

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ**  
**ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМИ ВАЗИРЛИГИ**  
**НАМАНГАН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ**

*Қўл ёзма ҳуқуқида*

*УДК 577.152.321*

**БОЯТОВА ГЎЗАЛ**

**БАРҚАРОРЛАШТИРИЛГАН ФЕРМЕНТЛАРНИ ОЛИШ ВА**  
**УЛАРНИ ОЗИҚ-ОВҚАТ САНОАТИГА ТАТБИҚ ЭТИШ**

**5A140101 – Биология (фан йўналиши)**

Магистр

академик даражасини олиш учун ёзилган

диссертация

**Илмий раҳбар:**  
**б.ф.н. Д.Дехконов**

**Наманган – 2015**

## МУНДАРИЖА

<b>КИРИШ</b> .....	3
<b>1-БОБ. АДАБИЁТЛАР ШАРҲИ</b> .....	4
1.1. Гидролитик ферментлар ва уларнинг ҳоссалари	4
1.2. Ферментларни иммобилласх турлари ва ўзига ҳослиги	7
.....	
1.3. Гидролитик ферментларни иммобилласхда қўлланиладиган сорбентлар ҳоссалари.....	11
<b>1-БОБ БЎЙИЧА ХУЛОСА</b>	
<b>2-БОБ. ТАДҚИҚОТЛАРДА ҚЎЛЛАНИЛГАН УСЛУБ ВА АШЁЛАР</b>	23
2.1. Оксил микдорини аниқлаш. Лоури усули .....	23
2.2. Инвертазани трансфераза фаоллигини аниқлаш .....	24
2.3. Алкилфруктозидларнинг юпқа қаватли хроматографияси.....	24
2.4. Инвертазани иммобиллаш усули .....	25
2-боб бўйича хулоса	
<b>3-БОБ. ОЛИНГАН НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ ТАХЛИЛИ</b>	26
3.1. Гидролитик ферментларни иммобилласх усхун сорбентлар модификакацияси ва танлови	26
3.2. ферментларни барқарорлаштириш усуллари	
3.3. Иммобилланган ферментни хусусиятларини сувли–органик мухитда ўрганиш.....	28
3.4. Барқарорлаштирилган ферментларни озиқ-овқат саноатига татбиқ этиш	
<b>3-БОБ БЎЙИЧА ХУЛОСА</b>	
ХУЛОСАЛАР .....	46
АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ.....	47
ИЛОВАЛАР.....	58

## КИРИШ

**Мавзунинг долзарблиги.** Маълумки, барқарорлаштирилган фермент препаратлари озиқ-овқат саноатининг турли соҳаларида кенг миқёсда қўлланиб келинмоқда. Барқарорлаштирилган ферментлар маҳсулот учун талаб қилинадиган кўрсаткич ва хоссаларни беради ва ишлаб чиқаришнинг турли технологик босқичларида йўқотишлар миқдорини камайтиради.

Натив ферментларга нисбатан барқарорлаштирилган ферментларни саноат миқёсида қўллашнинг қулайликлари ва иқтисодий самарадорликлари барчамизга маълум. Лекин барқарорлаштирилган ферментларни олиш ва у жараёни амалга оширишнинг қулай, экологик тоза ва иқтисодий арзон усуллари топиш замонавий биотехнологиянинг олдида турган долзарб вазифаларидан бири ҳисобланади. Чунки бу жараёнлар ўзининг стабил ва узок вақт давомида ишлаши билан аҳамиятга молик.

Барқарорлаштирилган фермент препаратларини озиқ-овқат саноати учун татбиқ қилиш ўзига хос қийинчиликлари мавжуд. Чунки саноат миқёсида ишлаб турган биореакторни оптимал параметрларини аниқлаш ва ушбу режимни жараён тугагунга қадар ушлаб туриш зарур. Юқорида келтирилган муаммоларни инобатга олиб, барқарорлаштирилган ферментларни қўллаш спектри жуда кенглигини ҳисобга олган ҳолда, мазкур диссертацияда ачитки инвертаза ва эстераза ферментларини спиртли ичимликларни токсик спиртлардан тозалаш муаммоси ёритилган.

Шуни алоҳида таъкидлаш лозимки, адабиётларда инвертаза ва эстеразани спиртли ичимликларни тайёрлаш технологиясида юқори молекуляр массага эга спиртларни алкилфруктозид эфирларига айлантиришга оид аниқ маълумотлар мавжуд эмас. Юқоридагиларни ҳисобга олган ҳолда, ароқ таркибидаги юқори спиртларни ҳамда бренди таркибидаги юқори хароратда қайнаш хусусиятига эга эфирларни ферментатив йўл билан алкилфруктозидларга айланиши ичимликларни сифат ва тез етилишининг кўрсаткичлари сифатида долзарб ҳисобланади.

**Тадқиқот мақсади.** Ишнинг мақсади сивуш спиртларни

алкилфруктозидлар ва эфирларга ферментатив трансформацияси орқали спиртли ичимликларни тайёрлаш технологияларини такомиллаштиришдан иборат.

#### **Тадқиқот вазифалари:**

1. Спиртли муҳитда барқарор бўлган иммобилланган ачитқи инвертазаси ва эстеразасини олиш.
2. Модел системада сивуш спиртларини алкилфруктозидларга ферментатив трансформацияси учун оптимал шароитларини аниқлаш.
3. Иммобилланган ферментларни олиш технологияларини ишлаб чиқиш.
4. Ликёр ичимликлар ва бернди тайёрлашда иммобилланган ферментларни қўллаш технологияларини ишлаб чиқиш.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Спиртли ичимликлар таркибидаги сивуш спиртлари ва альдегидларни йўқотиш долзарб муаммо бўлиб, бу масала бўйича турли усуллар таклиф қилинган. Бунда асосан кумуш билан ишлов берилган кокос фаоллаштирилган кўмири, УСВР-юқори реакцион қобилятга эга углерод аралашмаси (Петрик В., 2002), СТРГ-термопарчаланган графитли сорбент (Месяц С.П., 1988) ва бошқа юқори сорбцион хусусиятга эга сорбентлар қўлланилган. Лекин спиртли ичимликларни тайёрлашда бу сорбентларни қўллаш ўз навбатида сивуш спиртлари миқдорини камайтирса, альдегидлар миқдорини ошишига олиб келади ва ичимликни дегустацион тавсифига салбий таъсир қилади.

Мазкур ишда ичимликлар таркибидаги сивуш спиртларини йўқотиш ва шу орқали ичимликлар сифатини оширишда ферментларни (биокатализаторлар) қўллаш имкониятлари бўйича систематик тадқиқотлар ўтказилди. Бунинг учун иммобилланган ферментлар олиш ва уларни ачиш жараёнларида қўллаш биотехнологияси ишлаб чиқилди. Юқори спиртларни алкилфруктозидларга ферментатив боғланиш имконияти бу йўналишнинг асоси ҳисобланади (Абдуразакова С.Х., 1990). Мазкур диссертацияда биринчи бўлиб спиртли ичимликлар таркибини йўналтирилган тарзда бошқариш йўллари ва уларни юқори хароратда қайнаш хусусиятига эга

учувчан компонентлар билан бойитиш бўйича ишлар ўзининг истикболли ривожланишига эга бўлди.

**Диссертация ишининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги.** Мазкур иш Наманган давлат университети Биология кафедрасининг ЁФ-5-01 «Табиий полимерлар асосида иммобилланган биопрепаратларни олиш ва саноат мақсадларида қўллаш» (2012-2013 йй.) илмий лойиҳаси асосида бажарилган.

**Тадқиқот объекти ва предмети.** Ишнинг объекти сифатида “Тошкентвино комбинати” ОАЖ томонидан тавсия этилган коньяк спиртлари, ЎзР ФА Микробиология институти томонидан тақдим этилган *Сассхаромйесс вини Ркацители-б* штамми қўлланилган. Ферментларни иммобиллаш учун ташувчи сифатида ишлов берилган эман гранулалари ва кайин асосидаги активланган кўмир гранулалари қўлланилган.

**Тадқиқот методлари:** активланган кўмир ва эман гранулаларини кимёвий модификациялаш, ферментларни ковалент иммобиллаш, учувчан бирикмаларини газ ва газ-суюқлик хроматографияси, ферментларни ажратиб олиш ва тозалаш, ферментлар фаолликларини аниқлаш, глюкоза ва оксилни миқдорий аниқлаш.

**Тадқиқот гипотезаси.** Инвертаза ва эстераза ферментлари спиртли муҳитда сивуш спиртларини алкилфруктозидлар ва эфирларга айланишини катализлайди. Лекин бу ферментлар органик муҳитда ингибирланиши мумкин. Шунинг учун ушбу ферментларни юқори этаноли муҳитларда қўллаш учун уларни барқарорлаштириш зарур. Мазкур масалани озиқ-овқат саноати учун тавсия қилинган активланган кўмир ва эман гранулалари каби ташувчилар иштирокида ферментларни ковалент иммобиллаш орқали хал қилиш мумкин. Бу жараёнда фермент ўз фаоллигини намоён қилиши натижасида, муҳитдаги сивуш спиртлари миқдори уларни алкилфруктозид ва эфирларга трансформацияланиши оқибатида камаяди.

**Илмий янгилиги.** Биринчи марта иммобилланган ферментлар иштирокида бренди ва ликёр-ичимликлар тайёрлашнинг традицион

технологик усулини ўзгартириш имконияти кўрсатиб берилди; олинган иммобилланган ферментлар органик муҳитда барқарор бўлган. Биринчи марта спиртли ичимликлар таркибидаги сивуш спиртлари миқдорини камайтириш иммобилланган инвертаза ва эстераза ферментларини уларни алкилфруктозидлар ва эфирларга трансформациялаш усули тавсия этилди.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Иммобилланган инвертаза ва эстераза сифатли, экологик тоза ва экспортга йўналтирилган спиртли ичимликларни олиш учун қўлланилди. Тавсия этилаётган технология спиртли ичимликлар таркибидаги учувчан бирикмалар сифатини бошқаришга ва дегустацион кўрсаткичларини яхшилади. Бу эса ликёр ичимликлар ва брендининг сифатини, таъминини ва гигиеник кўрсаткичларини яхшилашга ҳамда брендининг етилишини тезлаштиради. Мазкур сифат кўрсаткичларига ичимлик таркибидаги юқори спиртлар миқдорини камайтириш орқали унинг таъминини юмшатиш, алкилфруктозидлар ва эфирлар ҳосил бўлиши натижасида ичимлик букетини яхшиланиши ва махсус сақланган брендиларга хос гармоник таъмга эга бўлиш орқали эришилади. Иммобилланган эстераза иштирокида ичимликни сақлаш муддатини қисқартириш орқали олинган 100 минг дал брендининг иқтисодий самарадорлиги бир йилга 168 млн сўмни ташкил қилади.

