан ҳолислигига ва регенерация бўлиш қобилиятига эътибор бериш керак. Ишлаб чиқариш учун этил спирти ва изопропанол энг яроқли бўлиб ҳисобланса, ацетоннинг кўрсаткичлари эса сал пастроқдир. Булар орасида энг истиқболлиси изопропанолдир. Бу эритувчилар ёрдамида ферментларни комплексларга ажратиш ёки фракциялар ҳолида чўктириб олиш мумкин.

Фермент препаратларини чўктириш учун нафақат эритувчининг табиати ва миқдори, балки электролитларнинг иштироки, чўктириш ҳарорати, муҳит рН кўрсаткичи, куруқ моддаларнинг таркиби ва миқдори каби бир қанча омилларга эътибор бериш керак.

Чўктириш эритмасида баъзи ионларнинг учраши фермент мўътадиллигига таъсир қилиши мумкин. Масалан, $\text{Ca}^{2\kappa}$ ионлари α -амилаза, протеиназа, глюкоамилаза ферментлари фаоллигига ижобий таъсир қилса, магний, марганец, кобальт каби метал ионлари ҳимоя вазифасини бажаради.

Шулар билан биргаликда баъзи металлларнинг ($\text{Fe}^{2\kappa}$, $\text{Pb}^{2\kappa}$, $\text{Cu}^{2\kappa}$, $\text{Ag}^{2\kappa}$, $\text{Ni}^{2\kappa}$, $\text{Al}^{3\kappa}$, Hg^{κ} ва х.к.) ионлари салбий таъсир кўрсатади ва уларнинг эритмада бўлиши мақсадга мувофиқ эмасдир. Эритмада электролитларнинг бўлиши эритувчи сарфини камайтиришга ва чўкма структурасини яхшилашга хизмат қилади.

Фермент эритмаси ва эритувчининг ҳарорати фермент чўктириш жараёнида паст бўлишига ҳаракат қилиш керак. Спирт ва ферментнинг сувли эритмаси аралаштирилганда иссиқлик ажралиб чиқади ва аралашма ҳарорати $5-10^0\text{C}$ га кўтарилади. Агарда спирт олдиндан совутилган бўлмаса ферментларнинг инактивациясини кузатиш мумкин. Бу ҳодиса нафақат термоинактивацияга, хаттоки фермент молекуласини денатурациягача олиб келади.

Фермент препаратларини чўктиришда рН кўрсаткичи жуда катта аҳамиятга эга. Бир хил фермент эритмасидан ҳар хил рН кўрсаткичи таъсирида бир-биридан чўкмаси миқдори ва фермент фаоллиги билан фарқ қилувчи препаратлар олиш мумкин. Маълумки ферментлар ўзларининг изоэлектрик нуқталарида оқсил агрегатлари ҳосил қилиб тўлиқ чўкмага тушадилар. Оқсилларни изоэлектрик нуқталарида чўктирувчи реагентлар ишлатмай чўктириш жараёни изоэлектрик чўктириш дейилади.

Органик чўктирувчиларни изоэлектрик нуқта рН ига яқин рН да қўллаш ферментларни осон чўктириш ва эритувчини кам миқдорда сарфлаш учун хизмат қилади. рН кўрсаткичи изоэлектрик нуқтадан четга чиқса, чўкма унуми ва фермент фаоллиги 30-50% гача йўқотилади.

Фаол ферментни препарат ёки мўтадил структурали чўкма ҳолида олиш учун эритмада 10-12% атрофида куруқ модда миқдори бўлиши керак. Кўп тадқиқотлардан маълумки, ферментларни чўктиришда, айниқса протеолитик ферментларни, куруқ модданинг энг мўтадил миқдори 10% бўлиши керак.

Юқорида қайд қилинган омиллар қаторида фермент эритмаларини эритувчи билан алоқада бўлиш муддати ҳам катта аҳамиятга эга. Фермент саноатида тўхтовсиз ишлайдиган чўктирувчиларда ушбу вақтни жуда ҳам қисқартиришга эришилгандир, бу

албатта фермент фаоллигини камайишини олдини олади.

