ТОШКЕНТ КИМЁ-ТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ ХУЗУРИДАГИ ФАН ДОКТОРИ ИЛМИИЙ ДАРАЖАСИНИ БЕРУВЧИ DSc27.06.2017.T.04.01РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ

ТОШКЕНТ КИМЁ-ТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ

ХАСАНОВ АББОС ХАСАНОВИЧ

ПАХТА МОЙИНИ ВА БИОЛОГИК ФАОЛ ПЕПТИДЛАРНИ ОЛИШДА ФЕРМЕНТЛАРНИ ҚЎЛЛАШ ТЕХНОЛОГИЯСИНИ ИШЛАБ ЧИҚИШ

02.00.17-Қишлоқ-хўжалик ва озиқ-овқат маҳсулотларига ишлов бериш, сақлаш ҳамда қайта ишлаш технологиялари ва биотехнологиялари

ТЕХНИКА ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD) ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

Тошкент – 2019

УДК 65.335:665.117

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Хасанов Аббос Хасанович
Пахта мойини ва биологик фаол пептидларни олишда ферментларни қўллаш технологиясини ишлаб чиқиш..... 3

Хасанов Аббос Хасанович
Разработка технологии применения ферментов при извлечении хлопкового масла и биологически активных пептидов…….. 19

Hasanov Abbos Hasanovich
Development the technology of application enzymes to extract cotton-seed oil and biologicall active peptides ……. 35

Эълон қилинган ишлар рўйхати
Список опубликованных работ
List of published works…….....… 38

ТОШКЕНТ КИМЁ-ТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ ХУЗУРИДАГИ ФАН ДОКТОРИ ИЛМИИЙ ДАРАЖАСИНИ БЕРУВЧИ DSc27.06.2017.T.04.01РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ

ТОШКЕНТ КИМЁ-ТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ

ХАСАНОВ АББОС ХАСАНОВИЧ

ПАХТА МОЙИНИ ВА БИОЛОГИК ФАОЛ ПЕПТИДЛАРНИ ОЛИШДА ФЕРМЕНТЛАРНИ ҚЎЛЛАШ ТЕХНОЛОГИЯСИНИ ИШЛАБ ЧИҚИШ

02.00.17-Қишлоқ-хўжалик ва озиқ-овқат маҳсулотларига ишлов бериш, сақлаш ҳамда қайта ишлаш технологиялари ва биотехнологиялари

ТЕХНИКА ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD) ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

Тошкент – 2019

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Махкамаси хузуридаги Олий аттестация комиссиясидаB2017.2.PhD/T186 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Тошкент кимё-технология институтида бажарилган.

Диссертация автореферати учта тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) веб-сахифа www.tkti.uz манзилига ҳамда «ZiyoNet» ахборот-таълим портали www.zionet.uz манзилига жойлаштирилган.

Илмий раҳбар: **Давронов Қахрамон**
биология фанлар доктори, профессор

Расмий оппонентлар: **Исабаев Исмоил Бабаджанович**
техника фанлари доктори, профессор

Салиханова Дилноза Саидакбаровна
техника фанлар доктори, катта илмий ходим

Етакчи ташкилот: «**Тошкент ёғ-мой комбинати**» **АЖ**

Диссертация ҳимояси Тошкент кимё-технология институти ҳузуридаги DSc27.06.2017.T.04.01 рақамли Илмий кенгаш «____»____ 2019 йил соат ___ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100011, Тошкент шаҳар, Шайхонтоҳур тумани, А.Навоий кўч., 32. Тел.: (99871)244-79-20, факс: (99871)244-79-17, e-mail: tkti_info@edu.uz. Тошкент кимё-технология институти маъмурий биноси, 3-қават, анжуманлар зали).

Диссертапция билан Тошкент кимё-технология институтининг ахборот-ресурс Марказида танишиш мумкин («___»рақам билан рўйхатга олинган).Манзил: (100011, Тошкент шаҳар, Шайхонтоҳур тумани, А.Навоий кўч., 32. Тел.: (99871)244-79-20).

Диссертация автореферати 2019 йил «___» _____ тарқатилди.

(2019 йил «___» _____ даги _____рақамли реестр баённомаси).

С.М.Туробжонов
Илмий даражалар берувчи илмий
кенгаш раиси т.ф.д., профессор

А.С.Ибодуллаев
Илмий даражалар берувчи
Илмий кенгаш котиби т.ф.д., профессор

Қ.О.Додаев
Илмий даражалар берувчи илмий
кенгаш қошидаги илмий семинар
раиси т.ф.д., профессор

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурлиги. Жахон миқёсида ишлаб чиқарилаётган пептидли антиоксидантлар озиқ-овқат, фармацевтика саноати, медицина ва бошқа соҳаларда ишлатилади. Антимикроб хоссали пептидлар олиш, хом ашё заҳираларининг физик-кимёвий хоссаларини ўрганиш, уларни кам сарф-харажат қилиб, экологик тоза ҳолатда олиш, чиқитсиз технологияларини яратиш муҳим аҳамиятга эга.

Бугунги кунда дунёда ёғ-мой саноатининиг жадал ривожланиши мойли уруғларга, жумладан чигит, соя, рапс, кунгабоқар, маккажўхори ва бошқа мойли хомашёларга юқори самарали ферментатив ишлов бериш, ишлаб чиқариш технологиясини илмий асосини яратиш,модернизациялаш,мойли хомашёларни қайта ишлашда уларнинг таркибидаги турли органик бирикмаларнинг гидролитик ферментларни фаоллигига ва технологик жараёнларга таъсирини ўрганиб, ферментларни қўллаш усулларинингназариясини яратиш ва ўсимлик уруғидаги оқсиллари асосида биологик фаол моддаларни олиш бўйича устивор йўналишларда илмий-тадқиқот ишлари ривожлантирилмоқда.

Республикамизда мойли уруғларни қайта ишлаш технологиясини такомиллаштириш, рафинацияланган мойларнинг физик-кимёвий кўрсаткичларини яхшилаш ва биологик фаол моддаларни максимал даражада сақлаб қолиш, маҳсулотларни оксидланишга бўлган барқарорлиги ва сифатини узоқ муддат сақлашусулларини ишлаб чиқишга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикаси янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида «ишлаб чиқариш соҳаларини ривожлантириш, саноатни модернизация ва диверсификация қилиш, амалиётда хомашё сарфни камайтириш, энергия тежамкор усулларни қўллаш, озиқ-овқат маҳсулотларини озиқавий хавфсизлигини таъминлаш, импорт ўрнини босувчи рақобатдош маҳсулотларни тайёрлаш»[1]вазифалари белгилаб берилган. Бу борада гидролитик ферментларни қўллаб, ўсимлик мойлари ҳамда ўсимлик уруғидаги оқсиллари асосида биологик фаол пептидларни ишлаб чиқаришга йўналтирилган илмий-тадқиқотлар муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2016 йил 18 февралдагиПҚ-2492-сон «Республика озиқ-овқат саноатини бошқаришни ташкил этишни янада такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги, 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикаси янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стретегияси тўғрисида»ги, 2018 йил 19 январдаги ПҚ-3484-сон «Ёғ-мой тармоғини жадал ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарорлари ва фармони ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-хуқуқий хужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

---

[1]Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон “Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Харакатлар стретегияси тўғрисида”ги Фармони.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига боғлиқлиги.Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг V.«Қишлоқ хўжалиги, биотехнология, экология ва атроф-муҳит муҳофазаси» устивор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.Пахта мойини ва биологик фаол пептидларни олишда ферментларни қўллаш технологиясини ишлаб чиқиш бўйича М.М.Рахимов, А.И.Глушенкова, S.Latif, C.G.Soto, A.Rosenthal, B.Lamsal, P.Hanmoungjai, R.Moreau, H.Dominguez, K.Sosulski,А.Г.Сергеев, М.З.Подольский, В.Г.Щербаков, В.П.Ржехин,А.М.Голдовский, Й.Қ.Кодиров, Р.М.Мирзакаримов, С.А.Абдурахимов, М.А.Рахимджанов, А.Т.Ильясов, А.Х.Атауллаев,Х.К.Мажидов ва бошқалар илмий-тадқиқот олиб борган.

Олиб борилган илмий-тадқиқот ишлари натижасида ўсимлик мойини олиш технологиясини такомиллаштиришда соя, кунгабоқар, рапс, маккажўхори,чигит мағзига ишлов беришни кимёвий, физикавий ва физик-кимёвий усуллари, чигит янчилмасига биотехнологик ишлов бериш, экологик тоза пахта мойи ва биологик фаол моддалар ишлаб чиқариш самарадорлигини ошириш йўналишида илмий-тадқиқот ишланмаларни ишлаб чиқаришга тавсия этилган.

Шу билан бирга соя, кунгабоқар, рапс, маккажўхори ва чигитни қайта ишлашда ферментларнинг функционал хусусиятларидан фойдаланиб, қайта ишлаш технологиясини такомиллаштириш, энергия тежовчи, иқтисодий ҳамда, экологик жиҳатдан юқори кўрсаткич ва самарадорликка эга бўлган технологиялар яратиш бўйича илмий тадқиқот олиб борилмоқда.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган олий таълим муассаси илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Тошкент кимё-технология институтининг илмий-тадқиқот ишлари режасинингИТД-11-01 «Ўсимлик хомашёси асосида пептидли антиоксидантларни олиш технологиясини яратиш» (2012-2014 йй)мавзусидаги амалий лойиҳалар доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсадипахта мойини ва биологик фаол пептидларни олишдаферментларни қўллаштехнологиясини ишлаб чиқаришдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

чигиткомпонентларинингнордон ва нейтрал протеиназаларни каталитик хоссаларига таъсирини аниқлаш;

оқсилларни нордон ва нейтрал протеиназа билан гидролизланишига термик ишловларни таъсирини аниқлаш;

мойни ажратиш жараёнида чигит янчилмасига ферментатив ишловни таъсирини ўрганиш;

гидролитик ферментларни қўллаб, мойларни ноанъанавий ажратиш усулини яратиш;

чигит ва шротдаги оқсилларидан олинган пептидларни антиоксидантлик ва антимикроблик фаоллигини аниқлаш;

гидролитик ферментлар ёрдамида чигитни қайта ишлаб, антиоксидантва антимикроб хоссали пептидларни олиш технологиясини ишлаб чиқиш.

Тадқиқотнингобъектичигит, пахта шроти, пахта мойи, нордон протеиназа (ПролайвРАС 30L “ЕнзимБИОПродукт” ООО, Россия), нейтрал протеиназа **(**Нейтраза, «Новозаймс», Дания),α-амилаза (Амилекс«Новозаймс», Дания) ва β-амилаза (Диазим «Новозаймс», Дания) хисобланади.

Тадқиқотнингпредметигетероген системаларда протеолитик ферментларни фаоллиги ва барқарорлиги, чигит мағзидан олинган оқсилларни гидролизланиш даражаси, олинган пептидларни антиоксидантлик ва антимикроблик хоссалари, чигит янчилмасига ишлов беришни пахта мойини экстракциясига ва рафинациясига таъсири ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Диссертация ишини бажаришда физик-кимёвий, биокимёвий ва ферментлар инженерияси усулларидан фойдаланилганҳамда тадқиқот натижаларининг таҳлилини график шарҳларида MS Word, MS Excel дастурлари пакетидан фойдаланилган шунингдек, статистик маълумотларгаишлов беришда Matlabоперацион тизимидан фойдаланилди.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

мураккаб субстратли аралашмаларда нордон ва нейтрал протеиназаларнинг каталитик хусусиятларига таъсир кўрсатадиган омиллар аниқланган;

ёғ кислоталар, госсипол ва қаттиқ заррачалар нейтрал протеиназалар фаоллигини камайтириб оқсилларни ферментатив гидролизини 50-60% камайтириши аниқланган;

ёғ кислоталар нордон протеиназаларга нисбатан нейтрал протеиназа барқарорлигига кучлирок таъсир этиши ва фаоллигини 2-3 марта камайтириши исботланган;

госсипол нейтрал протеиназани кўпроқ инактивациялаши ва беқарорлигини 4-5 марта камайтириши аниқланган;

нордон ва нейтрал протеиназа ёрдамида рафинацияланган мой ва антиоксидант хоссали пептидларни олиш технологиясиишлаб чиқилган.