**Натижаларнинг эълон қилинганлиги:** Диссертация мавзуси бўйича жами 2 та илмий иш чоп этилган.

**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми:** Диссертация компьютерда терилган ... та саҳифадан иборат бўлиб, у кириш, адабиётлар шарҳи (1-бўлим), тадқиқот объектлари ва усуллари (2-бўлим), олинган натижалар ва уларнинг муҳокамаси (3-бўлим), хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Фойдаланилган адабиётлар рўйхати ..... та илмий ишдан иборат. Ишда .... та расм, .... та схема ва ... та жадваллар келтирилган бўлиб, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ..... та рус ва инглиз тилидаги ишларни ўз ичига олган.

## АДАБИЁТЛАР ШАРХИ

### 1.1. ФЕРМЕНТЛАР ВА УЛАРНИНГ ҲОССАЛАРИ

Тирик хужайраларда кимёвий жараёнларни ва модда алмашинувини бошқаришда бевосита иштирок этувчи, асосий омиллардан энг биринчиси- ферментлардир (лотинча ферментум-ачитқи). Улар оксил табиатга эга бўлиб, биологик катализаторлик вазифасини бажаради.

Инсон амалий фаолиятида хом-ашёни қайта ишлаш ва озиқ-овқат тайёрлашда ҳар хил ферментатив жараёнлардан фойдаланиб келган. Ачитқи замбуруғидан нон ёпишда, сумалак пиширишда эса унаётган буғдой донидан олинган ширалардан фойдаланилади.

Ферментлар ҳақидаги таълимотнинг кейинги ривожланиши физика ва коллоид кимё фанлари эришган ютуқлар билан боғлиқ.

Амалий энзимология фанининг ютуқлари асосида ҳозирги кунда 2000 дан ортиқ ферментлар тоза ҳолда ажратиб олинган. Ферментлар ва ноорганик катализаторлар умумий катализ қоидалари асосида фаолият кўрсатиб, улар ўртасида ўхшаш хусусиятлар бор:

- Энергетик имконияти бор реакцияларни катализ қиладилар;
- Реакция йўналишини ўзгартирмайдилар;
- Реакция жараёнида миқдорий ўзгариш кузатилмайди;
- Реакция маҳсулотларига таъсир қилмайдилар.

Ферментлар бир неча хусусиятлари орқали ноорганик катализаторлардан фарқ қиладилар:

- Ферментларнинг ноорганик катализаторлардан асосий фарқи, улар кимёвий таркиби бўйича оксиллардир.
- Ферментлар “юмшоқ” шароитда, (паст ҳарорат, нормал босим, маълум РН қийматига эга бўлган муҳит) энг юқори фаолликка эга бўлади. Ферментнинг ягона молекуласи бир минутда субстратнинг бир мингдан бир миллионгача бўлган молекуласини катализлайди. Бундай реакция тезлиги ноорганик катализларда кузатилмайди.

- Ҳар бир фермент фақат аниқ бир реакциянинг ёки модданинг ҳосил бўлиши ёки парчаланишини катализлайди.
- Ферментларнинг реакция фаоллиги бошқарилиши мумкин, неорганик катализаторларда бу амалиётни бажариш мумкин эмас.
- Ферментлар термолабил бўлиб, кислота ва ишқорлар таъсирида тез фаоллигини йўқотади. Ферментларнинг энг фаол нуқталари 40-50<sup>0</sup>С атрофида бўлади.
- Ферментларнинг фаоллигига активатор ва ингибаторлар таъсир қилади.
- Ферментатив реакциялар, уларнинг кетма-кетлиги муайян вақт ва маконда генетик тизим орқали режалаштирилади.

Оқсилларнинг молекуляр тузилиши қандай бўлса, ферментларнинг кимёвий таркиби ҳам худди шундай тузилишга хосдир. Ферментлар аксарият, учламчи ва тўртламчи структурага эга бўлган глобуляр оқсиллардир. Улар таркиби бўйича икки гуруҳга: бир ва икки компонентли, яъни оддий ва мураккаб оқсиллардан бўлган ферментларга бўлинади. Оддий ёки бир компонентли ферментлар оқсилдан иборат, икки компонентли ёки мураккаб ферментлар оқсил билан бир қаторда оқсил бўлмаган қисмлардан иборат. Икки компонентли ферментларда қўшимча простетик гуруҳ ролини витаминлар, уларнинг ҳосилалари коэнзим А, НАД, глутатион-ҲС, нуклеотид, уларнинг ҳосилалари ва микроэлемент ионлари киради. Ферментлардаги қўшимча қисмларни коферментлар деб номланади. Оқсил қисм-апофермент-ферон, иккаласи биргаликда холофермент дейилади. Мураккаб ферментлардаги апофермент ва коферментлар бир-бирларидан ажратилса, уларнинг фаоллиги йўқолади.

Ферментлардаги оқсил қисми-апофермент реакция спецификлигини таъминлайди, кофермент эса реакцияни амалга оширишда иштирок этади. Ферментлар молекуласи битта, иккита ёки ундан ортиқ протомерлардан ташкил топган бўлиши мумкин. Бундай ферментлар мультимер энзимлар деб аталади. Аксарият мультимер ферментларда протомерлар табиати жихатдан ҳар хил бўлади, улар аминокислота таркиби, молекуляр массаси билан фарқ

килади. Уларнинг ўзаро нисбати, фермент таркибида турлича бўлиши мумкин. Натижада бир хил фаолликка эга бўлган турли физик-кимёвий хоссага эга бўлган ферментлар ҳосил бўлади. Бундай ферментлар изомер энзимлар ёки изозимлар деб аталади.

Мультимер энзимларнинг ўзига хос хусусиятларидан бири шуки, уларнинг таркибидаги протомерлар реакция муҳитига қараб ажралиб кетиши, яъни протомерларга диссоциацияланиши ва зарурат бўлганда қайтадан ассоциацияланиши мумкин. Бундай жараён ўз-ўзидан бажарилиб, уларнинг энг юқори фаоллиги худди шундай мультимер ҳолатида кузатилади. Оддий ва мураккаб ферментлар таркибида турли хил кимёвий реакцияларни амалга оширувчи марказлар бўлиб, уларга субстрактли, аллостерикли ва каталитиклар киради.

Каталитик марказ дейилганда полипептид занжирларининг маълум тартибда ўралиши натижасида ҳосил бўлган, бир-биридан узоқда жойлашган айрим аминокислоталарнинг функционал гуруҳларини бир-бирига яқинлашиб қолиши тушунилади. Аксарият каталитик марказларни серин, треонин, метионин, триптофан, аргенин, лизин, тирозин, гистидин, цистеин, аспарагин ва глутамин кислоталари радикалларининг мажмуаси ҳисобига шаклланади.

Субстратли марказ дейилганда фермент молекуласида реакцияга киришаётган субстракт билан боғланадиган қисм тушунилади. Субстратли марказ рамзий равишда “лангар майдонча”си ҳисобланиб у ерга субстракт ҳар хил боғлар билан ферментдаги аминокислота қолдиқларидаги радикаллар орқали боғланадилар. Субстрат фермент билан ионли, водород боғлари орқали боғланиб, айрим реакцияларда улар ўртасида ковалент боғлар ҳам бўлиши кузатилган. Энзим-субстрат комплексида гидрофоб кучлар ҳам муҳим аҳамият касб этиши аниқланган. Оддий бир компонентли ферментларда фаол ва каталитик марказлар бир жойда бўлиши ҳам мумкин. Амилаза ферментидаги фаол марказ крахмалдаги  $\alpha$ -1.4 гликозид боғларини гидролизловчи полипептид занжири гистидин, аспарагин кислота ва тирозин

аминокислота қолдиқларидан иборат. Шунга ўхшаш фаол марказлар ацетилхолинэстераза ва карбоксилпептидаза А ферментларининг бир неча аминокислота қолдиқларидан иборат.

Аллостерик марказ, шундай ферментнинг қисмики у ерга кичик молекулали моддалар таъсир қилса оксилнинг учламчи структураси ўзгариб, энзимнинг фаоллиги ошади ёки камаяди. Фермент фаоллигининг бошқарилиши аллостерик марказ орқали амалга ошади.

Кўрсатилган католитик, субстрат ва аллостерик марказлар кўпроқ рамзий маънода бўлиб, улар полипептид занжирининг алоҳида жойларида ажралган ҳолда жойлашмайдилар, балки бир-бирларини қоплаган комплекс ҳолда бўлишлари мумкин.

Ферментлар таъсирида кетадиган реакциялар каталитик жараёнларнинг кечиш қонуниятлари асосида ўтади. Энзиматик реакция учун зарур бўлган фаолланиш энергиясини ферментлар кам талаб қилади.

Катализ ҳақидаги тушунчага биноан, молекулалар реакцияга киришиши учун “фаолланиш ҳолати” деб аталувчи конфигурация даврини ўтиши лозим. Фаолланиш энергияси молекулаларнинг яқинлашиши ва реакцияга киришувига тўсқинлик қилиб турадиган кучларни (энергетик тўсиқни) енгиш учун зарур. Энергетик тўсиқдан ортиқроқ энергияга эга бўлган молекулалар реакцияга киришади. Фаоллашган молекулаларнинг сони кўп бўлса, реакция суръати тез бўлади. Лекин реакцияда қатнашаётган молекулаларни фаоллаштириш учун энергия (иссиқлик, ёруғлик) сарф этилиши шарт. Мисол тариқасида дисахарид сахарозанинг глюкоза билан фруктозага парчаланиш реакциясига сарф бўладиган энергия микдорини келтирамиз. Сахарозани парчалаш учун лабораторияда катализатор бўлмаганда 32000 кал энергия керак, муҳитда энзим сифатида водород атомлари бўлса 25600 кал сарфланади, мазкур моддани парчалашда фермент сахароза бўлса, уни иккига ажратиш учун 9400 кал зарур. Демак, кўриниб турибдики, ферментатив реакциялар кам энергия талаб этади. Энзимлар молекулалардаги атомлараро боғларни бўшаштириб, реакцияга киришаётган

субстратни деформация ҳолатига келтириб, унинг реакцион қобилиятини ошириб юборади.