Органик эритувчилар билан чўктириш самарадорлиги шу жараёнга мўлжалланган ускунага ҳам узвий боғлиқдир. Бундай ускуналар асосан фермент эритмаларини қабул қилгич, тўхтовсиз аралаштиргич, фермент эритмаси ва эритувчини тўхтовсиз равишда узатувчи контурлар, сепаратор ва автоматизация тизимларидан тузилган бўлади. Цилиндр шаклидаги аралаштиргичдан фермент эритмаси ва эритувчи мураккаб ҳаракат йўналиши бўйлаб қисқа вақт ичида аралашиб ўтади ва натижада ҳосил бўлган аралашма сепаратор қисмига узатилади.

Сепараторда чўкмага тушган оксил моддалари ажратиб олинади. Бундай қурилмада фермент билан эритувчининг алоқа муддати ўн маротабагача қисқартирилади ва ферментнинг чўкмага тушиш унуми 15-20% гача ортади. Сепараторда ажратилган чўкма ҳар хил усуллар билан мўтадил шароитда қуриб олинади. Чўкма тепасида қолган суюқлик таркибида 50-75% гача эритувчи улуши бўлади ва ректификация бўлимида регенерация қилишга юборилади.

Органик эритувчилар билан чўктириш унуми продуцент ўстирилган озиқа муҳити таркибига ва фермент препаратини қуюқлаштирилганлик даражасига ҳам боғлиқдир.

Ферментларни тозалаш усуллари

Ферментлар ва бошқа оксил моддалари ҳар хил эримайдиган бирикмаларга адсорбцияланиш (сўрилиш) қобилиятига эга. Бу хусусият оксил аралашмаларини ажратишда ва айниқса ферментларни лаборатория шароитида тозалашда ҳамда гомоген бўлган фермент препаратларини олишда ишлатилади. Адсорбция усули, шу билан бирга колонкали хроматография усуллари ферментларни юқори даражада тоза ва кўп миқдорда олиш имконини беради.

Оксилларнинг муҳим адсорбентлари бўлиб ҳар хил ионалмашувчилар, яъни кальций фосфат, алюминий гидроксид геллари ва маълум типдаги ферментлар учун махсус бўлган ҳар хил аффин адсорбентлар ҳисобланади. Ферментларни тозалаш ва оксилларни ажратиш технологияси қандай типдаги усуллигига қарамай қуйидагиларга асосланади.

Фермент махсулотини ўз таркибига олган оксиллар аралашмаси маъқул бўлган эритувчида (буферда) эритилади ва шу эритувчи билан мувозанатланган колонкага юборилади. Кейин шу колонкадан маълум таркибга эга бўлган буферни ёки миқдори ўсиб боровчи градиентли ювиш эритмаси, ёки бўлмаса ушбу фермент учун махсус бўлган боғловчи (лиганд) ёрдамида оксил босқичма-босқич ювиб олинади. Колонкадан ювиб олинган фермент препаратлари фракциялар тўпламида йиғилади ва ферментнинг тоза препаратини олиш учун бошланғич материал бўлиб хизмат қилади.

Фойдаланилган адабиётлар

1. Квеситадзе Г.И., Безбородов А.М. «Введение в биотехнологию». М.Наука. 2002 г. с. 247-281.
2. Brown L.R. World fod problems. Single cell protein. Ed. R.Mateles, S.Tannenbaum. Cambrige (Mass.): MIT press, 1998. P 11.
3. Production and feeding of single cell protein. Ed M.P.Ferranti, A.Fiechter L.: Appl Scince publ., 1980.
4. Goldberg I. Single cell protein. Ed.S.Aiba et. Al. N.Y. etc: Springer, 1985.
5. Lee J.D., Jomogata K/J //Gen and Appl Microbiol. 1980. Vol. 26. p. 133.
6. Бекер М.Е., Лиепиньш Г.К., Райпулис. «Биотехнология». М. ВО «Агропромиздат». 1990. с. 181-201.
7. Давронов К., Хўжамшукуров Н. «Умумий ва техник микробиология». Тошкент, ТошДАУ. 2004.
8. Бакай С.М. Биотехнология обогащения кормов мицеиальнўм белком. Киев. Урожай 1987.
9. Биотехнология кормопроизводства и переработки отходов. Рига: Зинатие, 1987.

10. Бўков В.А. и др. Микробиологическое производство биологически активнўх веществ и препаратов. – М. Вўсшая школа, 1987.