Тадқиқотнинг амалий натижалариқуйидагилардан иборат**:**

чигит янчилмасини ферментлаш учун яратилган мўътадил шароитлар технологик жараёнларни юқори тезликда ва фермент препаратларини тежаган ҳолда олиб бориш имконини берувчи технологик жараён ишлаб чиқилган;

чигит янчилмасига протеолитик ва амилолитик ферментлар билан ишлов бериб, форпресс мойини чиқиши 0,9% га оширилгани аниқланган;

пахта шроти оқсилларини ферментатив гидролизлаб, улардан антиоксидант ва антимикроб хоссали пептидлар олинган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги шундан иборатки, олинган натижаларни таҳлил қилишда замонавий физик-кимёвий ва биокимёвий

усуллардан фойдаланилган.Олинган тажриба натижалари фотоколориметр орқалиСтьюден мезони ёрдамида статистик қайта ишлаб чиқилган назарий натижаларига мослиги билан асосланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.Тадқиқот натижаларинингилмий аҳамияти шундан иборатки, нордон ва нейтрал протеиназаларни чигит оқсилларини гидролизига турли табиатли ингибиторлар бўлган кўп компонентли аралашмаларда фаоллигига таъсир этувчи омиллар аниқланган қонуниятлари билан, янчилмага намлик-иссиқлик билан ишлов бериш жараённинг оптимал шароитлари ва илмий асоси яратилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти чигит янчилмасига протеолитик ва амилолитик ферментлардан фойдаланилган ҳолда ишлов бериб, янчилманинг намлиги 13-15%, қовурманинг бошланғич ҳарорати 50-52°С бўлган шароитларида олиб боришга асосланган технологияси ишлаб чиқилган, мойни чиқишини 0,9% гача оширилганлиги ва тозаланган пахта мойини сифат кўрсаткичларининг яхшиланганлиги,пахта шротига протеолитик ферментлар ёрдамида ишлов бериб, ферментлаш жараёнини 50-52°С ҳароратда олиб боришга асосланган технология яратишга хизмат қилди.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Пахта мойи ва биологик фаол пептидларни олишда ферментларни қўллаш технологиясини ишлаб чиқишбўйича олинган натижаларасосида:

чигит янчилмасига протеолитик ва амилолитик ферментлар ёрдамида намлик-иссиқлик ишлов бериш технологияси «НурлиДон» МЧЖда амалиётга жорий қилинган («Ўзпахтаёғ» АЖнинг 2018 йил 22 майдаги МС/2-855-сон маълумотномаси). Натижада янчилмани пресслаш жараёни жадаллаштириш ва форпресс мойи чиқишини 0,9-1,1% гаошириш имконини берган;

чигит янчилмасига ферментатив ишлов бериш технологияси «НурлиДон» МЧЖда амалиётга жорий қилинган («Ўзпахтаёғ» АЖнинг 2018 йил 22 майдаги МС/2-855-сон маълумотномаси). Натижада озиқавий мой чиқиш миқдорини ошириш ҳисобигатехник мой чиқиш 1,1%га камайтириш имконини берган;

пахта шроти оқсилини нордон ва нейтрал протеиназа билан ферментатив гидролизлаб Pseudomonas aeruginosa ва Escherichia coli бактерияларга қарши антимикроб хоссали пептидларни олиш технологияси «НурлиДон» МЧЖда амалиётга жорий қилинган («Ўзпахтаёғ» АЖнинг 2018 йил 22 майдаги МС/2-855-сон маълумотномаси). Натижада глобулинни нордон протеиназа билангидролизлаб,Pseudomonasaeruginosa бактериясига қарши ва альбуминни нейтрал протеиназа билан гидролизлаб,Escherichia coli бактериясига қарши пептидлар олиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси.Мазкур натижалар 2та халқаро ва 10 та республика илмий-техник конференцияларида маъруза кўринишда баён этилган ҳамда апробациядан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши. Диссертация мавзуси ва материаллари бўйича жами 21 та илмий ишлар нашр этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий Аттестация Комиссиясининг докторлик диссертацияларининг асосий илмий натижалари чоп этиш учун тавсия этилган илмий нашрларда 9 та, жумладан 3 та хорижий ва 6 та республика журналларида мақолалар чоп этилган.

Диссертация тузилиши ва ҳажми. Диссертация кириш, бешта боб, хулоса, фойдаланилган адабиёт рўйхати ва иловалардан иборат. Асосий матнли материаллар ҳажми 120 бетданиборат бўлиб, унда 22 та расм ва 14 та жадвал келтирилган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объекти ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устивор йўналишларига мослиги кўрсатилган. Тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг **«Мойли уруғларни қайта ишлашда ферментларни қўллашни ҳозирги ҳолати»**деб номланган биринчи бобида ферментатив катализда эришилган ютуқларни қўллаб рафинацияланган мой олишда, мойли уруғларни қайта ишлашни такомиллаштиришдаги муаммолар ва тафовутлар ҳолати таҳлил қилинган.Ўсимлик мойи ишлаб чиқариш технологиясини такомиллаштиришда, медицина ва қишлоқ хўжалиги учун муҳим маҳсулотлар олишни ҳолати ва тенденцияси танқидий нуқтаи назардан таҳлил қилинган. Ўсимлик хом ашёларидан мойларни ажратишда турли хилдаги фермент препаратларини қўллаш бўйича маълумотлар келтирилган.

Адабиётлар таҳлили шуни кўрсатдики, экологик тоза ўсимлик мойи ва халқ хўжалиги учун муҳим бўлган бошқа маҳсулотларни олиш мақсадида, мойли ўсимликларни қайта ишлаш технологиясини биокаталитик асосда такомиллаштириш имкониятлари мавжуд. Шундан келиб чиқиб тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари шакллантирилган.

Диссертациянинг «**Хомашё ва олинадиган маҳсулотларнинг физик-кимёвий ва технологик таҳлил усуллари**» деб номланган иккинчи бобидапахта чигитига ферментатив ишлов беришда, ферментларни фаоллигини аниқлашни, ферментларни фаоллигига госсиполни, эркин ёғ кислоталарни, мойларни, турли хил адсорбентларни таъсирини ўрганишда қўлланилган физик-кимёвий ва биокимёвий усуллар баён қилинган. Олинган рафинацияланган пахта мойини сифат кўрсаткичларини, мойларни кислота сони ва перекис сон кўрсаткичлари, бундан ташқари пахта шроти оқсилларидан олинган пептидларни антиоксидантлик ва антимикроблик

хоссаларини аниқлашнинг таҳлил усуллари келтирилган. Пептидларни антиоксидантлик ва қайтарувчилик кучини аниқлашда фотоколлориметрик таҳлил усули ҳамда пептидларни антимикроблик хоссаларнини ўрганишда микробиологик таҳлил қилиш усулларни баён этилган.

Диссертациянинг «**Пахта чигитини қайта ишлашда протеиназани каталитик хусусиятига таъсир этувчи омиллари**» деб номланган учинчи бобида чигит янчилмасидаги компонентларни протеиназани каталитик хоссаларига таъсири ўрганилган.Бундай компонентларга, кўпинча табиий ингибиторлар, дастлабки термик ишловда ҳосил бўладиган маҳсулотлар, органик кислоталар, туз ва сирт фаол моддаларни юқори концентрацияси ва бошқалар киради. Ушбу тахминларни аниқлаш учун биз ўзида липидлар, ёғ кислоталар, госсипол ва юзасида турли кимёвий гуруҳлиқаттиқ фаза бўлган тизимни моделлаштириб, мураккаб субстрактли аралашмаларда протеиназани фаоллик ва барқарорлигига таъсир этувчи омиллар ўрганилган.

*Пахта чигитидан ажратилган оқсилларни нордон ва нейтрал протеиназалар билан гидролизланиши.*Ажратилган альбумин ва глобулин оқсилларинингнордон ва нейтрал протеиназалар билан гидролизланиши турли тезликда кечади. Нордон протеиназалар билан альбумин ва глобулинни гидролизланиши натижасида 8 соат ичида ҳосил бўлаётган реакция маҳсулотлари 1,16 ва 1,4 *мкмоль/мл* ни ташкил этди. Нейтрал протеиназа билан альбуминни гидролизи юқори тезликда кетади ва реакция маҳсулотлари 0,842 *мкмоль/мл*ни ташкил этади, глобулинни гидролизи натижасида эса 0,51 *мкмоль/мл* ни ташкил этади.

*Протеиназани каталитик хусусиятларига липид ва ёғ кислоталарнинг таъсири.*Озиқ-овқат маҳсулотлари ишлаб чиқаришда қўлланиладиган «Нейтраза» (нейтрал протеиназа) ва «Пролайв-РАС» (нордон протеиназа) ферментлари етарлича барқарор бўлиб, 90 *мин* инкубациядан кейин қолдиқ фаоллик нордон протеиназа учун 6-7%ни, нейтрал протеиназа учун эса 20%ни ташкил этади. Ҳароратни ошиши инактивация жараёнини тезлаштиради ва 50°С хароратда 90 *минут*дан сўнг фаолликни камайиши юқоридагига мос равишда 27 ва 43% ни ташкил этади.Ҳароратни 55°С гача кўтарилиши нейтрал протеиназани инактивацияланиш тезлигини оширади ва 90 *минут*дан сўнг қолдиқ фаоллик 15% ташкил этади. Худди шундай шароитда нордон протеиназа умумий фаолликнинг 52%ни йўқотади.

Шундай қилиб, нордон протеиназа нейтрал протеиназага нисбатан юқори барқарорликга эга эканлиги аниқланди.Нордон ва нейтрал протеиназага ёғ кислотаси ва нейтрал липидларни таъсири шуни кўрсатдики, ёғ кислотасини концентрациясини ошиши уларни ингибиторлаш қобилиятини оширади. Бундай холатда нейтрал протеиназага ёғ кислоталар кучлироқ таъсир этади. Нордон протеиназа бошланғич фаолликнинг бор йўғи 10% ни йўқотади.Липидларни концентрацияси 8 *мг/мл* бўлганда нордон протеиназаларни фаоллигини камайиши 16-18% ни ташкил этади, шу концентрацияда нейтрал протеиназани фаоллигини камайиши кўзатилмайди.

Ёғ кислоталарипротеиназани инактивациялашдан ташқари, унинг термобарқарорлигинисезиларли даражада камайтиради. Масалан, ёғ кислотасининг концентрацияси 8 *мг/мл* бўлганда, 50°С да, 20 *мин* сақлангандан сўнг нейтрал протеиназа 90% фаоллигини йўқотади.Шу вақт ичида ёғ кислотаси иштирок этмаганда фермент 40-45% гача фаоллигини йўқотади. Бу таъсир фақат ёғ кислотасига боғлиқ бўлмай, фермент манбаига ҳам боғлиқ. Шу сабабли нордон протеиназа ёғ кислотасини шундай концентрациясида фаолликни қисман камайтирсада (10%), барқарорсизлантириш самараси кузатилмайди.

*Нордон ва нейтрал протеиназани фаоллигига ва барқарорлигига госсиполнинг таъсири.*Олиб борилган тадқиқотлар госсиполни ферментларнинг каталитик хусусиятларига сезиларли даражада таъсир этишини кўрсатди. Бунда фойдаланилаётган фермент ва ферментация жараёнини амалга ошириш шароитлари муҳим аҳамиятга эга.Реакцион муҳитда госсипол бўлганда нордон протеиназани ингибиторлик фаоллигига камроқ таъсир этади. Нордон протеиназани фаоллигиги госсиполни концентрациясини ошиши билан ўзгармайди. Нейтрал протеиназага госсиполни ингибирлашга кучлироқ таъсир этади.Реакцион муҳитда госсиполни концентрацияси 2,5 *мг/мл* гача бўлганда нейтрал протеиназа 70%гача фаоллигини йўқотади. Госсипол иштирокида ферментнинг термик барқарорлиги ҳам ўзгаради. Масалан, госсиполни концентрацияси 1 *мг/мл*, харорат 50°С бўлганда нейтрал протеиназа 20 дақиқа инкубация қилинганда фаолликни 50% гача йўқотади. Ушбу шароитларда госсипол бўлмаган муҳитда фермент бор-йўғи 8-10%фаоллигини йўқотади.Бу таъсир нафақат госсиполга, балки протеиназани табиатига ҳам боғлиқ. Масалан, госсиполни худди шундай концентрациясида нордон протеиназани фаоллиги сезиларсиз (2%) камаяди, беқарорлаштириш самараси кузатилмайди.