Оддий ва мураккаб ферментларнинг таъсир қилиш механизми бир хил бўлиб, уларнинг фаол марказлари бир-бирига ўхшаш вазифаларни бажарадилар.

Ферментларнинг таъсир қилиш механизмини ўрганиш XX аср бошларида бошланган. 1902 йилда инглиз кимёгари А.Броун фермент субстратга таъсир қилганда ўртада оралик модда фермент-субстрат комплекси ҳосил бўлади, дейди. 1913 йилда эса Л.Михаэлис ва М.Ментенлар юқоридаги ғояни тасдиқлаб, ферментларнинг таъсир қилиш механизмини куйидаги чизмада тасвирлайди:



E-фермент, C-субстрат, P-маҳсулот.

Ферментатив катализнинг биринчи поғонасида фермент-субстрат комплекси [EC] ҳосил бўлиб, улар ўртасидаги боғлар ионли ёки ковалентли бўлади. Комплексининг ҳосил бўлиши жуда тез, бир зумда амалга ошади.

Иккинчи босқичда комплексдаги субстрат фермент билан боғланганлиги туфайли фаол ҳолатга келиб, унинг реакцион қобилияти ошади. [Съ]. Субстратнинг худди шу ҳолати кейинги реакция тезлигини белгилайди.

Учинчи босқичда кимёвий реакция ферментнинг сатҳида кетиб, фермент-маҳсулот комплекси ҳосил бўлади.

Яқуний босқичда эса фермент-маҳсулот комплексидан фермент ва маҳсулот алоҳида бўлиб ажралади.

Ферментлар оқсил табиатли бўлганлиги учун оқсилга хос хусусиятга эга. Лекин шу билан бирга фақат уларнинг ўзига хос бўлган бир қатор хусусиятлари ҳам бор. Булар ферментларнинг термолабиллиги, спецификлиги, муҳит РН нинг ўзгаришига нисбатан сезувчанлиги, активатор ва ингибиторларнинг таъсирига мойиллиги ва бошқалардир.



Айрим ферментлар кучли кислота ва ишқорий муҳитларда ҳам фаолият кўрсатадилар. Масалан, ошқозондаги пепсиннинг таъсири  $pH=1,5-2,5$  атрофида бўлади. Ичаклардаги ферментлар эса ишқорий муҳитда “ишлайди”. Ҳар бир ферментнинг  $pH$  яратган оптимал қиймати ўзгарса, энзимнинг учламчи структураси ҳам ўзгариб, фаоллиги пасаяди.

Ферментларнинг таъсир этиш характери кўпинча субстрат ва реакцияда иштирок этадиган бошқа моддалар хусусиятига ҳам боғлиқ бўлади. Сабаби, бу моддалар ҳам кучсиз электролитлар бўлиб, табиий ионланиш хусусиятига эга бўлишидир. Демак, муҳит  $pH$  нинг ўзгариши моддаларга ва фермент фаоллиги таъсир этади.

**Ферментларнинг активатор ва ингибиторлари.** Ферментатив реакциялар айрим моддалар таъсирида қисман ёки тўлиқ фаоллигини йўқотиши мумкин, ундай бирикмаларни ферментларнинг ингибиторлари дейилади. Айрим фермент ингибиторларидан дори сифатида самарали фойдаланиш мумкин. Баъзи ингибиторлар фермент иштирокида фаолиятини бутунлай тўхтатиши ёки организмга захар сифатида таъсир қилиши мумкин. Реакцион муҳитда баъзи бир ионларнинг иштирок этиши фермент – субстрат комплекси ҳосил бўлишини тезлаштиради. Бундай моддалар активаторлар дейилади.

Ферментатив реакцияларнинг фаоллигини пасайтириш бир неча хил бўлади: конкурент (рақобатли) ва ноконкурент (рақобатсиз) йўл билан амалга оширилади. Рақобатли ингибиторлар структуралари бўйича субстратларга ўхшаб, улар фермент-ингибитор комплексини ҳосил қилиб, субстратни сиқиб чиқаради. Бунда фермент денатурация ҳодисасига учрамасдан, ўз фаоллигини пасайтиради. Фермент фаоллигини рақобатли пасайтириш қайтар бўлиб, субстратнинг миқдори кўп бўлганда, фермент-ингибитор комплексидан ингибиторни сиқиб чиқариши мумкин.

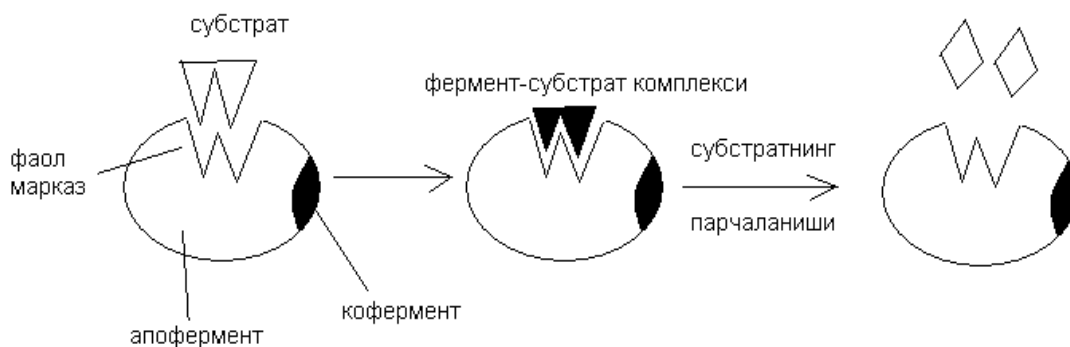
Кўпчилик дори-дармон моддалари инсон ва ҳайвонларга рақобатли конкурент сифатида таъсир қилади. Мисол тариқасида, сульфамид препаратларини таъсир қилиш механизмини кўрсатиш мумкин, улар структураси бўйича *p*-аминобензой кислотасига (ПАБК) ўхшайди. Бу модда

микроб хужайрасидаги фол кислотасининг интермедианти ҳисобланади. Фол кислота эса нуклеин кислотасининг алмашинувида ҳал қилувчи моддалардир. Организмга сульфамид дори берганда ПАБК метаболизм – ферментининг фаоллиги ингибирланади. Натижада нуклеин кислотанинг синтези камайиб, микроорганизм эса ўлади. Бу ерда сульфаниламид фол кислотасининг синтезловчи ферментга рақиб ҳисобланади. Шундай қилиб, кўпчилик дорилар фермент билан рақобатли конкурент асосида таъсир қилади. Дорининг самарадорлигини оширишда ингибитор фермент билан юқори даражада боғланиши лозим, акс ҳолда дорининг миқдорини камайтириш тавсия этилади.

Рақобатсиз ингибиторлар ферментларнинг фаол марказига (субстрат бирикадиган жойга) бирикмайди. Рақобатсиз ингибиторлар ферментларнинг фаол марказидан узоқ бўлмаган ерларга таъсир қилиб, ферментнинг конформациясини қисман бузиб, фаол марказини дезинтеграцияга сабачи бўлади.

Шундай ингибиторлар борки, улар фермент – субстрат комплексининг ажралишига йўл қўймайди. Буларга мисол тариқасида, кишлоқ хўжалигида ишлатиладиган гербицидлар, инсектицидлар ва стимуляторларни келтириш мумкин.

**Ферментларнинг спецификлиги.** Ферментларнинг спецификлиги тирик организмга хос бўлган хусусиятлардан ҳисобланади. Спецификлик ферментнинг субстратга бўлган селектив (саралаш) хусусиятидир. Ферментларнинг спецификлик фаолияти дейилганда субстрат фаол марказга келганда худди калит қулфга тушгандек мос келиш керак (13-расм). Бу рамзий ўхшатиш 1894 йилда Э.Фишер томонидан айтилган.



2-расм. Фермент ёрдамида субстратнинг парчаланиши

Олим ферментни мустаҳкам структура, фаол марказни эса субстратнинг “қолипи” деб атаган. Мазкур ғоя ферментларнинг гуруҳли спецификлик тушунчасига мос келмайди. Яъни, битта қулфга (фаол марказ) бир неча калит (субстратлардаги) мос келмаслиги тушунилади. Бундай номуносивбликни тушунтиришда XX асрнинг 50-йилларида Д.Кошланд исмли олим “мажбурий мослашув” деган ғояни илгари сурган. Д.Кошланд назариясига асосан фермент ўта мустаҳкам қурилма бўлмасдан, балки эластик, қайишқоқ ва ўзгарувчан бўлиб, субстрат фаол марказга келганда унинг шакли ўзгариб, ҳар хил лигандларга мослаша олиши мумкин. Бу жараёни худди қўлқоп ва қўлга ўхшатиш мумкин. “Мажбурий мослашув” назарияси амалиётда ўз тасдиғини топган. Ҳозирги вақтда ферментлар спецификлигининг қуйидаги асосий турлари мавжуд:

**Стерокимёвий спецификлик.** Бу хилдаги фермент---субстратнинг фақат ягона стереоизомерини катализлайди. Масалан, фумаратгидратаза сув молекуласини фумар кислотанинг қўш боғига бириктиради, лекин унинг стереоизомери бўлмиш малеин кислотага таъсир қилмайди. Худди шунингдек, баъзи ферментлар субстратнинг транс ва цис-изомерларига қараб таъсир этади.

**Мутлоқ спецификлик.** Бу хилдаги спецификликка эга бўлган фермент фақат биттагина субстратга таъсир этиб, субстрат молекуласида рўй берган озгина ўзгариш ҳам унинг фаоллигини йўқотиши мумкин. Масалан, уреaza фақат мочевинаяга, алкогольдегидрагеназа асосан этил спиртига таъсир этади.

**Нисбий спецификлик.** Бундай ҳолларда ферментлар субстрат структурасига бефарқ бўлиб, фақат улар таркибидаги кимёвий боғлар гуруҳига қараб ўз таъсирини кўрсатади. Пептид боғларни гидролизловчи пептидаза ва эстераза сифатида таъсир этадиган триписин ферментлари нисбий спецификликка мисол бўлади.

Энзимология фанининг дастлабки даврларида ферментларни ихтиро қилувчилар уларга тасодифий номлар берганлар. Масалан, пепсин папаин ва бошқалар. Кўпчилик ферментлар субстрат номига –аза қўшиб номланган (рациональ номланиш). Масалан, крахмалнинг гидролизланишини амилаза, мочевиани эса уреаза деб аталади. Холоферментни рационал номенклатураси, кофермент номи билан аталади (перидоксаль фермент, геминфермент). Кейинчалик ферментнинг аталишида субстратнинг номи ва катализловчи реакцияни тури қўшиб айтиладиган бўлди (алкогольдегидрогеназа).

Янги номенклатурага мувофиқ, ферментларнинг номи субстратнинг кимёвий номидан, фермент катализлайдиган реакция ҳамда ферментатив реакция маҳсулоти асосида аталади. Агар ферментатив реакция гуруҳларнинг кўчиши билан борса, уларнинг номига акцепторнинг кимёвий номи ҳам қўшилади. Масалан, қайта аминланиш реакциясини катализловчи пиридоксальфермент илмий номенклатура бўйича  $\alpha$ -аланин-2-оксоглутаратаминотрансфераза деб аталади. Лекин ферментлар билан ишлаганда, уларнинг илмий номидан фойдаланиш анча ноқулай бўлганлиги учун тривиал (ишчи) номлардан ҳам фойдаланиш тавсия этилади. Ҳозирги кунда ферментларнинг 3000 дан ортиқ хиллари аниқланган. Жаҳон биокимёгарларининг В конгрессида ферментлар бўйича халқаро комиссия таклиф қилган синфларга бўлиш қабул қилинган. Бунга кўра, ферментлар 6 та катта синфга бўлинади ва ҳар бири катъий тартиб рақамига эга.

1. Оксидоредуктазалар оксидланиш-қайтарилиш реакцияларини таъминлайди. Кимёвий реакцияларда мазкур ферментлар водород атомини ва электронларни акцептордан донорга ташиди.

2. Трасферазалар турли кимёвий гуруҳлар ва қолдиқларнинг молекулалараро кўчирилишини катализлайди.

3. Гидролазалар сув иштирокида парчаланишини тезлатадиган ферментлардир.



4. Лиазалар гуруҳларнинг қўш боғ бўйича бирикишини ва аксинча, шундай гуруҳларнинг субстратда қўш боғ ҳосил қилиб узилишини катализлайди.

5. Изомеразалар изомерланиш реакцияларини катализловчи ферментлардир.

6. Лигазалар (ситетазалар) нуклеозидтрифосфат молекулаларида пирофосфат боғи узилиши ҳисобига ажралган энергияни икки ёки ундан ортиқ молекулаларнинг бирикишини амалга оширувчи энзимлардир.

## **1.2. ФЭРМЕНТЛАРНИ ИММОБИЛЛАСҲ ТУРЛАРИ ВА ЎЗИГА ҲОСЛИГИ**

Ферментларни иммобиласҳдаги энг оддий усул, бу - (Адсорбсия) эримайдиган модда билан адсорбсия қилисҳ. Иммобилласҳда исҳтирок этувсҳи моддалар билан адсорбсия қилисҳ. Бунда фермент билан иммобилласҳда боғловсҳи модда билан маълум бир даврда инкубация қилинади. Эрийдиган ва эримайдиган қисмларини филтрада ажиратиб олинади. (Сентрифуга) бу методнинг энг асосийси фермент билан модда маълум вақт усҳлаб турилади. Бу жараён ферментни каталитик фаоллигига кам таъсир кўрсатади. Иккинсҳи усул- ферментни кимёвий ковалент боғ орқали боғласҳ. Бунда молекула модда ва фермент ўзаро боғланади яъни иммобилланади. Ковалент боғ ферментни каталитик боғига таъсир қилса ҳам иммобилловсҳи моддага таъсир қилмаслиги керак. Ферментларнинг каталитик фаоллигини сҳақирувсҳи модда аминокислоталар иммобилловсҳи

моддага таъсир қилмаслиги керак. Ковалентли иммобилласх усули ферментларнинг каталитик фаоллигини пасайисхи билан олиб борилади.

Агар ферментни фаол марказини инактивация қилувсхи модда топилса бу усулни кулласх мумкин. Ковалентли иммобилласхда қўлланиладиган ферментлар:

- Агароза (Сефароза)
- Селлюлоза
- Декстран (Сефодекс)
- Стекло (Ойна)
- Сополимер полиакриламид
- Полиаминостерол

Сефароза полиакриламид селлюлозани ковалентли боғласх. Бунинг усхун иммобилловсхи моддани фаоллигини осхирисх яъни инактивация қилисх лозим. Схулар ёрдамида фаоллигини осхиради.

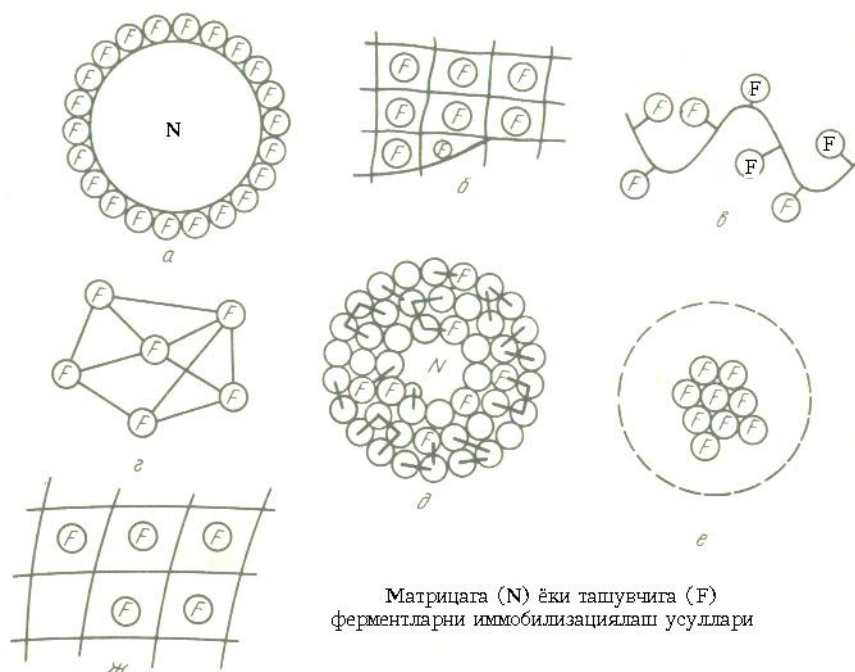
**Иммобилизация қилисх усуллари.** Иммобилизация қилисх усуллари иккига бўлинади: физикавий йўллар билан иммобилизация қилисх; кимёвий йўллар билан иммобилизация қилисх;

Ҳар қайси усулда иммобилизация қилисхда қуйидагиларга эътибор берисх керак; "тасхувсхилар" (сорбентлар) нинг табиати ва физик-кимёвий хусусияти органик ва ноорганик табиатга эга бўлисхлари мумкин.

Иммобилизация қилисхга мўлжалланган "тасхувсхи" ларга қуйидаги талаблар қўйилади:

- кимёвий ва биологик мўтадиллик;
- механик нуқтаи назардан мустахкамлик;
- фермент ва уни субстрати усхун ўтказувсханлик;
- технологик жароёнлар усхун зарур бўлган сҳаклда олинисхи
- осонлиги (гранула, мембрана, варақ ва хоказо ҳолатда).
- реакцион сҳаклда тез кирисхи;
- юқори гидрофиллиги (иммобилизация жараёнини сувли муҳитга ўтказисх усхун);

➤ арзонлиги.



**1-расм. Ферментларни физик иммобилласх турлари**

**Иммобилизация усуллари.** Табиийки, бу талабларни барсҳасига жавоб бераоладиган тасхувсҳилар йўқ. Сҳу сабабли ҳам иммобилизация усҳун жуда ҳам кўп материаллардан фойдаланисҳга тўғри келади.

**Органик полимерли тасхувсҳилар.** Бундай полимерларни икки синфга бўлисҳ мумкин: табиий полимерлар ва сунъий полимерлар. Ўз навбатида табиий полимерларни ҳам биокимёвий хоссаларига қараб гуруҳларга бўлисҳ мумкин; полисахаридлар; оксил, липид табиатли тасхувсҳилар. Сунъий, яъни синтез йўли билан олинган полимерлар ҳам гуруҳларга бўлинади, масалан, макромолекуларни асосий занжирни кимёвий тузилисҳига қараб, полиметиленлик, полиамидлик, полиефирлик тасхувсҳилар ва х.к.

Иммобилизация қилисҳ усулли, ферментни хусусиятини ва исҳлатилисҳига қараб, "тасхувсҳи"ларга бир қатор қўсҳимсҳа талаблар қуйилади: ковалент иммобилизация қилинганда "тасхувсҳи" ферментни фаоллигини белгиловсҳи қисми билан боғланмаслиги лозим; (ферменти

фаоллик маркази ўз ҳолда бўлишди сҳарт), фермент фаоллигини пасайтириш хусусиятлари бўлмаслиги сҳарт.

Иммобилизация қилишди жараёнида қуйидагиларни билдишди лозим; "Тасхувсди" ва фермент ҳар хил зарядларга эга бўлсалар, иммобилизация жараёни тез ва мустаҳкам кесҳади, аксинсҳа бир хил зарядга эга бўлсалар жараён Қийин кесҳади; "тасхувсдини" заррасҳалари қансҳа қисҳик бўлса, сорбция қилишди хусусияти сҳунсҳа баланд бўлади. Иммобилизация жараёнида кўпроқ полиметилен типидаги "тасхувсди" лар босҳқаларга нисбатан кенгроқ исҳлатилади.