Нейтрал муҳитда госсиполни беқарорлаштириш самарасини ферментни аминогруппасини госсиполни альдегид группаси билан Шиффа асосли реакцияси ҳосил бўлиши билан тушунтириш мумкин. Одатда бу реакция ишқорий рН муҳитида юз беради. Кислотали муҳитда Шиффа асоси беқарор бўлгани учун фермент билан госсипол ўртасида ковалент боғ ҳосил бўлмайди. Шунинг учун нордон протеиназаларнинг госсипол иштирокида фаоллиги ва барқарорлигининг камайиши кузатилмайди.

*Протеиназани адсорбцион ҳолати ва барқарорлигига турли биополимерларнинг таъсири.*Биз тадқиқот олиб бораётган объектда ферментлар чигит янчилмасидаги турли гуруҳ биополимерлари билан ўзаро таъсирланиши мумкин.Бундай ҳолатларда фермент сувда эримайдиган оқсиллар юзасида специфик таъсирланиш натижасида адсорбцияланган ҳолатда ёки ионли ва гидрофоб таъсирланиш натижасида маълум гуруҳлинооқсил биополимерлар билан боғланган ҳолатда бўлиши мумкин.

Ушбу фаразларни ойдинлаштириш учун, юзасида турли кимёвий гуруҳ бўлган сорбентлар асосида гетероген тизимни моделлаштириб, мураккаб субстратли аралашмаларда протеиназаларининг баъзи таъсир этиш

қонуниятларини ўрганилган. Қаттиқ фаза сифатида сорсилен-липид ишлатилаганда ферментларни фаоллигини юқори даражада камайиши кузатилди. Сирт юзаси қутбли сорбентлар (КМ- и ДЭАЭ-целлюлоза) нордон ва нейтрал протеиназани фаоллигига камроқ таъсир этди. Нордон протеиназа мисолида сорбент сифатида ДЭАЭ-целлюлоза ишлатилганда ҳаттоки ферментни нисбий фаоллиги ошди. Сорсилен-липид ва КМ-целлюлоза эса фермент фаоллигини мос равишда 90 ва 50%га камайтирди.Шундай қилиб, биз олиб борган тадқиқотлар шуни кўрсатдики, маълум сорбентлар юзасида ферментлар фақат каталитик фаолиятини камайтириб қолмай, биокатализаторларни технологияга мослигини ҳам камайтиради ва ферментлар беқарорлашади.

Юқорида келтирилган фикрларни жамлаган ҳолда шундай хулосага келиш мумкин: липидлар, ёғ кислоталар, госсипол ва турли биополимерлар томонидан ферментатив реакция самарасини камайтирилиши ушбу бирикмаларни фермент билан ўзаро таъсирланиши натижасида юз беради. Бунда нафақат эрийдиган бирикмалар, қайта ишланаётган хомашё таркибидаги эримайдиган бирикмалар ҳам қаттиқ фаза вазифасини бажариб, фермент ва оқсилларни маълум гуруҳи билан таъсирланиб, ферментларни беқарорлаштиради.

Диссертациянинг «**Чигитни қайта ишлашда ферментларни қўллаш технологиясини ишлаб чиқиш**»деб номланган тўртинчи боби гидролитик ферментларни қўллаб пахта чигитини қайта ишлаш технологиясини такомиллаштиришга бағишланган.

*Сувли муҳитдан мойни ажратишда чигит янчилмасига берилган ферментатив ишловнинг таъсири.*Маълумки, ёғли уруғларда мой олеосома шаклида бўлади.Олеосома - бу оқсилли моддалар ва бирқатламли фосфолипидлар билан ўралган липидларга айтилади.Мойларни ажратиш усулининг моҳияти шундаки, фермент олеосомани оқсилли қатламига таъсир этиб ёғларни ажралиши ва липид томчиларини агрегацияланишига олиб келади.Чигит янчилмаси оқсилларини ферментатив гидролизини мойни ажратиш жараёнига таъсири шуни кўрсатдики, протеолитик ферментлар мойларни ажратиш жараёнига ижобий таъсир этади.Ферментация натижасида мой томчилари, уни ўраб турган оқсиллардан ажралади ва бу липидларни бирлашишига ва ажратиш жараёнини тезлашишига олиб келади. Шу билан бирга бирламчи мойни сифат кўрсатгичлари ҳам яхшиланади.

*Пахта мойини форпресслаб олишда амилаза ва протеиназа ферментларининг таъсири.*Пахта чигитидан анъанавий технология бўйича ўсимлик мойини ажратиш - мағзини олиш, уни қовуриш, пресслаб мойни ажратишга асосланган. Бунинг натижасидамойларнинг маълум қисми чигит таркибига кирадиган оқсиллар ва бошқа таркибиймоддалар билан шимилиши натижасида кунжарада қолиб кетади.Кунжарада қолган мой органик эритувчилар ёрдамида экстракцияланади.Ўсимлик хом ашёси таркибидаги компонентларни мой ютиш ва эмульгирлаш хусусиятларини ушбу компонентларга ферментатив таъсир этиб камайтириш мумкин. Бунда хом

ашёни ферментациялаш учун фермент ва жараённи олиб бориш шароитларини танлаш муҳим аҳамият касб этади. Мой сақловчи уруғларни структуравий таркибига қараб керакли каталитик хоссага эга бўлган ферментлар танланиши керак.Нейтрал протеиназани 95°С термик ишлов берилган чигит янчилмаси оқсилларига таъсири натижалари 1 жадвалда келтирилган.

1-жадвалда келтирилган маълумотлардаолдиндан термик ишлов берилган чигит янчилмаси таркибидаги оқсилларнинг гидролизлашга ижобий таъсир этиши кўрсатилган. Бунинг натижасида оқсилларнинг гидролизлаш маҳсулотлари 1,7-2,0 марта ошади. Масалан, 60 *мин* давомида чигит янчилмаси оқсилини ферментлаш натижасида 11,7 *мкмоль/г* ўрнига 23,5±1.0 *мкмоль/г* гидролиз маҳсулотлари ҳосил бўлади.

Жадвал 1

Нейтрал протеиназа таъсирида пахта чигити янчилмаси оқсилларини гидролиз махсулотларини хосил бўлиши.

Т/р	Ферментация давомийлиги,*мин*	Гидролиз маҳсулотлари (аминокислоталар), *мкмоль/г* янчилмага нисбатан	
		Термик ишлов берилмаган чигит янчилмаси	Термик ишлов берилган чигит янчилмаси
1	0	0	0
2	30	10.8±0.4	17.5±0.8
3	60	11.7±0.5	23.5±1.0
4	90	12.0±0.5	24.8±1.0
5	120	12.0±0.5	26.3±1.0

Углеводларни амилолитик ферментлар билан гидролизланишига чигит янчилмасига олдиндан термик ишлов бериш қисман таъсир этади. Чигит янчилмасига ферментатив ишлов беришда ҳосил бўладиган қайтарувчи қандларни ҳосил бўлиши 2-жадвалда келтирилган.

Жадвал 2

Чигит янчилмаси углеводларини ферментатив гидролизида қайтарувчи қандларни* ҳосил бўлиши

Қўлланилган фермент	Қайтарувчи қандлар, *мг/г* янчилмага нисбатан	
	Термик ишловсиз	Термик ишлов билан
α-амилаза	22.6±1.0	12.8±0.5
α-амилаза ва β-амилаза	34.6±1.3	31.0±1.3

Келтирилган маълумотлардан кўриниб турибдики, чигит янчилмасинианα-амилаза билан ферментлашда қайтарувчи қандларни ҳосил бўлиши 22.6±1.0 *мг/г*ни ташкил қилади. Биргаликда α-амилаза ва β-амилаза ишлатилганда

углеводларни гидролизланиш тезлиги янада ошади ва қайтарувчи қандларни ҳосил бўлиши 34,6±1,3 *мг/г* ни ташкил этади.

Термик ишлов берилган чигит янчилмаси α-амилаза билан ферментланганда қайтарувчи қандларни ҳосил бўлиши 12.8±0.5 *мг/г* ни,*α*- ва β-амилаза ишлатилганда эса 31.0±1.3 *мг/г* ни ташкил қилади.

Шундай қилиб, чигит янчилмасига термик ишлов бериш ферментатив жараёнларга ижобий таъсир этиб, оқсилларни гидролизланиш даражасини оширади, углеводларни гидролизланиш тезлиги эса, сезиларсиз даражада камаяди.

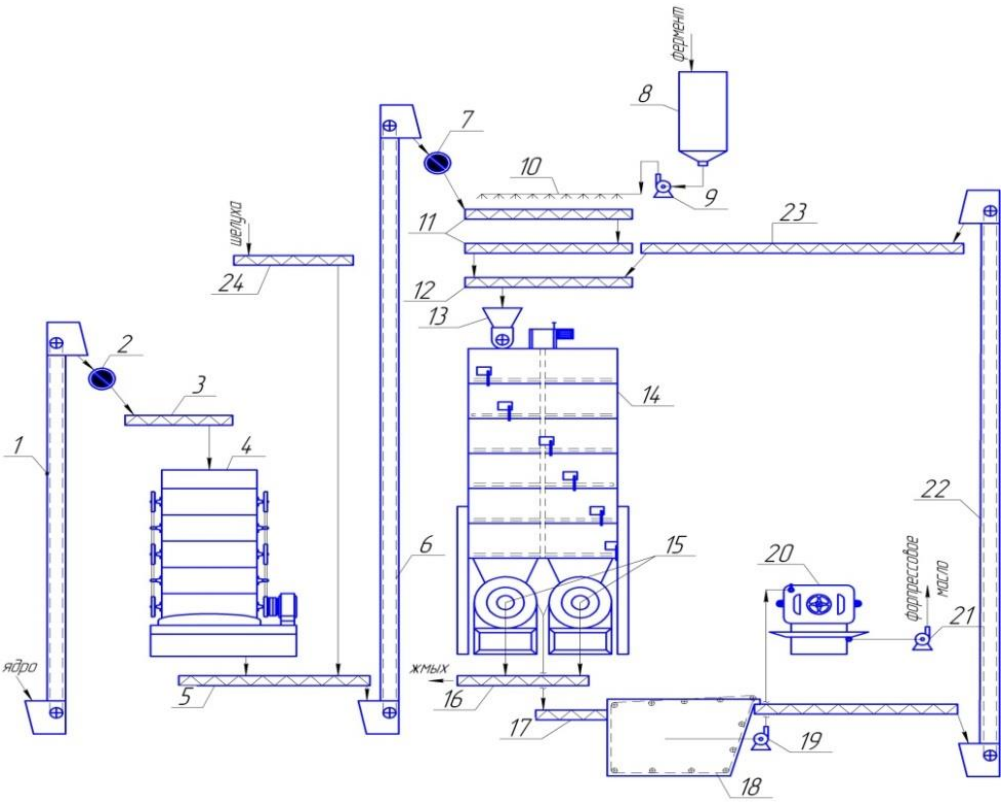
*Ферментлар ёрдамида мойлар олишни такомиллаштирилган технологиясини яратиш.*Чигит янчилмасига қовуришдан олдин амилаза ва протеиназа билан ферментатив ишлов бериш мойни ажратиш жараёнига ижобий таъсир этади.Ферментатив ишловни чигит янчилмасидан олинаётган пахта мойига таъсири 3-жадвалда келтирилган.

Жадвал 3

Ферментатив ишловни пахта мойини ажратишга таъсири

№ п/п	Кўрсаткичлар	Ферментатив ишлов берилмаган чигит янчилмаси	Ферментатив ишлов берилган чигит янчилмаси
1	Уруғни мойлилиги даражаси, %	20.3±0.3	20.3±0.3
2	Форпресс мойини чиқиши, %.	12.6±0,5	13.5±0.5
3	Экстракцион мойни чиқиши, %.	5.4±0.2	4.5±0.2

Чигит янчилмаси ферментланганда форпресс мойини чиқиши ошади ва 13.5±0.5% ни ташкил этади. Ферментланмаганда эса форпресс мойини чиқиши 12.6±0.5% ни ташкил этади. Чигит янчилмасига ферментатив ишлов беришни технологияси 1 -расмда келтирилган.