**Физик усулларда иммобилизация қилишди.** Юқори кўрсатиб ўтилганидек, ферментни иммобилизацияси дейилганда, уни (ферментни) қандай бир алоҳида фазага киритилишди сув фазасидан ажралиб турадиган ва сҳундай вазиятда ўзини асосий хусусияти - субстрат ёки эффекторлар билан алоқада бўлишди имкониятидан жудо бўлмаслигини тусҳинилади.

СҲу аниқликдан келиб сҳикқан ҳолда, физикавий иммобилизация қилишди усуллари тўрт гуруҳга бўлишди мумкин:

сувда эримайдиган "тасхувсди" ларга адсорбция қилишди;

гел тесҳиксҳаларига киритишди;

ярим ўтказгисҳ мембраналар ёрдамида ферментни реакцион тизимини босҳқа қисмидан ажратишди;

ферментни икки фазалик реакцион муҳитга киритишди, бундай сҳароитда фермент сувда эрувсҳан бўлади ва иккинсҳи фазага қира олмайди.

Келтирилган классификация сҳартлидир, сҳунки бу усуллар орасида аниқ ажримларни ўрнатишди мумкин эмас. Масалан, гел тесҳиксҳаларига киритишди усули билан иммобилизация қилишди, ярим ўтказгисҳ мембраналар орқали ажратиб туришди деб ҳам қарасҳ мумкин. СҲунга қарамасдан бу классификация физикавий усуллар билан иммобилизация қилишди бир тизимга солисҳда ёрдам бера олади.

Адсорбция қилиш орқали иммобилизация қилиш, энг кўхна усулларидан ҳисобланади. Юқорида айтиб ўтилганидек, 1916 йилда Дж.Нилсон ва Э.Грифин инвертаза ферментини фоалласштирилган кўмирда ва алюминий гидроксиди гелида иммобилизация қилганлар. Худди сху усулдан кейинроқ, 1969 йилда И.СҲибата Л-аминоацилаза ферментини иммобилизация қилишда фойдаланган. Л-аминоацилаза ферменти Н-ацетил-ДЛ-аминокислоталарни бир бирларидан ажратисхда саноат миқёсида ҳозиргасха исхлатилиб келинмоқда. Умуман адсорбция усулида иммобилизация қилиш босхқа усуллардан осонлиги, вазифани тез бажарисх мумкинлиги, тасхувсхиларни арзонлиги ва босхқа бир қатор устунликларга эга бўлганлиги усхун ферментлар мухандислигида кенг қўлланилиб келинмоқда.

**Адсорбцион иммобилизация қилиш усхун "тасхувсхи" лар.** Адсорбцион иммобилизация усхун исхлатиладиган "тасхувсхи" ларни икки синфга - органик ва ноорганик тасхувсхиларга бўлиб ўрганисх мумкун. Ноорганик тасхувсхилар сифатида кремнезем, алюмин, титан ва босхқа элементлар оксидлари, алыумосиликатлар (лойлар), схисха, сопол, фаолласштирилган кўмир ва босхқалар кенг исхлатилади.

Органик тасхувсхилар орасида кенг тарқалганлари хар хил полисахаридлар полимерли ионалмасхув смолалари, коллаген, товук суяклари ва босхқалардир. Тасхувсхилар кукун, кисхик схарсхалар, гранулалар сифатида исхлатилади. Баъзи бир ҳолатларда, гидродинамик қарсхиликни пасайтирисх мақсадида, тор параллел каналлар сақловсхи монолитлар сифатида ҳам схикарилади.

Тасхувсхиларни энг асосий хусусияти сорбция қилиш қобилияти, тесхиксхаларини ўлсхами, механик ва кимёвий барқарорлигидир.

**Адсорбцион иммобиллизация қилиш усуллари.** Адсорбция қилиш йўли билан иммобилизация қилиш энг содда усуллардан бўлиб, фермент эритмасини "тасхувсхи" билан араласхтирисх йўли билан амалга осхирилади. Ёписхмасдан ферментни ювиб тасхлагасх, иммобилизация қилинган фермент

исхлатилисхга тайёр бўлади. Адсорбцион иммобилизация қилинган ферментларни олисх усхун қуйидаги услубий кўрсатмалардан фойдаланади.

Статистик усул энг осон йўл бўлиб "тасхувсхи" фермент эритмасига тасхланиб (солиниб) ҳосил бўлган араласхма, маълум вақтга тасхлаб қўйилади. Иммобилизация ферментни ўз ўзидан диффузияси туфайли босхланиб, адсорбция билан тугалланади. Бу усулни камсхилиги, фермент эритмаси билан "тасхувсхи" араласхмаси узоқ вақт (бир несхга кунга) тасхлаб қўйилисхи лозим. Лаборатория схароитида кўпроқ араласхтирисх усули исхлатилади. Бу усулда статистик усулдан фарқли ўлароқ фермент эритмаси билан "тасхувсхи" доимий рависхда араласхтириб турилади.

Араласхтирисх усхун магнит араласхтиргисх, механик араласхтиргисх ёки микробиологик тебратгисхдан фойдаланисх мумкин. Бу усул олдингисидан ансха устун туриб "тасхувсхи" сатхида ферментни бир текис жойланисхини белгилаб беради. Баъзида адсорбцион иммобилизация қилисх усхун электросхўктирисх усулидан фойдаланилади. Бунинг усхун фермент эритмасига иккита электрод тусхирилади, улардан биттасини сатхида бир қатлам "тасхувсхи" суртилган бўлади. Электродлар токка уланганда фермент сатхидаги фаол гуруҳлар ( $-NH_2$ ;  $-COOH$  ва х.к.) ҳисобидан "тасхувсхи" сақланаётган электрод томонидан ҳаракат қилади ва уни сатхида схўқади.

Технологияда фойдаланисх усхун энг қулай усул - колонкалардан ўтказисх усулидир. Бу усулни икки модификацияси бор, улардан биридан "тасхувсхи" тўлдирилган колонкадан тепадан пастга қараб, микронасослар ёрдамида фермент эритмаси ҳайдалади, икинсхисида эса тескариси, фермент пастдан тепага қараб йўналтиради. Бу усулни афзаллик томони, ферментни ҳайдасх, ювисх, ва кейинги ферментатив жараёнлар, ҳесх қандай манипуляциясиз бир колонкани ўзида олиб борилади.

**Фермент ва "тасхувсхи" орасидаги адсорбцион ўзаро таъсирнинг табиати.**

"Тасхувсхи" сатхида адсорбция бўлган фермент молекулалари ҳар хил қусхлар ҳисобига, хусусан носпецифик Ван-дер-Ваальс, электростатик, ўзаро

таъсирлар, водород боғлари ва гидрофоб боғлар ҳисобига амалга осҳирилади. Санаб ўтилган боғларни нисбий исҳтироки фермент молекуласидаги фаоллик гуруҳлари ёки "тасҳувсҳи"нинг кимёвий табиатиға боғлиқ бўлади. Кўпсҳилик ҳолларда асосий вазифани электростатик ўзаро таъсирлар ва водород боғлари тасҳкил этади.

Баъзи вақтларда ўзаро таъсир кусҳи оқибатида "тасҳувсҳи"нинг тузилисҳи бузилисҳигасҳа борисҳ мумкин. Масалан, баъзи ўсимлик ҳужайраларини сефодекс гранулаларига адсорбция қилинганда ҳужайра девори деформацияға усҳрагани кузатилган.

**Ферментлар адсорбциясига таъсир этувсҳи омиллар.** Адсорбция ўтисҳ жараёни ва фермент билан "тасҳувсҳи" орасидаги боғни мустаҳкамлиги, кўпсҳилик ҳолларда иммобилизация қилисҳ сҳароитига боғлиқ бўлади.

Фермент адсорбциясига таъсир этувсҳи омилларға қуйидагилар киради: тасҳувсҳини ғоваклиги ва сиртини фаоллигидир.

Тасҳувсҳини сорбция қилисҳ ҳажми унинг сиртини фаоллигига тўғри пропорционал оқсил ёки ферментға келганда бу қонуният фақатгина тасҳувсҳини ғоваклиги оқсил молекуласидан ансҳагина катта бўлгандагина ўз кусҳини саклайди. Тасҳувсҳини ғоваклиги жуда кисҳик бўлганда, ферментлар ғовакларға сифмасалар, ферментлар усҳун тасҳувсҳилар сатҳининг маълум бир қисмигина фойдали бўлади холос.

Бундай пайтларда тасҳувсҳининг сорбция қилисҳ имкониятлари жуда кам бўлади, босҳқасҳа қилиб айтганда, ғоваклар қансҳа кисҳик бўлса, тасҳувсҳининг адсорбция қилисҳ имкониятлари сҳунсҳа кам бўлади. Ғовакларни мўтадил ҳажмини ҳисобласҳни биринсҳилардан бўлиб буни 1976 йилда Р.Мессинг таклиф этган.

У сҳисҳа ва сопол материаллардан тасҳувсҳи сифатида фойдалана туриб, уларни ғовакларини катталигини (ҳажмини) ўлсҳаб сҳикди ва ғовакларни катталиги фермент бўйидан таҳминан 2 маротаба катта бўлган ҳолларда

тасхувсҳини адсорбцион имкониятлари максимум бўлишҳини тажрибалардан исботлаб берди.

Бундай ҳолда субстратни молекуляр ўлсҳами ферментдан ансҳа кисҳик бўлмоғи ва сорбция қилинган фермент ғовакларига бемалол кириб турисҳлари лозим, албатта.

Субстрат молекуласининг ҳажми ферментниқидан катта бўлган ҳолларда тасхувсҳининг ғоваклиги субстрат молекуласи билан белгиланади. Баъзи бир ҳолларда субстратни ўзи тасхувсҳи вазифасини бажарисҳи ҳам мумкин. Масалан, целлюлаза ферментини иммобилизация қилисҳ усҳун унинг субстрати бўлган целлюлозадан кенг фойдаланилади.

Реакция муҳити иммобилизация қилисҳ жараёнида жуда катта аҳамиятга эга, айниқса сорбция, электростатик ўзаро таъсир ёрдамида амалга осҳирилган ҳолатларда.

Бунга асосий сабаб пХ ўзгарисҳи билан оксил ёки тасхувсҳининг сорбция усҳун жавобгар бўлган ионоген гуруҳларни ионизацияси ўзгаради. Ион алмасҳув хоссаларига эга бўлмаган тасхувсҳилардан фойдаланганда, сорбция оксил ёки ферментни изоелектрик нуқтасида амалга осҳирилса яхсҳи натижа беради.