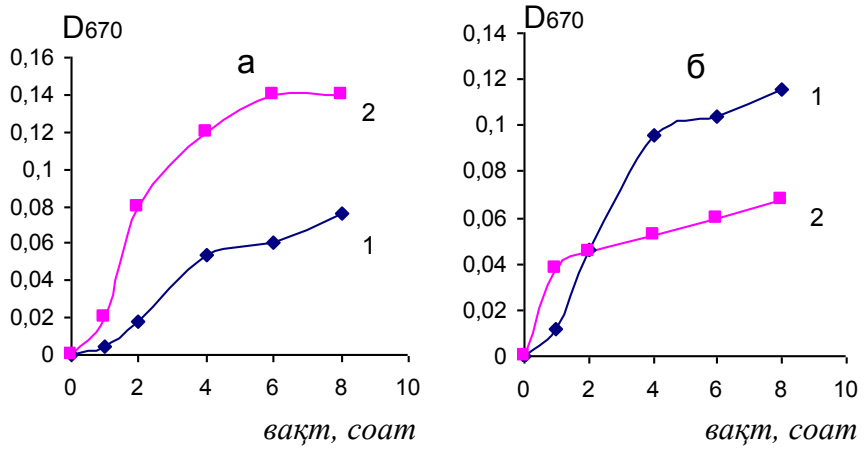
1,6-нория,2,7- электромагнитли сепаратор, 3-тақсимловчи шнек, 4-беш валикли майдалагич ВС-5, 8-фермент учун сиғим, 9-насос, 10-тақсимлагич, 11- янчилмани намлаш ва ферментлаш учун шнек, 12-буғлатиш учун шнек, 13-тақсимловчи шнек,14-олти касқонли қовуриш қозони Ж-68, пресс15-МП-68, 16-кунжара учун шнек, 17- мой учун шнек, 18- фуза туткич, 19-мой учун насос, 20- фильтрпресс, 21- мой учун насос, 22-нория, 23- мой чўкмаси учун шнек.

1-расм.Чигит янчилмасига ферментатив ишлов бериш технологик схемаси

Бунинг натижасида экстракциялаб олинадиган мойни миқдори камаяди ва экстракцияда ишладиладиган бензинни миқдорини тежашга имкон яратади. Бу маълумотлар мойли ўсимликлардан мойларни ажратишда қўлланилиши мумкин.

Диссертациянинг «**Пахта шроти оқсиллари асосида биологик фаол пептидларни олиш технологиясини яратиш**»деб номланган бешинчи боби пахта шроти оқсили гидролизатидан антиоксидант ва антимикроб хоссали пептидларни олишга бағишланган.

*Пахта шротининг турли оқсилларидан олинган гидролиз маҳсулотларининг антиоксидантлик фаоллиги.*Олиб борилган тадқиқотлар шуни кўрсатдики, турли оқсиллардан олинган пептидлар бир-биридан қайтарувчилик кучи билан фарқланади. Олинган натижалар 2-расмда келтирилган. Келтирилган маълумотлардан кўриниб турибдики, нейтрал протеиназа билан альбуминдан олинган пептидлар (2а-расм, 2-эгри чизиқ), нордон протеиназа билан олинган пептидларга нисбатан (2а-расм, 1-эгри чизиқ) юқори қайтарувчи кучга эга. Пептидлар нордон протеиназа билан глобулиндан олинганда эса, уни қайтарувчи кучи юқори бўлади (2б-расм, 1-эгри чизиқ).

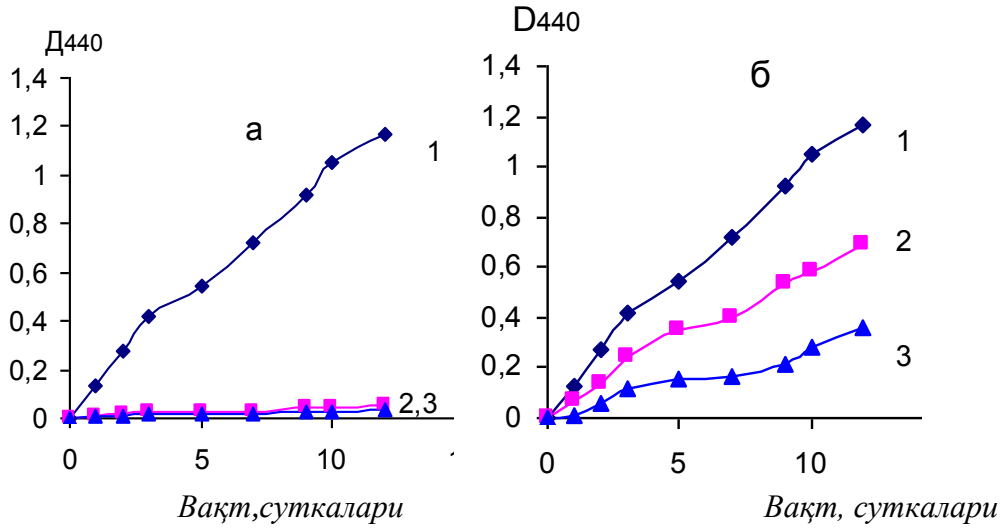


2-расм. Қайтарувчилик кучига нордон (1) ва нейтрал (2) протеиназа билан чигит альбуминидан (а) ва глобулинидан (б) олинган маҳсулотларни гидролизланиш даражасига боғлиқлиги

Нордон ва нейтрал протеиназа билан глобулиндан олинган гидролиз маҳсулотлари антиоксидантлик фаоллиги бўйича бир-биридан сезиларли даражада фарқланади.

Чигит оқсилидан нордон ва нейтрал протеиназа ёрдамида олинган пептидларни (+)-катехинни оксидланишига таъсири 3-расмда келтирилган. Келтирилган маълумотлардан кўриниб турибдики, (+)-катехинни оксидланиш тезлигини камайиши ҳамма пептидларда кузатилди. Катехиннинг оксидланиш тезлигини кучли камайиши альбуминдан олинган пептидларда кузатилган (3а-расм, 2,3-эгри чизиқлар).

Нейтрал протеиназа билан олинган пептидлар иштирокида катехин эритмасини қорайиши тезлиги паст бўлган (3б-расм, 3 эгри чизиқ). Катехин эритмасини 12 кундан кейин оптик зичлигини ўзгариши назоратда 1,170 бўлса, нордон протеиназа билан олинган пептидлар учун 0,690 ни ва нейтрал протеиназа билан олинган пептидлар учун 0,360 ни ташкил этди.



1-назорат, 2- нордон протеиназа билан олинган пептидлар, 3- нейтрал протеиназа билан олинган пептидлар.

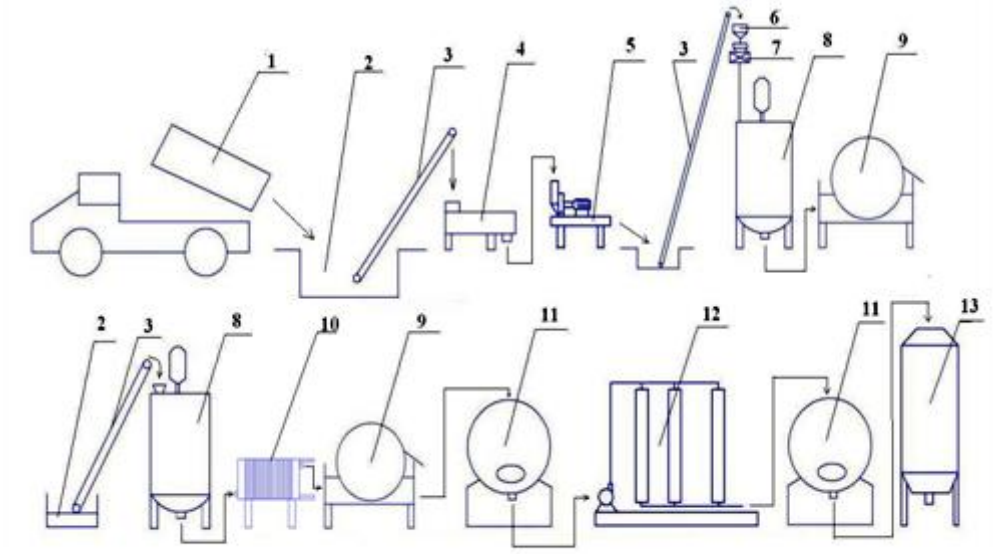
3-расм. Чигит альбуминидан (а) ва глобулинидан (б) олинган пептидларни (+)-катехинни оксидланиш тезлигига таъсири

Чигит оқсилидан олинган гидролиз маҳсулотларини антимикроб фаоллиги бўйича қилинган тадқиқотлар шуни кўрсатдики, улар *Pseudomonas aeruginosa* ни ўсишини турли даражада камайтирар экан. Нордон протеиназа ёрдамида олинган глобулинни гидролиз маҳсулотлари ривожланишиникўпроқ камайтиради, босим майдонини ўртача диаметри 0.8±0.02 *см* ташкил этган. Нордон ва нейтрал протеиназа ёрдамида альбуминдан олинган пептидлар *Escherichia colini* ривожланишини камайтиради ва босим майдони диаметри 0.4±0.05 ва 1.2±0.1*см* ташкил этган.Текширилаётган тест-культурали қолган чашкада ривожланишни камайиши кузатилмаган.

Шундай қилиб, чигитдан олинган пептидлар юқори антиоксидантлик ва антимикроб хоссаларга эга бўлиб, улар биологик фаол пептидлар олиш учун манба сифатида хизмат қилиши мумкин.

*Пахта шроти оқсиллари асосида антиоксидантли пептидларни олиш технологиясини яратиш.*Олинган тадқиқот натижалари асосида пахта шротидан пептидли антиоксидантлар олиш технологияси яратилган (4-расм).

Технология олдинма-кетин келадиган қуйидаги технологик жараёнларни ўз ичига олади: шротни майдалаш; шротни сувли суспензиясини 1:5-1:6 гидромодулда тайёрлаш ва амилолитик ферментлар билан углеводларни 60-95°С да 1-1,5 соат давомида ферментлаш; барабанли вакуум-фильтрда фильтрлаш варН~9 бўлган 90-95°С ли сув билан ювиш; барабанли вакуум-фильтрдаги чўкмани рН~6,5-7 бўлган сув билан ювиш; нейтрал протеиназа билан 50^{0}С да 2-2,5 соат давомидаферментлаш; суюқ қисмини вакуум-фильтрда ажратиш; ферментларни инактивлаш учун термик ишлов бериш; 12-16 кД пептидларни мембранали фильтрда ажратиш; олинган маҳсулотни пуркаб қуритишга бериш.



1-Автоташувчи, 2 –қабул қилиш бункери, 3-лентали транспортёр, 4-тебратувчи элаклаш қурилмаси, 5-майдалагич, 6-бункер, 7-дозатор, 8-ферментатор, 9-барабанли вакуум-фильтр, 10-пластинкалииссиқлик алмаштиргич, 11- фильтрат учун сиғим, 12-ультрафильтра-ционқўрилма, 13-қуритиш қурилмаси.

4-расм. Антиоксидант “Пептид-ШХ” ни олиш технологияси

ХУЛОСАЛАР

1.Нордон (*Aspergillus niger*) ва нейтрал (*Bacillus amyloliquefaciens*) протеиназаларнинг каталитик хусусиятларига чигит компонентларини таъсири натижасиданейтрал протеиназалар нордон протеиназаларга нисбатан кўпроқ инактивлаш ва беқарорликга учраши кўрсатиб берилди.

2. Мураккаб субстратли аралашмаларда, ферментатив реакция фазалар орасида кетса, оқсилларни гидролизи камайиши билан изоҳланган.

3.Протеолитик ва амилолитик ферментлар билан чигитянчилмаси таркибидаги оқсил ва углеводларни гидролизланиши термик ишловнинг таъсири ўрганилган. Оқсилнинг гидролизланиши тезлиги 2,0-2,2 марта ошиши, углеводларни гидролизланиши эса 1,1-1,8 марта пасайиши кўрсатиб берилди.

4. Чигит янчилмасига ферментатив ишлов берилгач форпресс усулида олинган мой миқдори 13,6±0,5%ни, назорат тажрибасида 12,6±0,5%ни ташкил этиши кўрсатилган.

5. Чигит ва пахта шроти альбуминини ва глобулинини нордон (*Aspergillus niger*) ва нейтрал протеиназа (*Bacillus amyloliquefaciens*) билан ферментатив гидролизлаб олинган пептидларни антиоксидантлик ва антимикробли фаоллиги асосида антиоксидант ва *Pseudomonas aeruginosa* ва *Escherichia coli* га қарши антимикроб хусусиятли пептидлар олиш технологияси тавсия этилган.