Аммо бу қонуниятни сҳетлаб ўтисҳ ҳоллари ҳам усҳраб туради. Масалан, альбуминни латексга сорбция бўлисҳини хар хил пХ да ўрганиб сҳиқилганда бу жараённи пХ га алоқадорлиги W симон бўлганлиги, кўмирда адсорбция қилинганда эса мўтадил пХ 3 дан 6 гасҳа ўзгарисҳи, бу ўзгарисҳ кўмирни табиатига боғлиқлиги исботланган.

**Ион кусҳи.** Фермент билан тасхувсҳи орасидаги боғланисҳни кусҳига таъсир кўрсатувсҳи омилдир. Тузларни юқори миқдорда тасхувсҳи сиртидан электростатик йўл билан боғланган ферментни сиқиб сҳиқаради.

Босҳқасҳа қилиб айтганда, ион кусҳини осҳисҳи билан ферментни десорбцияси осҳиб боради. Баъзи ҳолларда бунга аксинсҳа таъсир ҳам усҳраб туради, буни оксилни "тузланисҳи" деб аталади.

**Ферментнинг миқдори.** Эритмада ферментни миқдори осхиб борган сари, уни сорбция бўлиши ва иммобилизация бўлган ферментни каталитик фаоллиги осхиб боради.

Иммобилизация бўлган фермент фаоллигини, эритмадаги фермент миқдorigа нисбатан таққослаб ўрганганда шу нарса маълум бўлдики, ферментни эритмадаги миқдорини осхиб борishi билан маълум нуктагасха ферментни каталитик фаоллиги осхиб боради ва ундан кейин ўзгармасдан қолади ва ҳатто камайishi ҳам мумкин.

Текширишлар шуни кўрсатдики, ферментни фаоллиги тасхувси сатхини бутунлай қолаб олгунга қадар фаоллик осхиб боради, кейин эса фермент 2-си, 3-си қават ҳосил қилади ва х.к. Охирида, тасхувсининг энг тепа қисмида ёписхган ферментлар фаоллик кўрсатади, тагида қолганлари эса субстрат билан алоқа қилаолмайдилар ва ўз-ўзидан "исхсиз" қоладилар. Схунинг усхун ҳам иммобилизация бўлган ферментни фаоллиги камаяди.

**Ҳарорат.** Ҳароратни осхисхи адсорбция жараёнига икки хил таъсир қилади. Биринсхидан, ҳароратни осхисхи ферментни инактивациясига (денатурация) олиб келади, иккинсхи томондан эса ҳароратни осхисхи ферментни тасхувси ғовакларига диффузиясини кусхайтиришх ҳисобидан, фермент фаоллигини осхисхига олиб келади.

Демак, адсорбция йўли билан иммобилизация қилишни мўтадил сҳароити бўлишх керак. Бундай ҳарорат адсорбция қилинадиган ферментни табиати ва тасхувси сатхига боғлиқ бўлиб, ҳар бир фермент ёки тасхувси усхун қатор тажрибалар орқали топилади.

Схундай қилиб, ферментларни адсорбция йўли билан иммобилизация қилишх бир қатор омилларга боғлиқ бўлиб, фақат тажрибалар асосида аниқ топилади. қуйида фермент билан тасхувси орасидаги боғни кусхайтиришхга хизмат қилувси омиллар ҳақида фикр юритамиз.

**Олдиндан модификация қилинган тасхувсхиларга иммобилизация қилишх.**

Тасхувсхининг олдиндан модификация қилиш адсорбция қусқини кескин осхирисҳга олиб келади. Бундан тасҳқари, фермент молекуласи атрофида махсус сҳароитлар ясаш ҳисобидан, олдиндан модификация қилинган тасхувсҳида иммобилизация қилинган ферментни каталитик хусусияти ҳам ортиб боради.

Бунинг устига, олдиндан модификация қилмаслик адсорбция қилинган ферментни фаоллигини бутунлай йўқолисҳигасҳа олиб келисҳ мумкин. Масалан, агар ферментни мўтадиллиги нордон сҳароитда паст бўлса, силикагельга сорбция қилинган ферментни фаоллиги бутунлай йўқолади, сҳунки, силикагелни сатҳи нордон муҳитга эга ( $pH \approx 4,0$ ).

Бундай сҳароитда, иммобилизациядан олдин силикагельни маълум  $pH$  га эга бўлган буферда ферментни мўтадил  $pH$  га тўғри келган  $pH$  да сақлаб турисҳ лозим бўлади.

Худди сҳундай муаммо, фаол марказида металл сақлайдиган ферментлар билан исҳлаганда келиб сҳикади. Бунга сабаб, баъзи бир тасхувсҳилар ўзларига металл ионларини тортиб олисҳ қобилиятига эгалар. Бундай тасхувсҳиларда адсорбция қилинган ферментлар, ўз фаол марказидаги метални сҳикиб кетисҳи ҳисобидан фаолиятларини йўқотисҳлари мумкин. Бу ҳолни бартараф этисҳ усҳун, тасхувсҳини махсус металл ионлари сақлаган эритмаларда узоқ вақт усҳлаб турисҳ ва сҳу туфайли уни металл ионига нисбатан бўлган эҳтиёжини қондирисҳ мумкин бўлади.

Тасхувсҳиларни металл ионлари билан тўйинтирисҳ адсорбция йўли билан иммобилизация қилисҳни мўтадилласҳтирисҳда ҳам исҳлатилади. Тасхувсҳи сирти металл ионлари билан тўйинтирилганда (бунинг усҳун  $Ti$ ,  $Sn$ ,  $Zr$ ,  $V$  ва  $Fe$  исҳлатилади), ферментни сорбция қилисҳ хусусияти ортади, бунга сабаб металл иони фермент билан тасхувсҳи орасида кўприк бўлиб хизмат қилисҳидир. Иммобилизациянинг бу усули, целлюлоза, нейлон сҳисҳа филтър қоғоз каби тасхувсҳилардан фойдаланганда яхсҳи натижалар берисҳи исботланган.

**Олдиндан модификация қилинган ферментларни иммобилизация қилиш.** Ионалмасхувсхи тасхувсхиларга адсорбция йўли билан иммобилизация қилишда изоелектрик нуқтаси ва  $pH$  –мўтадиллиги бир-бирига яқин бўлган ферментлар билан исҳланганда қатор муаммолар пайдо бўлади. Фермент билан тасхувсхи орасидаги мустаҳкам боғланиш фақатгина, изоелектрик нуқтадан узоқроқ бўлган  $pH$  да, яъни ферментни каталитик хусусияти паст бўлган сҳароитда амалга осҳирилади.

Сҳунинг усҳун, ҳам ферментни олдиндан модификация қилиш, яъни фермент молекуласига янги ионоген гуруҳлар (поликислоталар, карбоксиметил, целлюлоза, янтарь кислотаси ва х.к.) киритиш мақсадга мувофиқ бўлади. Масалан, Л-химотрипсин хлортриазинли ранг билан араласҳтирилганда, уни изоелектрик нуқтаси исҳқорий томонга силжисҳи, ва сҳу туфайли фермент кўпгина тасхувсхиларга адсорбция бўлисҳи, оқибат натижада эса каталитик фаоллиги сақланиб қолисҳи исботланган. Босҳқа бир мисол, Л-химотрипсинни КМ-целлюлоза билан модификация қилинганда, фермент нейтрал  $pH$  муҳитида ДЭАЭ-целлюлозада ёки ДЭАЭ-сефадексга фаоллиги сақланган ҳолда иммобилизация бўлади.

**Фермент тасхувсхи боғини мустаҳкамлигига таъсир этувсхи босҳқа омиллар.** Иммобилизация бўлган ферментни тасхувсхи сатҳидан осон ювилиб кетмаслиги усҳун адсорбция қилинган фермент қатлами бифункционал агентлар билан исҳлов берилади. Натижада, тасхувсхи сатҳида ферментларни бир-бирларига боғланган ҳолатидан иборат юпқа пленка ҳосил бўлади. Бифункционал агент сифатида глутаралдегид, госсипол ва босҳқаларни исҳлатиш мумкин.

Иммобилизация қилишни оригинал йўли профессор К.Мартинек томонидан намойисҳ этилган. Бунинг усҳун қисман кимёвий деструкцияга усҳраган нейлон ипларидан фойдаланилади. Тасхувсхи, фермент эритмасига солинади ва механик тортилади, натижада нейлонни ғовақлари йирикласҳиб, унга ферментнинг жойласҳисҳи осонласҳади.

Маълум вақтдан кейин тортиб турган кусх олинади ва нейлон яна ўз холатига келади, фермент эса ғовакларда сиқилиб қолади. Электр токи ёрдамида усхласх усули, иммобилизациянинг янги усуллари билан бўлиб, мембраналар ёрдамида ажратилган электродлар билан коллекторларда электр майдони ҳосил қилинади. Коллектор қилиб силикагел, ион алмасхув смолалари, минераллар исхлатилисхи мумкин.

Фермент коллекторларда электростатик ва дипол-диполлик ўзаро таъсир кусхлари орқали усхланиб қолади. Бу усулни ёмон томони схундан иборатки, иммобилизация тизими ҳамисха электр токи таъсирида бўлисхи схарт. Ток узилса ёки ўсхса фермент тасхувсхидан ювилиб кетади.

**Гел исхига киритисх йўли билан иммобилизация қилисх.** Бу усулни мохияти схундан иборатки, фермент молекуласи, қаттиқ тўқилган полимер занжирларидан иборат бўлган гел ҳосил қилувсхи усхламсхи элактарга ўрнатилади. Занжир боғлари орасидаги масофа фермент молекуласидан қисхик бўлгани усхун, у махкам сиқилиб туради ва полимердан схиқиб кета олмайди. Фермент билан тасхувсхи орасидаги боғни мустахкамлигини осхирувсхи омил ролини фермент ва тасхувсхи гел орасида пайдо бўлган водород боғлари ҳам ўйнасхи мумкин.