6.Чигит янчилмасига ферментатив ишлов берилганда форпресс усулда олинган мой миқдори0,9-1,1%га ошгани сабабли янчилмага протеолитик ва амилолитик ферментлар билан ишлов бериш усулини янги технологияда қўллаш тавсия этилган.

НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc27.06.2017.T.04.01ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ТАШКЕНТСКОМ ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ ИНСТИТУТЕ ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

ТАШКЕНТСКИЙ ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТИ

ХАСАНОВ АББОС ХАСАНОВИЧ

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРИМЕНЕНИЯ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ИЗВЛЕЧЕНИИ ХЛОПКОВОГО МАСЛА И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ

02.00.17–Технология и биотехнология обработки, хранения и переработки сельскохозяйственных и пищевых продуктов

АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD) ПО ТЕХНИЧЕСКИМ НАУКАМ

Ташкент – 2019

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2017.2.PhD/T186

Диссертация выполнена в Ташкентском химико-технологическом институте.

Автореферат диссертации на двух языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице по адресу www.tkti.uz) и информационно-образовательном портале «ZiyoNet»по адресу www.zionet.uz.

Научный руководитель: **Давранов Кахрамон**
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппонеты: **Исабаев Исмоил Бабаджанович**
доктор технических наук, профессор.

Салиханова Дилноза Саидакбаровна
доктор технических наук, старший научный сотрудник

Ведущая организация: **АО «Ташкентский масло-жировой комбинат»**

Защита состоится «__» _____2019 г. в ____ часов на заседании Научного совета DSc.27.06.2017.T.04.01 при Ташкентском химико-технологическом институте по адресу: (100011, г.Ташкент, Шайхонтаурский район, ул. А.Навои, 32. Тел.: (99871) 244-79-20, факс: (99871) 244-79-17, e-mail: tkti_info@edu.uz).

Диссертация зарегистрирована в Информационно-ресурсном центре Ташкентского химико-технологического института за №___, с котрой можно ознакомиться в ИРЦ. (100011, г. Ташкент, Шайхонтаурский район, ул. А.Навои, 32. Тел.: (99871) 244-79-20).

Афтореферат диссертации разослан «___» _____ 2019 года.

(протокол рассылки №___ от _____ 2019 г.).

С.М.Туробжонов
Председатель Научного совета по присуждению
Учёных степеней, д.т.н., пофессор

А.С.Ибадуллаев
Учёний секретарь Научного совета по присуждению
учёных степеней, д.т.н., профессор

К.О.Додаев
Председатель Научного семенара при Научном
Совете по присуждению учёных степеней,
д.т.н., профессор

ВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии(PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации.В мире производимые пептидные антиоксиданты используются в пищевой, фармацевтической промышленностях, медицине и в других отраслях. Получение пептидов с антимикробными свойствами, изучение физико-химических свойств сырьевой базы, получение их экологически чистыми малоотходными, внедрение безотходной технологии имеют важное значение.

В мире при производстве растительных масел большое внимание уделяется созданию технологии рационального использования сырья и увеличению выхода масел ферментативной обработкой хлопковой мятки, улучшению качественных показателей очищенных растительных масел, а также способам получения пептидов с антиоксидантными и антимикробными свойствами из белковых отходов путем обработки протеолитическими ферментами.

В настоящее время в мире с интенсивным развитием масложировой промышленности по переработке масличных семян, в частности семян хлопчатника, сои, рапса, подсолнечника, кукурузы и др.,развиваются глобальные научно-исследовательские работы в областисоздания научных основ высокоэффективной технологии ферментативной переработки сырья и модернизации технологического процесса, изучения влияния различных органических соединений на активность гидролитических ферментов, создания научных основ применения и получения на основе белков масличных семян биологически активных веществ.

За последние годы в Республике в направлении совершенствования технологии переработки масличных семян, созданы способы улучшения физико-химических показателей и максимальное сохранение в рафинированных маслах биологически активных веществ, способствующих повышению их окислительной стабильности и длительному сохранению качественных и количественных показателейвнедрены в производстве. В стратегии действий по развитию Республики Узбекистан определены задачи по «ускоренному развитию производств, основанных на высоких технологиях,направленных на выпуск высоколиквидных готовых продуктов глубокой переработки на основе местных ресурсов сырья и переводу промышленности на качественно новый уровень путем модернизации и диверсификации»[2]. В этом отношении, важное научное и практическое значение имеет технология получения растительных масел на основе использования гидролитических ферментов, а также получения биологически активных пептидов из белков масличных культур.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в постановлениях и указах Президента Республики Узбекистан №ПП-2492 от 18 февраля 2016 года «О мерах по

[2] Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года № УП-4947 «О Стретегии действий по дальнейшему развитию Республика Узбекистан».

дальнейшему совершенствованию организации управления и развитию пищевой промышленности республики», №УП-4947 от 7 февраля 2017 года «Стратегия действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан» и № ПП-43484 от 19 января 2018 года «О мерах по ускоренному развитию масложировой отрасли», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологии в Республики Узбекистан. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий Республики: V. «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды» по программе прикладных исследований.

Степень изученности проблемы

Научным исследованиям по химическим и физико-химическим способам переработки масличных культур посвящены работы М.М.Рахимова, А.И.Глушенковой, S.Latif, C.G.Soto, A.Rosenthal, B.Lamsal, P.Hanmoungjai, R.Moreau, H.Dominguez, K.Sosulski, А.Г.Сергеева, М.З.Подольского В.Г.Щербакова, В.П.Ржехина, А.М.Голдовского, Й.К.Кодирова, Р.М.Мирзакаримова, С.А.Абдурахимова, М.А.Рахимджанова, А.Т.Ильясова, А.Х.Атауллаева, Х.К.Мажидова, и др.

Результаты проведенных научно-исследовательских работ по усовершенствованию технологии получения масла из сои, подсолнечника, рапса, кукурузы и семян хлопчатника, химические, биотехнологические,физические и физико-химические способы обработки, семян хлопчатника, с целью повышения рентабельности производства, получения экологически чистого хлопкового масла и биологически активных веществ рекомендованы в производство.

Вместе с тем при переработке сои, подсолнечника, рапса, кукурузы и семян хлопчатника с учетом функциональных свойств ферментов, для создания энергосберегающей, экономически рентабельнойи экологически чистой технологииактивно ведутся научно-исследовательские работы.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ прикладных проектов Ташкентского химико-технологического института по теме ППИ-11-01«Разработка технологии получения пептидных антиоксидантов на основе растительного сырья» (2012-2014).

Целью исследования является разработка технологии применения ферментов при извлечении хлопкового масла и биологически активных пептидов.

Задачи исследования:

опреление влияния компонентов семян хлопчатника на каталитические свойства кислых и нейтральных протеиназ;

определение влияния термической обработки хлопковой мятки на гидролиз белков с кислыми и нейтральными протеиназами;

исследование влияния ферментативной обработки хлопковой мятки на процесс извлечения масла;

разработака нетрадиционных способов экстракции хлопковых масел с использованием гидролитических ферментов;

изучение антиоксидантной и антимикробной активностей продуктов гидролиза различных белков семян и шрота хлопчатника;

разработка технологии получения пептидных антиоксидантов с использованием протеолитических ферментов при переработке семян хлопчатника.

Объекты исследования:семена хлопчатника, шрот хлопчатника, хлопковое масло, кислая протеиназа (Пролайвс PAC 30L «ЕнзимБИОПродукт» ОО, Россия), нейтральная протеиназа (Нейтраза, «НОВОзаймс», Дания), α-амилаза (Амилекс «Новозаймс», Дания) и β-амилаза (Диазим «Новозаймс», Дания).

Предметом исследования являетсяактивность и стабильность протеолитических ферментов в гетерогенных системах, гидролизуемость различных белков семян хлопчатника, антиоксидантные свойства полученных пептидов, влияние ферментативной обработки мятки хлопчатника на процесс извлечения и рафинации масла.

Методы исследований. При выполнении диссертационной работы использованы современные физико-химические, биохимические методы и методы инженерной энзимологии, а также расчеты результатов исследований, графики выполнены с использованием MSWord и Excel, статистические данные обработаны использованием программиMatlab.

Научная новизна исследования заключается в следующем**:**

определены факторы, влияющие на каталитические свойства кислых и нейтральных протеиназ в сложных субстратных смесях;

установлено жирные кислоты, госсипол и твердые частицы снижая активность уменьшают гидролизуемость белков на 50-60%;

доказано ингибируюший эффект жирных кислот в наибольшей степени выражен для нейтральных протеиназ, установлено, что его активность снижается в 2-3 раза;

определено нейтральные протеиназы в присутствии госсипола сильнее подвергаются инактивации и их стабильность уменьшается в 4-5 раза;

разработанатехнология получения рафинированных масел и пептидов с антиоксидантными свойствами с применением кислых и нейтральных протеиназ.

Практические результаты исследованиязаключаются в следующем:

разработана технология эффективного использованияферментных препаратов путем оптимизации условий проведения ферментации хлопковой мятки при мягких условиях, с более высокой скоростью, при минимальных количествах ферментных препаратов**;**

установлено увеличение выхода форпрессового масла на 0,9% при способе обработки хлопковой мятки протеолитическими и амилолитическими ферментами;

получены пептиды, обладающие антиоксидантными и антимикробными активностями путем ферментативного гидролиза белков шрота хлопчатника.

Достоверность результатов исследования.обосновывается использованем современных физико-химических и биохимические методы анализа результатов а именно фотоколлориметрическим. Статическая обработка экспериментальных данных проведена при помощи критерия Стьюдента с вычислением граничных значений доверительного интервала среднего результата.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследования обосновывается закономерностями действия кислых и нейтральных протеиназ на белковые вещества семян хлопчатника в сложных смесях (хлопковая мятка) содержащие ингибиторы ферментов различной природы, доказано созданием научных основ положительного влияния водно-термической обработки хлопковой мятки на качественные показатели получаемого продукта.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что разработана технология обработки хлопковой мятки, основанная на применении протеолитических и амилолитических ферментов, предусматривающаяувлажнение мятки до 13-15%, при начальной температуре обработки 50-52°С,иувеличивающая выход масла на 0,9% и улучшающая качественные показатели масла. Обработка шрота хлопчатникапротеолитическими ферментами при 50-52°С служитоснованием для создания технологии получения пептидов.

Внедрение результатов исследования. На основе результатов исследований разработана технология применения ферментов при переработке масличных культур:

разаработанная технология влаго-термической обработки хлопковой мятки протеолитическими и амилолитическими ферментами внедрена в производстве ООО «НурлиДон» (справка АО “Узпахтаёг” от 22 мая 2018 г., № МС/2-855). В результате ускорен процесс прессования, появилась возможность повышения выхода форпрессового масла на 0,9-1,1%.;

разработанная технология ферментативной обработки хлопковой мятки внедрена в производстве ООО “НурлиДон” (справка АО “Узпахтаёг” от 22 мая 2018 г., № МС/2-855). В результате выход пищевого масла увеличивается за счет уменьшения технического масла на 1,1%;

технология получения антимикробных препаратов путем ферментативного гидролиза белков шрота хлопчатника внедрена в производстве ООО «НурлиДон» (справка АО “Узпахтаёг” от 22 мая 2018 г., № МС/2-855). В результате появилась возможность получения антимикробных пептидов против бактерии Pseudomonasaeruginosa путем

гидролиза глобулина кислой протеиназой и против бактерииEscherichiacoli путем гидролиза альбумина нейтральной протеиназой.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования доложены в виде докладов и апробированы на 3 Международных и 9 республиканских научно-технических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано всего 21 научных работ, в том числе 9 научных статей, из них 3 в зарубежных и 6 в республиканских журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 120 страниц машинописного текста, включает 22 рисунка и 14 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования охарактеризованы предмет и объекты исследования, показано соответствие стратегическим направлениям развития науки и технологии Узбекистана. Изложены научная новизна исследования и практические результаты, их научная и практическая значимость, внедрение результатов на практике, представлены публикации и структура диссертации.

В первой главе диссертации под названием **«Современное состояние применения ферментов при переработке масличных семян»** приведен обзор состояния вопросов и тенденции совершенствования технологий переработки масличных семян воплошающиедостижения ферментативного катализа в получении рафинированных масел, с критических позиций проведен анализ состояния вопросов и тенденции совершенствования технологии производства растительных масел, а также продуктов ценных для медицины и селького хозяйства. Приведены результаты использования различных ферментных препаратов в процессе извлечения масел из растительного сырья. Установлено, что существуют возможности совершенствования технологии переработки масличных культур биокаталитическим способом и получения экологически чистых растительных масел и вторичной продукции народного хозяйства. Исходя из этого, сформулированы цель и задачи исследования.

Во второй главе диссертации под названием **«Физико-химические и технологические методы анализа сырья и получаемых продуктов»** приведены физико-химические и биохимические методы, использованные при ферментативной обработке семян хлопчатника. Определены также активность ферментов, изучено влияние госсипола, свободных жирных кислот, липидов и различных адсорбентов на активность ферментов.Изложены химические методы анализа качественных показателей

полученных рафинированных масел, кислотное и перекисное число, а также методы анализа антиоксидантной и антимикробной активностей пептидов полученных из белков шрота хлопчатника. Изложены фотоколлориметрические методы определения антиоксидантной способности и восстанавливающие свойства пептидов а также микробиолические методы определения антимикробной способности пептидов.

В третьей главе диссертации под названием «**Факторы, влияющие на каталитические свойства протеиназ при переработке хлопковых семян**» исследовано влияние компонентов хлопковой мятки на каталитические свойства протеиназ.Среди таких компонентов чаще всего выступают природные ингибиторы, продукты, образующиеся во время предварительной, часто термической обработки сырья, органические кислоты, высокие концентрации солей, среды с повышенным содержанием поверхностно-активных веществ и др. Для выяснения вышесказанных предположений, нами были смоделированы системы, содержащие липиды, жирные кислоты, госсипол, а также использованы твердые фазы с различными поверхностно-автивными группами, для изучения некоторых закономерностей действия протеиназ в сложных субстратных смесях.

Ферментативный гидролиз фракционированных белков семянхлопчатника с кислыми и нейтральными протеиназами. Ферментативный гидролиз альбумина и глобулина с кислыми протеиназами протекают неодинаково. При 8 часовой ферментации с кислой протеиназой содержание продуктов гидролиза в случае альбумина и глобулина составляет 1,16 и 1,4 *мкмоль/мл*, соответственно. Гидролиз альбумина с нейтральной протеиназой протекает с высокой скоростью и образование продуктов гидролиза за 8 часов инкубации составляет 0,842 *мкмоль/мл*, а в случае глобулина 0,51 *мкмоль/мл*.

Влияние липидов и жирных кислот на каталитические свойства протеиназ.Ферменты марки «Нейтраза» (нейтральная протеиназа) и «Пролайв-РАС» (кислая протеиназа), используемые при производстве пищевых продуктов довольно стабильны и снижение активности ферментов после 90 *мин* инкубации составило 6-7% в случае кислой протеиназы и 20% в случае нейтральной протеиназы. Повышение температуры привело к ускорению процесса инактивации и при температуре 50°С снижение активности после 90 *мин* инкубации составило 27 и 43% соответственно. Повышение температуры до 55°С привело к резкому увеличению скорости инактивации нейтральной протеиназы и остаточная активность после 90 *мин* инкубации составила 15%. При этом кислая протеиназа потеряла всего 52% исходной активности.Таким образом, установлено, что кислая протеиназа обладает более высокой термостабильностью, чем нейтральная.

Влияние жирных кислот и нейтральных липидов на активность кислых и нейтральных протеиназ показали, что с повышением концентрации жирных кислот, их ингибирующая активность увеличивается. При этом нейтральная протеиназа больше подвергается ингибированию жирными кислотами. А

кислая протеиназа теряет всего около 10% своей первоначальной активности. Снижение активности кислой протеиназы в присутствии липидов при концентрации 8 *мг/мл* составило 16-18%, а снижение активности нейтральной протеиназы при этой концентрации не наблюдалось.Жирная кислота оказывает не только инактивирующий эффект. В её присутствии существенно снижается термостабильность исследуемых протеиназ. Так, например, через 20-25 *мин* инкубации при 50°С в присутствии 8 *мг/мл* жирной кислоты нейтральная протеиназа теряет 90 % своей первоначальной активности. За это же время в отсутствии жирной кислоты активность фермента снижается лишь на 40-45%. Этот эффект зависит не только от жирной кислоты, но и от природы протеиназ. Так, в случае кислой протеиназы при той же концентрации жирной кислоты, хотя активность незначительно снижается (10%), дестабилизирующий эффект не наблюдается.

Влияние госсипола на активность и стабильность кислых и нейтральных протеиназ. Исследования, проведенные нами показали, что госсипол существенно влияет на каталитические свойства ферментов. При этом важное значение приобретает вид используемого фермента и условия проведения процесса ферментации. Кислая протеиназа в меньшей мере подвергается ингибированию в присутствии в реакционной среде госсипола. Активность кислой протеиназы не изменяется с повышением корнцентрации госсипола. При этом нейтральная протеиназа больше подвергается ингибированию госсиполом. При концентрации госсипола в реакционной среде до 2,5 *мг/мл* нейтральная протеиназа теряет до 70 % первоначальной активности.В присутствии госсипола изменяется и термостабильность. Так, например, через 20 *мин* инкубации при 50°С в присутствии 1 *мг/мл* госсипола нейтральная протеиназа теряет 50 % своей первоначальной активности. За это же время в отсутствии госсипола активность фермента снижается лишь на 8-10%. Этот эффект зависит не только от госсипола, но и от природы протеиназ. Так, в случае кислой протеиназы при той же концентрации жирной кислоты, хотя активность незначительно снижается (2 %), дестабилизирующий эффект не наблюдается.

Дестабилизирующий эффект госсипола в нейтральных средах можнообъяснить образованием ковалентных связей на основе реакции Шиффа между аминогруппами белка и альдегидными группами госсипола. Обычно эта реакция протекает при щелочных значениях pH среды. В кислой среде из-за нестойкости Шиффового основания ковалентная связь между ферментом и госсиполом не осуществляется. И, поэтому в случае кислых протеиназ не наблюдается снижение активности и термостабильности в присутствии госсипола.

Влияние различных биополимеров на адсорбирующую способность и стабильность протеиназ. В исследуемой нами системе фермент способен взаимодействовать с поверхностными группами различных биополимеров,содержащихся в хлопковой мятке. При этом ферменты могут

быть адсорбированы на поверхности нерастворимых белков за счёт специфических взаимодействий, так и за счёт ионных и гидрофобных взаимодействий с определенными группами биополимеров небелковой природы.

Для исследования приведенных выше предположений, нами смоделированы гетерогенные системы, используя сорбенты с различными поверхностными группами. Изучены некоторые закономерности действия протеиназ в сложных субстратных смесях. В наибольшей степени снижение активности наблюдали, когда в качестве твердой фазы использовали сорсилен-липид. Сорбенты с полярными поверхностнимы группами (КМ- и ДЭАЭ-целлюлоза) в меньшей степени влияют на активность кислых и нейтральных протеиназ. В случае кислых протеиназ, когда в качестве сорбента использовали ДЭАЭ-целлюлозы, наблюдено даже увеличение удельной активности ферментов, в случае сорсилен-липида и КМ-целлюлозы активность ферментов падает на 90 и 50%, соответственно. Таким образом, нами экспериментально показано, что на определенных поверхностях происходит не только снижение каталитической способности, что само по себе снижает технологичность биокатализаторов, но и наблюдается дестабилизация ферментов.

Суммируя вышеизложенное, можно считать, что снижение эффективности ферментативных реакций в присутствии липидов, жирных кислот, госсипола и различных биополимеров связано с комплексным действием этих соединений. При этом не только растворимые компоненты, но и нерастворимые компоненты обрабатываемого сырья, играя роль твердой фазы, могут взаимодействовать с определенными группами белков и придавать ферменту конформационную неустойчивость.

В четвертой глава диссертации под названием «**Разработка технологии применения ферментов при переработке хлопковых семян**» приведены результаты исследования по усовершенствованию технологии переработки хлопковых семян с применением гидролитических ферментов.

Влияние ферментативной обработки хлопковой мятки на процесс извлечения масла из водной среды. Известно, что в масличных семенах масло находится в виде олеосомы. Олеосома представляет собой липид, окруженный монослоями фосфолипидов и белковыми веществами. Принцип метода извлечения масла заключается в том, что фермент действуя на белковые слои олеосомы способствует извлечению и агрегации липидных капель.

Исследование влияния ферментативного гидролиза белков хлопковой мятки на процесс извлечения масла показал, что протеолитические ферменты благоприятно действуют на процесс выделения масла.При ферментации липидные капельки освобождаются от окружающих белков и это способствует агрегации липидов и ускорению тем самым процесса его извлечения. При этом намного улучшаются и качественные показатели

первичного масла, но выход масла немного ниже, по сравнению с форпрессованием.

Влияние амилаз и протеиназ на процесс извлечения хлопкового масла форпрессованием. Традиционная технология получения растительных масел из семян хлопчатника основана на получении мятки, её жарении, извлечении масла путем прессования. При этом, значительная часть масел остается в составе жмыха из-за маслоемкости белков и других структурных компонентов семян хлопчатника. Остаточное количество масла из жмыха экстрагируется органическими растворителями.Маслоемкость и эмульгирующие свойства структурных компонентов растительного сырья можно снизить и путем ферментативного воздействия на структурные компоненты сырья. При этом, важное значение приобретает выбор ферментов иусловия проведения ферментации. В зависимости от состава структурных компонентов масличных семян следует выбирать ферменты с нужными каталитическими свойствами.

В таблице 1 представлены результаты воздействия нейтральных протеиназ на белки хлопковой мятки, предварительно обработанной при 95°С.

Таблица 1

Образование продуктов гидролиза* белков хлопковой мятки нейтральной протеиназой

№ п/п	Время ферментации, *мин*.	Продукты гидролиза (аминокислоты), *мкмоль/г* хлопковой мятки	
		без термической обработки	с термической обработкой
1	0	0	0
2	30	10.8±0.4	17.5±0.8
3	60	11.7±0.5	23.5±1.0
4	90	12.0±0.5	24.8±1.0
5	120	12.0±0.5	26.3±1.0

Из данных табл.1 видно, что предварительная тепловая обработка положительно влияет на гидролизуемость белков хлопковой мятки. При этом, образование продуктов гидролиза белков увеличивается в 1,7-2,0 раза. Так, например, при ферментации хлопковой мятки в течение 60 мин, за счет ферментативного гидролиза образуется 23,5±1.0 *мкмоль/г* продукта против 11.7±0.5 *мкмоль/г* в контроле.

Таблица 2

Образование восстанавливающихся сахаров* при ферментативном гидролизе углеводов хлопковой мятки

Наименование используемого фермента	Восстанавливающие сахара, *мг/г* хлопковой мятки	
	без термической обработки	с термической обработкой
α-амилаза	22.6±1.0	12.8±0.5
α-амилаза и β-амилаза	34.6±1.3	31.0±1.3

Термическая обработка хлопковой мятки незначительно влияет на гидролизуемость углеводов амилолитическими ферментами. В табл. 2 приведена скорость образования восстанавливающихся сахаров при ферментативной обработке хлопковой мятки.

Из представленных данных видно, что образование восстанавливающихся сахаров при ферментации хлопковой мятки с α-амилазой составляет 22.6±1.0 *мг/г*. При совместном использовании α-амилазы и β-амилазы скорость гидролиза углеводов выше и образование восстанавливающихся сахаров составляет 34,6±1,3 *мг/г*.

Образование восстанавливающихся сахаров при ферментации термически обработанной хлопковой мятки составляет 12.8±0.5 *мг/г* в случае использования α-амилазы и 31.0±1.3 *мг/г* в случае совместного использования α- и β-амилаз.

Таким образом, влаго-тепловая обработка хлопковой мятки положительно влияет на ферментативные процессы, увеличивая степень гидролиза белковых веществ. При этом, также протекает гидролиз углеводов с незначительным снижением скорости гидролиза.

Разработка усовершенствованной технологии применения ферментов при извлечении масел. Ферментативная обработка хлопковой мятки амилазами и протеиназами до жарения положительно влияет на процесс извлечения масла.