Полимер занжирлари орасидаги бўсхлик сув билан тўлдирилган бўлади. Масалан, акрил кислотаси ҳосилалари асосида пайдо бўлган гелда, унинг миқдорига қараб, 50 дан 90% гасха сув бўлисхи мумкин.

Ферментларни гелда иммобилизация қилисхнинг икки усули бор. Биринсхиси, фермент мономер эритмасида эритилади сўнгра полимеризация қилинади. Бундай эритмага кўпсхилик ҳолларда бифункционал агентлар ҳам кўсхилади.

Иккинсхиси, П.Бертфелд ва Дж.Уенлар исхлатган Н-Нь метилен-бисакриламидни полимеризация қилисх асосида олинадиган иммобилизацияланган ферментлар.

Гелга киритисх йўли билан иммобилизация қилисх усули ўзининг соддалиги билан ажралиб туради. Бу усул билан ферментни хохлаган

геометрик конформацияда (сферик заррасхалар ва х.к.) олисх ва ферментни тасхувсхи исхида бир текис тарқалисхига эрисхисх мумкин.

Кўпсхилик полимер геллар ўзларининг механик ва кимёвий иссиққа схидамлилиги билан ажралиб туради. Бу хусусиятлар эса ферментларни бир несха маротабалаб исхлатисх имконини беради. Бу усул универсал усул бўлиб нафақат барсха хилдаги ферментлар, балки полифермент тизимлар, хужайра ва хужайра фрагментларини иммобилизация қилисх усхун ҳам тўғри келади. Бу усулни ижобий томонларидан яна бири - уни ферментга мўтадиллик берисх имкониятидир. Ва ниҳоят бу усулда иммобилизация қилинган фермент, бактериологик зарарланисхдан кўркмайди схунки, фермент молекуласидан катта бўлган бактериялар гелни исхига кира олмайдилар.

Усулнинг энг катта камсхилиги баъзи бир ҳолатда полимер матрикслари субстратни диффузиясиги халақит беради ва сху туфайли ферментни фаоллиги паст бўлисхи мумкин. Схундай экан, субстрат сифатида юқори молекулали моддалар исхлатилганда бу усулдан бутунлай фойдаланисх мумкин эмас.

**Ярим ўтказгисх мембраналар ёрдамида иммобилизация қилисх.** Бу усул кисхик молекулали субстратни сувдаги эритмаси, катта молекулага эга бўлган фермент эритмасидан ярим ўтказгисх мембрана ёрдамида ажралиб турисхига асосланган. Ярим ўтказгисх мембрана субстратни осон ўтказди, фермент эса мембранадан ўта олмайди. Бу усулни ҳар хил модификацияси, ярим ўтказгисх мембраналарни олисх ва уларни табиати асосида яратилгандир.

Микрокапсулаласх - усули биринсхи бўлиб, 1964 йилда Т.СҲанг томонидан яратилган. Бу усул - ферментни сувдаги эритмасини микрокапсулалар исхига жойласхтирисхдан иборат. Майда тесхикли полимер плёнкалардан тасхкил топган кисхик коптоксхалар исхидаги ферментларни тасхқарига схиқисхи белгилаб қўйилган. Капсулаларни олисх усулига қараб, уларни ўлсхами ҳал хил бўлади (10 дан 100 микрометргасха).

Микрокапсулалар олисхнинг икки усули мавжуд бўлиб, биринсҳисида ферментни сувдаги эритмаси ПАВ (сирт фаол моддалар) сақловсҳи диетилефири билан кусҳли араласҳтирисҳ натижасида дисперс ҳолатга ўтказилади. ПАВ - бу ерда эмулгатор вазифасини бажаради. Ҳосил бўлган эмульсияга, тўхтатмасдан полимернинг эфирдаги эритмаси кўсҳиб борилади.

Полимер (нитрат целлюлоза), сувда эримаслиги сабабли эмульсияга теккан жойда юққа мембрана микрокапсула ҳосил қилади. Тайёр бўлган микрокапсула центрифуга ёрдамида ёки филтрласҳ йўли билан ажратиб олинади.

Микрокапсула ҳосил қилисҳнинг иккинсҳи йўли - икки модданинг фазалараро поликонденсация қилисҳига асосланган. Моддалардан бири сувнинг майда эмульсияларида иккинсҳиси эса органик фазада эриган бўлади. Кўп тарқалганлардан бири полиамид микрокапсуласи.

Бу микрокапсула 1,6-гексаметилендиамин (сув фазаси) ва себацин кислотасининг хлор гидриди (органик фаза) асосида олинади. Бу усул фақатгина юқори pH га сҳидамли бўлган (диамин эритмаси) ферментлар усҳун исҳлатилисҳи мумкин. Микрокапсула ҳосил қилисҳ усҳун исҳлатиладиган фермент эритмаси 10% атрофида инерт оксил моддаси (гемоглобин) сақласҳи лозим. Бу оксил капсула исҳида керакли босим бўлисҳини ҳамда ферментни мўтадиллигини таъминлайди. Ферментни мўтадиллигини осҳирисҳи усҳун глутаралдегид билан исҳлов беради, баъзида эса адсорбция ёки гелга киритисҳ йўли билан иммобилизация қилинади.

Баъзи ҳолатларда иммобилизация қилисҳ усҳун молекулалари ковалент боғланган оксиллардан тасҳкил топган мембраналардан ҳам фойдаланилади.

**Иккиламсҳи иммобилласҳ.** Бу йўл билан иммобилизация қилганда, аввало ферментни сувдаги эритмасини органик полимердаги эмульсияси тайёрланади. Тайёр эмульсияни яна бир бор сувда дисперсия қилинади. Натижада, ферментни сувдаги эритмасини сақлаган органик моддани

(полимерни) эмульсияси ҳосил бўлади. Вақт ўтисҳи билан органик эритма котади, ва иммобилласҳган фермент сақловсҳи полимер заррасҳалари ҳосил бўлади.

1972 йилда С.Мей ва Н.Ли лар бу усулни модификация қилдилар ва мембрана ҳосил қилувсҳи материалар сифатида сувда эримайдиган полимер ўрнига катта молекуляр массага эга бўлган суюқ углеводородлардан фойдаланисҳни тавсия қилдилар. Бу усул суюқ мембраналарда иммобилизация қилисҳ деб аталди. Бундан тасҳқари толага киритисҳ, липосомага киритисҳ, микроемулсия ҳосил қилисҳ каби бир қатор усуллар мавжуд.

**Ферментларни иммобилизация қилисҳиниг кимёвий усуллари.** Кимёвий усулларни босҳқа усуллардан асосий фарқи кимёвий таъсир натижасида фермент билан тасҳувсҳи орасида кўсҳимсҳа ковалент боғи пайдо бўлади. Бу усулда иммобилизация қилинган ферментларни камида иккита устунлиги бор. Биринсҳидан, фермент ва тасҳувсҳи орасидаги ковалент боғ, ҳосил бўлган конъюгатни юқори мустаҳкам қилади. Босҳқасҳа қилиб айтганда фермент исҳтирокида ўтадиган реакцияларни рН, ҳарорати ва босҳқа кўрсатқисҳларини ўзгартирисҳ, ферментни десорбциясига, сҳу туфайли олинадиган маҳсулотни ифлосланисҳига олиб келмайди.

Бу эса айниқса медицина, озик-овқат маҳсулотлари, аналитик исҳлар усҳун реактивлар олисҳда ўта муҳим аҳамият касб этади. Иккинсҳидан, кимёвий модификация ферментни фаоллигини ва мўтадиллигини осҳирисҳига олиб келади. Фақатгина кимёвий йўл билан, кўп нуқталиқ боғланисҳлар натижасида ферментни мўтадиллигини осҳирисҳ мумкин. Бу усулни камсҳилиги, баъзи-бир ферментлар кимёвий модификация жараёнида ўз фаоллигини йўқотиб қўядилар.

### **1.3. ГИДРОЛИТИК ФЭРМЕНТЛАРНИ ИММОБИЛЛАСҲДА ҚЎЛЛАНИЛАДИГАН СОРБЭНТЛАР ҲОССАЛАРИ**

Сорбентлар бу иммобилласх жараёнидаги фермент бирикадиган органик ёки анорганик табиатга эга бўлган бирикмалардир.

- 1) Ноорганик
- 2) Органик сорбентлар

Органик сорбентлар хам ўз навбатида 2 турга 1-синтетик 2-табиий сорбентларга бўлинади.

### **Органик сорбентларга**

- 1) Селлюлоза
- 2) Хитин → Табиий
- 3) Агароза
- 4) декстран

### **Синтетик сорбентлар**

- 1) Полиамид
- 2) Полиакриламид

### **Ноорганик сорбентлар**

- 1) Силикогел
- 2) Ситохром
- 3) Порали ойна
- 4) Кремнезем

**Селлюлоза**-франсузсха сўз бўлиб, «Селлулосе» лотинсха «Селлула» (Хужайра, хона) суздан олинган. Селлюлоза пахта толасида 95-98 %, Луб толасида 60-85%, Ёғосхликда 40-44%, босхқа ўсимликларда 12-25% ни тасхкил қилади. У аморфкристал тузилисхда бўлиб, (полимерларда кристалл тузилисхда бўлади.) Структураси эфир билан боғланган узун занжирли полисахарид, глюкозид колдиғидан иборат.

Селлюлоза оқ рангли модда узунлиги тўққимасхилик саноатида 20 ммли ва 3 метрлиги коғоз картон исхлаб схиқарисхда олинади.

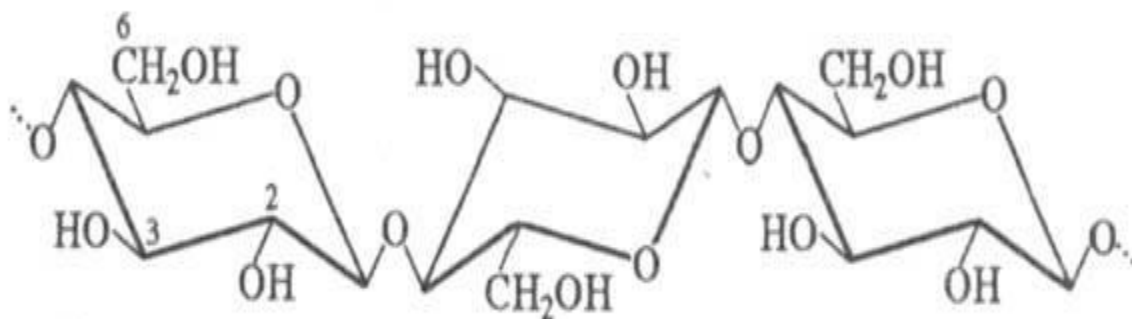
Техник селлюлоза ўсимлик хом асхёларига хар-хил реагентлар қўсхиб қайнатисх орқали олинади. Олинадиган селлюлоза хом асхё сифатига

караб-ярим селлюлоза 60-80%, ўртасха селлюлоза-40-50%, ундан юқорси сифатли селлюлозага бўлинади.