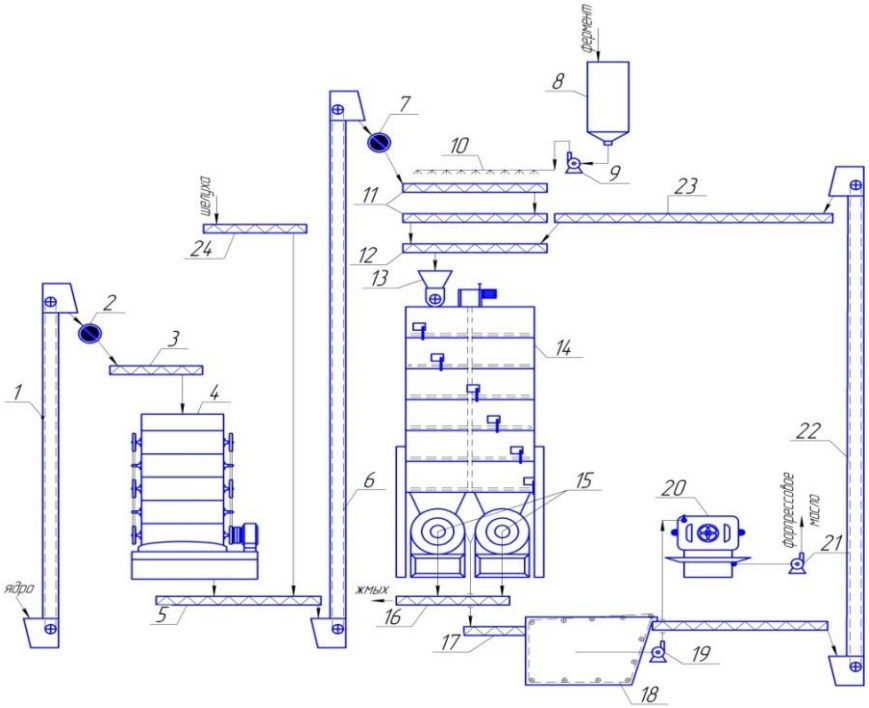
В табл. 3 приведены данные по влиянию ферментативной обработки хлопковой мятки на выход получаемого форпрессового хлопкового масла.

Таблица 3

Влияние ферментации хлопковой мятки на процесс извлечения масел

№ п/п	Показатели	Без ферментативной обработки	С ферментативной обработкой
1	Масличность семян, %	20,3±0,3	20,3±0,3
2	Выход форпрессового масла, %.	12,6±0,5	13,5±0,5
3	Выход экстракционного масла, %.	5,4±0,2	4,5±0,2

Из данных табл. 3 видно, что выход форпрессового масла при ферментации хлопковой мятки увеличивается и составляет 13,5±0,5%. Выход форпрессового масла без ферментации составлял 12,6±0,5%. За счет этого выход экстракционного масла уменьшается. Технологический узел обработки хлопковой мятки ферментами представлен на рис. 1.



1,6-нория, 2,7- электромагнитный сепаратор, 3-распределительный шнек, 4-Пятивальцовая дробилка ВС-5, 8-емкость для фермента, 9-насос, 10-распылитель, 11- шнек для увлажнения и ферментативной обработки мятки, 12-шнек для выпарки, 13- распределительный шнек, 14-шестичанная жаровня Ж-68, 15-МП-68 пресс, 16-шнек для жмыха, 17- шнек для масла, 18- фузаловушка, 19-насос для масла, 20- фильтрпресс.

Рис. 1. Технологический узел предварительной обработки хлопковой мятки ферментами.

Обработка хлопковой мятки протеолитическими и амилолитическими ферментами положительно влияет на процесс извлечения масла форпрессованием, увеличивая его выход. Эти данные могут быть использованы для усовершенствования процесса извлечения масел из масличных культур.

Пятая глава диссертации под названием «**Разработка технологии получения биологически активных пептидов из белков шрота хлопчатника»**посвящена получению антиоксидантных и антимикробных пептидов из продуктов гидролиза белков шрота хлопчатника.

Антиоксидантная активность продуктов гидролиза различных белков из семян и шрота хлопчатника. Исследования, проведенные нами показали, что восстанавливающая сила пептидов, полученных из разных белков значительно отличается. Полученные результаты приведены на рис.2. Из представленных данных видно, что продукты гидролиза альбумина с нейтральной протеиназой (рис.2*а*, кривая 2) имеют высокую восстанавливающую силу, по сравнению с образцами, полученными кислыми протеиназами (рис.2*а*, кривая 1). Тогда как пептиды, полученные из глобулиновой фракции под действием кислых протеиназ, обладают высоким восстанавливающим свойством (рис.2*б*, кривая 1).

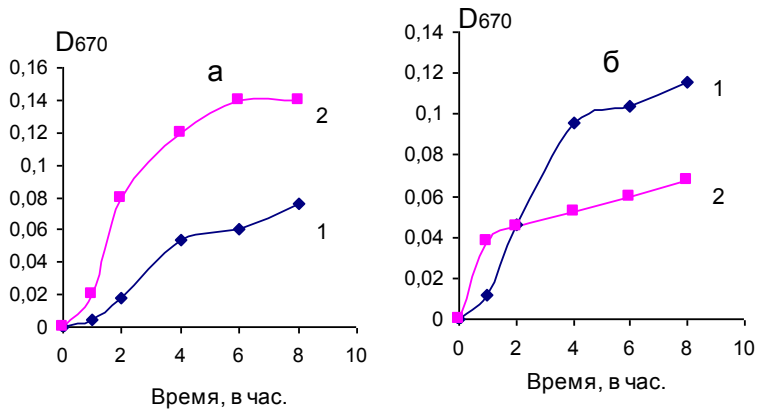
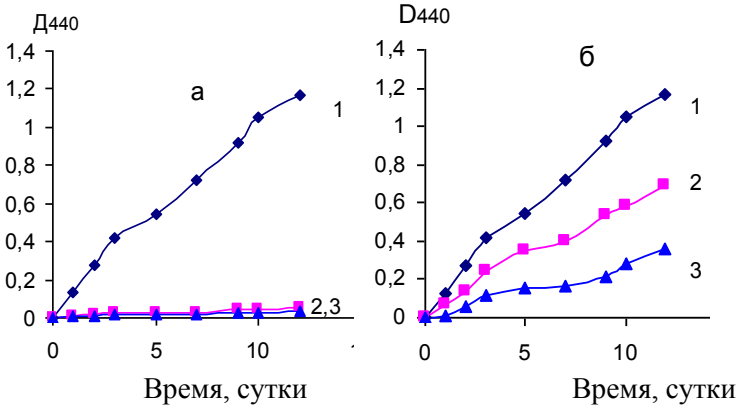


Рис.2. Нарастание восстанавливающих сил продуктов гидролиза альбумина (*а*) и глобулина (*б*) семян хлопчатника с кислой (1) и нейтральной (2) протеиназой в зависимости от глубины гидролиза.

Влияние полученных пептидов из различных белков семян хлопчатника с кислыми и нейтральными протеиназами на скорость окисления (+)-катехина приведены на рис.3. Из представленных данных видно, что снижение скорости окисления (+)-катехина наблюдается со всеми образцами пептидов. Наиболее высокое торможение скорости окисления (+)-катехина наблюдается пептидами, полученными из альбумина (рис.3*а*, кривые 2,3).

Продукты гидролиза глобулина, полученные с кислой и нейтральной протеиназой существенно отличались по антиоксидантной активности. Из представленных данных (рис.3*б*) видно, что пептиды, полученные из глобулина мятка хлопчатника с разными протеолитическими ферментами обладают различной антиоксидатной активностью. Изменение скорости потемнения растворов катехина была низкой, когда в среде присутствовали пептиды, полученные с применением нейтральных протеиназ (рис.3*б*, кривая 3). Изменение оптических плотностей растворов катехина за 12 суток инкубации, при длине волн 440 *нм* в контроле составило 1,170, а в присутствии пептидов, полученных с кислой протеиназой-0,690 и в присутствии пептидов, полученных с нейтральной протеиназой- 0,360.



1-контроль, 2- в присутствии пептидов полученных с кислой протеиназой, 3- пептиды, полученные с нейтральной протеиназой.

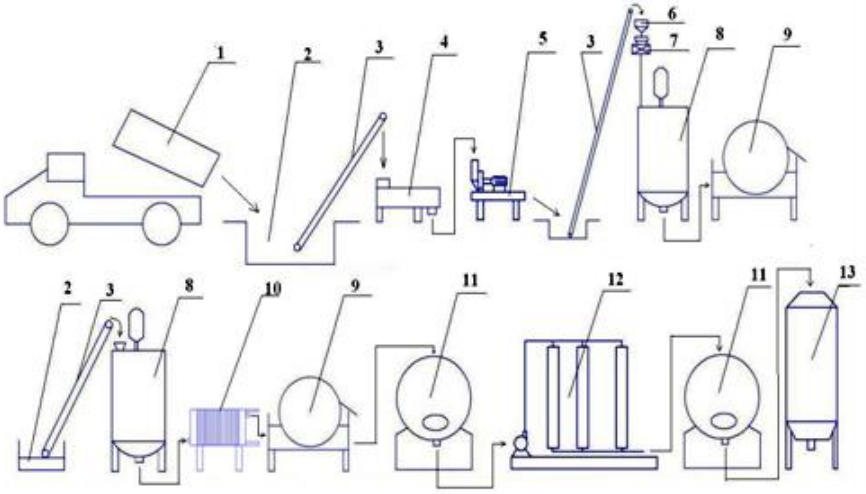
Рис. 3. Влияние пептидов, полученных из альбумина (*а*) и глобулина (*б*) семян хлопчатника на скорость окисления (+)-катехина.

Исследование антимикробной активности продуктов гидролиза белков семян хлопчатника показали, что они в разной степени подавляют рост *Pseudomonas aeruginosa*, наиболее высокое значение отсутствия роста наблюдается в присутствии продуктов гидролиза глобулина с кислой протеиназой. При этом среднее значение диаметра зоны подавления составляет 0.8±0.02 *см.* Пептиды, полученные в результате гидролиза альбумина с кислой и нейтральной протеиназой также подавляют рост *Escherichia coli* в диаметре 0.4±0.05 и 1.2±0.1*см*. На остальных исследованных чашках с тест-культурами подавления роста бактерии не обнаружено.

Таким образом, пептиды, полученные из белков семян хлопчатника обладают высокой антиоксидантной и антимикробной активностью и эти белки могут быть использованы как источник для получения биоактивных пептидов.

Разработка технологии получения антиоксидантов пептидной природы из белков шрота хлопчатника.

Разработанная технология получения пептидов из хлопкового шрота представлена на рис.4.



1-автогрузчик, 2 –питательный бункер, 3-ленточный транспортер, 4-вибрационная просеивающая установка, 5-измельчитель, 6-бункер, 7-дозатор, 8-ферментёр, 9-барабанный вакуум-фильтр с ножевымразгрузочным устройством, 10-пластинчатый теплообменник, 11- резервуар для фильтрата, 12- ультра -фильтрационная установка, 13-сушильная установка.

Рис.4. Технологическая схема получения антиоксиданта «Пептид-ШХ»

Технология включает следующие последовательно проводимые технологические процессы: измельчение шрота; приготовление суспензии шрота хлопчатника в гидромодуле 1:5-1:6 и ферментация амилолитическими ферментами для удаления углеводов при температуре 60-95°С в течение 1-1,5 часов; фильтрация и промывка на барабанных вакуумных-фильтрах водой со значениями pH-9, с использованием каустической соды в гидромодуле 1:5-

1:6 при температуре 90-95°С; промывка на барабанных вакуум-фильтрах горячей водой; снятие осадка и смешивание с водой в гидромодуле 1:4; доведение значения pH до 6,5 с использованием соляной кислоты; ферментативный гидролиз с нейтральной протеиназай при температуре 50°С в течение 2-2,5 часов; отделение жидкой фазы путем вакуум-фильтрации на барабанных вакуум-фильтрах; термическая обработка фильтрата для инактивации фермента; мембранная фильтрация с целью получения пептидов с размерам и 12-16 *Кд*; распылительная сушка полученных продуктов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано в результате действия компонентов семян хлопчатника на каталитические свойства кислых (*Aspergillus niger*) и нейтральных (*Bacillus amyloliquefaciens*), протеиназнейтральная протеиназа сильнее подвергается инактивации и дестабилизации чем кислые.

2. Доказано в сложных субстратных смесях, когда ферментативная реакция протекает на границе раздела фаз снижается гидролизуемость белков.

3. Показано влияние термической обработки семян хлопчатника приводит к увеличению скорости гидролиза белков в 2,0-2,2 раза, и уменьшению скорости ферментативного гидролиза углеводов в 1,1-1,8 раза.

4. Обосновано в процессе прессования, ферментативная обработка хлопковой мятки позволяет увеличить выход форпрессового масла до 13,6±0,5%, против 12,6±0,5 % контрольном.

5. Рекомендована технология получения пептидов с антиоксидантными и с антибактериальными свойствами для Pseudomonasaeruginosa и Escherichiacoli на основе ферментативного гидролиза альбумина и глобулина из шрота хлопчатника кислыми (*Aspergillus niger*) и нейтральными (*Bacillus amyloliquefaciens*) протеиназами.

6. Рекомендован способ обработки хлопковой мятки протеолитическими и амилолитическими ферментами, так как этот способ позволяет увеличитьдолю форпрессового хлопкового масла на 0,9-1%.

SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING SCIENTIFIC DEGREES OF DSC.27.06.2017.T.04.01 AT TASHKENT CHEMICAL-TECHNOLOGICAL INSTITUTE

TASHKENT CHEMICAL-TECHNOLOGICAL INSTITUTE

HASANOV ABBOS HASANOVICH

DEVELOPMENT THE TECHNOLOGY OF APPLICATION ENZYMES TO EXTRACT COTTONSEED OIL AND BIOLOGICALLY ACTIVE PEPTIDES.

02.00.17 – Technology and biotechnology of processing, storage and reprocessing of agricultural and food products

DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD) ON CHEMICAL SCIENCES

Tashkent –2019

The theme of dissertation doctor of philosophy (PhD) was registered at the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under number B2017.2.PhD/T186

The dissertation has been carried out at the Tashkent chemical-technological Institute.

The abstract of dissertation in three languages (uzbek, russian, english) is available online ik-kimyo.nuu.uz and on the website of the Scientific Council of the «Ziyonet» information-educational portal www.ziyonet.uz.

Scientific consultant:	**Davranov Kakhramon** doctor of biological sciences, professor
Official opponents:	**Isabaev Ismail Babadjanovich** doctor of technical sciences, professor
	Salikhanova Dilnoza Saidakbarovna doctor of technical sciences, Senior Researcher
Leading organization:	**«Tashkent oil and fat plant» JC**

The defense of the dissertation will take place on «___» _____2019 at «_____» o'clock at the meeting of One-off Scientific Council on the basis of scientific council on awarding scientific degrees of DSc.27.06.2017.T.04.01 at Tashkent chemical-technological institute. (Address: 100011, Tashkent c., Shayhontohur region, Navoi street 32. Ph.: (99871)244-79-21, fax: (99871) 244-79-17; e-mail:tcti_info@edu.uz).

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the Tashkent chemical-technological institute №___ (Address: 100011, Tashkent c., Shayhontohur region, Navoi street 32 Administrative Building of the Tashkent chemical-technological institute, Ph.: (99871)244-79-21.

The abstract of the dissertation has been distributed on «___» _____ 2019

Protocol at the register № _____dated «____» _____ 2019.

S.M. Turobjonov
Chairman of the Scientific Council for awarding of the scientific degrees, doctor of technical sciences, professor

A.S. Ibodullaev
Scientific Secretary of the Scientific Councilfor awarding the scientific degrees, doctor of technical sciences, professor

Q.O. Dodaev
Chairman of the Scientific Seminar under Scientific Council for awarding the scientific degrees, doctor of technical sciences, professor

INTRODUCTION (the dissertation abstract of (PhD) Doctor of Philosophy)

The aim of the research isdevelopment the technology of application of enzymes to obtain cottonseed oil and biologically active peptides.

The object of research iscotton seed oilcake, cotton meal, cottonseed oil, acidic proteinase (Prolive PAC 30L “EnzymBioProduct” LLC, Russia), neutral proteinase (Neutrase, Novozymes, Denmark), α-amylase (Amilex “Novozymes”, Denmark) and β-amylase (Diazim “Novozyms”, Denmark).

Scientific novelty of the research work consists of followings:

the factors influencing on catalytic properties of acidic and neutral proteinases in complex substrate mixtures were determined.

it has beendetermined that fatty acids, gossypol and solid particles reduce the activity of proteinases and hydrolysability of proteins by 50-60% as well;

it was proved that the inhibitory effect of fatty acids more affects on neutral proteinases and the activity decreases of 2-3 times;

it has been shown that gossypol more reduce neutral proteinases activity and stability decreases by 4-5 times;

to produce refined oils and peptides with antioxidant properties, the technology has been developed by using acidic and neutral proteinases.

Implementation of research results. Based on the results of research, the technology of processing of cottonseed oil has been developed by using enzymes:

The technology of moisture-heat treatment of cotton oilcake with proteolytic and amylolytic enzymes was applied in the production of “NurliDon” LLC (reference from JSC “Uzpakhtayog” dated May 22, 2018, No. MC/2-855). As a result, the pressing process is boosted and the output of pre-press oil was increased by 0.9-1.0%;

The developed technology of enzymatic processing of cotton mints was introduced in the production of “NurliDon” LLC (reference from JSC “Uzpakhtayog” dated May 22, 2018, No. MC/2-855). As a result, the yield of edible oil is increased due to the reduction of technical oil by 0,9-1,1%;

The technology of obtaining antimicrobial drugs against the bacteria Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli by enzymatic hydrolysis of cottonseed meal proteins was applied in “NurliDon” LLC (reference JSC Uzpakhtayog dated May 22, 2018, No. MC/2-855). As a result, it became possible to obtain antimicrobial peptides against Pseudomonas aeruginosa by hydrolysis of globulin with acidic proteinase and Escherichia coli by hydrolysis of albumin with neutral proteinase.

The structure and volume of the thesis. The thesis consists of an introduction, five chapters, conclusion, bibliography and appendices. The volume of the thesis is 120 pages, including 22 figures and 14 tables.

ЭЪЛОН КИЛИНГАН ИШЛАР РУЙХАТИ
Список опубликованных работ
List of published works

I булим (I часть; I part)

1.Khasanov A.Kh., Davranov K., Hasanov H. Antioxidant activity of peptides obtained from cotton ground oil-cake. // Journal of Food Science and Engineering. 2017.V. 7, Number 3, 147-150 p. (02.00.00 №16)

2.Хасанов Х.Т., Давранов К. Влияние ферментативной обработки хлопковой мятки на процесс извлечения масла. // Химия и химическая технология, 2015. -№2. –с.60-63.(02.00.00 №3)

3.Хасанов А.Х., Давранов К.Д. Влияние амилолитических и протеолитических ферментов на процесс очистки хлопкового масла. //Химия и химическая технология, Ташкент-2016. -№ 2. –с.67-70. (02.00.00 №3)

4.Хасанов А.Х., Насметова С.М. Антимикробная активность пептидов полученных из белков семян хлопчатника. // Ўзбекский химический журнал, Ташкент-2015. -№1. - с. 33-37. (02.00.00 №6)

5.Хасанов А.Х., Давранов К.Д. Влияние амилаз и протеиназ на процесс извлечения хлопкового масло форпрессованием. // Ўзбекиский химический журнал, Ташкент-2015. -№ 4, -с. 34-37. (02.00.00 №6)

6.Хасанов А.Х., Серкаев К.П., Давранов К.Д. Влияние госсипола на каталитические свойства кислых и нейтралных микробные протеиназ. // Ўзбекский химический журнал. Тошкент-2016. -№ 2, -с. 41-44. (02.00.00 №6)

7.Хасанов А.Х., Давранов К.Д. Стабильность кислых протеиназ из грибов *Aspergillus niger* и нейтральных из *Bacillus amyloliquefaciens* в приграничных слоях вода:масло. // Ўзбекский химический журнал, Ташкент-2015.-№ 6.-с. 52-55. (02.00.00 №6)

II булим (II часть; IIpart)

1.Hasanov H.T., Boboev A.H., Hasanov A.H., Rakhimov M.M. State of Pepsin and Acidic Protease in Solid Phase System and the Factors Increasing Their Destabilization. // Journal of Food Science and Engineering. 2011.V. 1, Number 4, - 303-312 p.

2.Boboev A., Hasanov A.H., Yotova L. Xasanov H.T. Antioxidant activity of peptides obtained from wheat and cottonseed proteins. // Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2012.Volume 18 Number 1, 103-111 p.

3.Хасанов А.Х., Ильхамджанов П. Антиоксидантная активность пептидов полученных из белков семян . // Кимё ва озиқ-овқат саноатлари ҳамда нефт-газ қайта ишлашнинг инновацион технологияларнинг долзарб муаммолари. Республика илмй-техника анжуманининг мақолалар тўптами. Тошкент- 2011. –б. 275-27.

4.Хасанов А.Х., Ильхамджанов П. Антиоксидантная активность пептидов, полученных из белков семян хлопчатника. //Тезисы докладов V–съездмикробиологов Узбекистон, Ташкент- 2012.-с. 97.

5.Хасанов А.Х., Давранов К.Д. Влияние ферментативной обработки хлопковой мятки на процесс излечения масла. // Умидли кимёгарлар-2014: Ёш олимлар, бакалавриат талабаларини XX111 илмий-техник анжумани мақолалари тўплами. Тошкент-2014 ТКТИ, -б.90-91.

6.Хасанов А.Х., Давранов К.Д. Влияние процесса жарении хлопковой мятки на ферментативную гидролизуемость биополимеров // Кимё ва озиқ-овқат саноатлари ҳамда нефт-газ қайта ишлашнинг инновацион технологияларнинг долзарб муаммолари. Республика илмй-техника анжуманининг мақолалар тўптами. Тошкент- 2014. ТКТИ, –б. 225-226.

7.Хасанов А.Х., Давранов К.Д. Влияние липидов и жирных кислот на стабильность некоторых протеиназ. // Кимё ва озиқ-овқат саноатлари ҳамда нефт-газ қайта ишлашнинг инновацион технологияларнинг долзарб муаммолари. Республика илмй-техника анжуманининг мақолалар тўптами. – Тошкент-2014. ТКТИ, –б. 227-228.

8.Хасанов А.Х., Насметова С.М., Рузиева Д.М., Хасанов Х.Т. Получение антимикробных пептидов из белков семян хлопчатника // Кимё ва озиқ-овқат саноатлари ҳамда нефт-газ қайта ишлашнинг инновацион технологияларнинг долзарб муаммолари. Республика илмй-техника анжуманининг мақолалар тўптами. – Тошкент-2014. ТКТИ, –б. 229-230.

9.Хасанов А.Х. Влияние различных протеиназ на антимикробные свойства пептидов полученных из белков семян хлопчатника. // Международный симпозиум «Микроорганизмы и биосфера» Microbios-2015 Ташкент-2015. -б. 257-258.

10.Хасанов А.Х. Стабильность кислых и нейтральных протеиназ в сложных субстратных смесях. // «Актуальные проблемы инновационных технологий химической, нефте-газовой и пищевой промышленности» Ташкент- 2015.-б. 232-233.

11.Хасанов А.Х. Получение пептидных антиоксидантов из белков шрота хлопчатника. // Международная научно-техническая конференция “Актуальные проблемы инновационных технологий в развитии химической нефте-газовай и пишевой промышленности” Тошкент-2016, 87 б.

12.Хасанов А.Х. Антиоксидантная активность пептидов полученных из белков шрота хлопчатника. //VIII-я Международная научно-практическая конференция «Инновации, качество и сервис в технике и технологиях». Курск- 2018 г., с.418-421.

13. Хасанов А.Х. Влияние госсипола на каталитические свойства кислых и нейтральных микробных протеиназ. // VIII-я Международная научно-практическая конференция «Инновации, качество и сервис в технике и технологиях». Курск- 2018 г. с.422-425.

Автореферат «Кимё ва кимёвий технологияси» журнали таҳририятида таҳрир қилинди.

Бичими 60x841/16. Ризограф босма усули. Times гарнитураси.
Шартли босма табоғи: 2,5. Адади 100. Буюртма № _____.
Баҳоси келишилган нархда.
«Тошкент кимё-технология институти» босмахонасида чоп этилган.
Босмахона манзили: 100011, Тошкент ш., Навоий кўчаси, 32-уй.