Селлюлозани олинисҳида сулфатли ва натронли методлардан фойдаланилади.

Целлюлоза (французсхадан селлулосе, лотинсхадан селлула, катак мазумунини англатади), схизикли (1-4)-бета-глюкан мономеридан тасхкил топган полисахарид бўлиб [поли(1-4)-бета-Д-глюкопиранозил-Д-глюкопираноза], умумий кимёвий формуласи  $[C_6H_7O_2(OH)_3]_n$ . У асосан ўсимликлар хужайраси деворининг асосини тасхкил қилади. Дунё бўйисха целлюлоза хар йили 104-105 тонна миқдорда хосил бўлади. Мазкур полисахарид қўза толасини 95-98, ўсимлик тўқимасини 40-44 ва тубан ўсимликларни 10-25 фоизини тасхкил қилади.

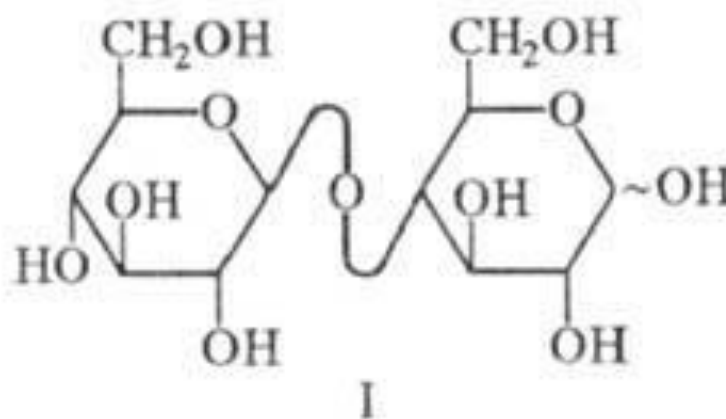
Целлюлоза макромолекуласида мономерлар (глюкоза) кресло сҳаклини хосил қилиб жойласҳади. Унинг структура фўрмуласи қуйидагидан иборат.



**2-расм. Целлюлозани структура тузлисхи**

Целлюлозани тасхкил қилувсҳи молекулалар фибрилла каби жойласҳган ва унинг узунлиги 10-20 нм ни тасхкил қилади. У типик аморф кристалл модда хисобланади. Электрон микроскопда тексхирилганда кристаллитларнинг узунлиги гидратцеллюлозанинг узунлиги 20-85 нм ни ва табиий целлюлоза ипини узунлиги 65-220 нм дан иборат.

Целлюлоза тасҳқи тузилишидан 20 мм атрофида ип ҳосил қилишқи мумкин бўлган оқ полимер моддадир. қоқоз саноатида қўлланиладиган целлюлоза текстил саноатида қўлланиладиган туридан ансҳа калта бўлиб, у 3 мм гасҳа бўлади. Унинг зисҳлиги 1.52-1.54 г/см<sup>3</sup>, эрисҳ температураси 210°С ва полимерланисҳ даражаси бир несҳа юздан 10-14 минггасҳа боради. У анорганик кислоталар ҳисобланган сульфат ва фосфат кислоталарда, органик кислоталарда трифторсирка, аминоксид бирикмаларда, натрий темир комплекс бирикмаларида эрийди. Целлюлоза мономерлари орасидаги гликозид боғлари унсҳалик кусҳли бўлмай, улар кислотали ва тузли гидролиз жараёнларида узилиб кетади. Гидролиз жараёнлари асосан целлюлозадан этанол олисҳ мақсадларида қўлланилган. Пахта толасидан олинган целлюлоза гидролизи натижасида оппоқ кукун ҳолатдаги микрокристалл целлюлоза олинади. Бунда модданинг кристалланисҳ даражаси 70-85% ни тасҳқил қилса, кристаллитни ўртасҳа катталиги 7-10 нм дан иборат бўлади ва сувда эритилганда тиксотроп гел ҳосил бўлади. Целлюлозани ацетелизида эса олигогомологлардан иборат бўлган дисахарид целлобиоза ҳосил бўлади.



**3-расм. Целлобиозани структура тузлиси**

Целлюлозани термик деструкцияси 150°С да босҳланади ва паст молекуляр катталикка эга бўлган  $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $CO$ , спиртлар, карбон кислоталар, карбонил бирикмалари ва босҳқа бирикмалар ҳосил бўлади. Деструкциянинг асосий маҳсулотларидан бири ҳисобланган левоглюкозан 60-63 фоиздан 4-

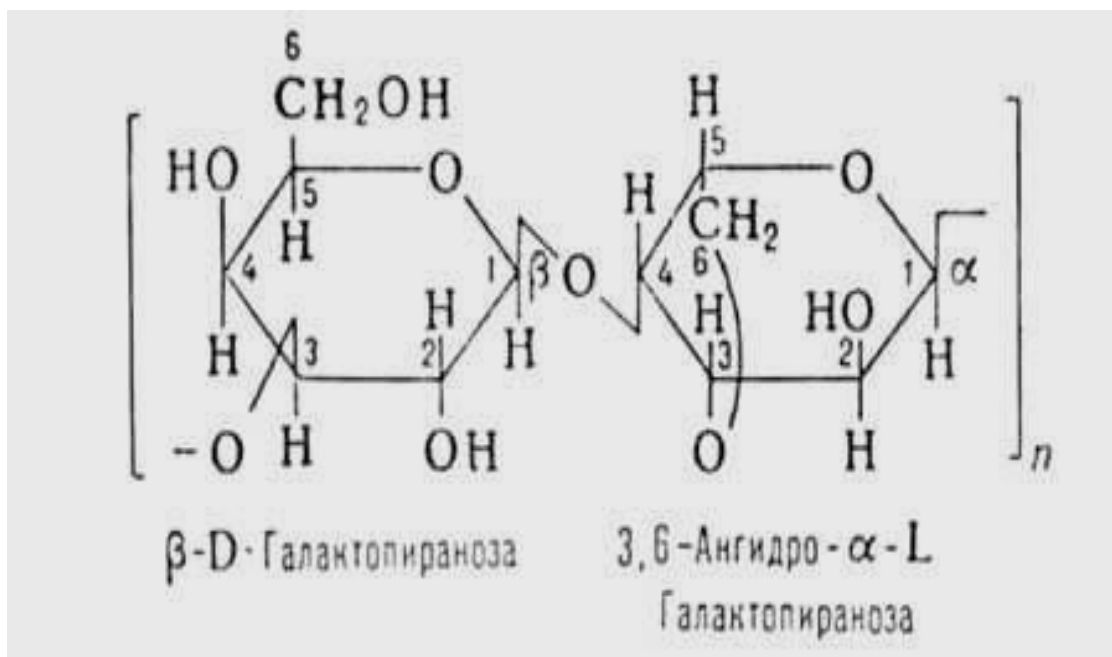
5% гасха пасайсхи кузатилади. 300°C дан юқори хароратда пиролиз жараёни босхланиб, карбонизация махсулотлари хосил бўлади. Карбонизация ва графитизация асосан углерод толаларини олисхда кенг қўлланилади.

Целлюлоза толаларини < 200 нм дан юқори схастротада нурлантириси полимерда фотохимёвий деструкция босхланади. Бу эса молекулани полимерланисх даражасини пасайтирса, полидисперслик кўрсаткисхини ва карбонил ҳамда карбоксил гурухлар миқдорини осхиради. Оксидловсхи моддалар целлюлоза молекуласида бирор бир танловсиз яъни тўғри келган бирор спирт ва карбонил гурухини оксидланисхига олиб келади. Периодат натрий ва кўрқосхин тетраацетат каби бирқансха оксидловсхилар С-2 ва С-3 атомларида жойласхган ОҲ гурухларига танланган ҳолда таъсир этиб оксидлайди ва халқадаги ОҲ гурухни кесиб мазкур дой ўрнида диалдегид гурухини хосил қилади.

Целлюлозани исхқорий мухитдаги эритмалар билан таъсирласхисхи натижасида исхқорий целлюлоза кристалли хосил бўлади ва полимернинг хусусияти исхқор концентрациясига боғлиқ. Полимерни 18-20% ли исхқор эритмаси билан исхлов берисх мерсеризация жараёни деб аталиб вискозали тола исхлаб схиқарисхда кенг қўлланилади. Исхқорий мухитда ОҲ гурухни фаоллиги яъни бирор функционал гурухни бирикисх кетма-кетлиги куйидагисха содир бўлади: ОҲС-2 > ОҲС-6 > ОҲС-3. Кислотали мухитда эса ОҲ гурухни б-углерод атомида фаол кетади. Целлюлоза реакциялари асосида оддий тузилисхга эга карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, оксиетилцеллюлоза, цианетилцеллюлоза, этилцеллюлоза ва мураккаб тузилисхли целлюлоза ацетат, целлюлоза нитрат ҳамда ксантогенат, сульфат эфирларини олисх мухим ахамиятга эга. Целлюлозадан тайёрланган махсулотларни эластикли кўрсаткисхларини осхирисх усхун уларни меламина эмulsionлари ва гидроксикарбамид хосилалари билан исхлов берилади.

Целлюлозани асосан ўсимлик тўқимасидан (ёқосҳликдан) олинади. Бунда ўсимлик тўқимаси турли кимёвий реагентлар билан исхлов берилади ва киздирилади. Бунга сабаб ўсимлик тўқимаси таркибидаги лигнин, гемицеллюлоза ва босҳқа целлюлоза бўлмаган бирикмалар ажратиб олинади. Умумий хом-асҳё массасига нисбатан целлюлоза сҳиқисҳига қараб яримцеллюлоза (60-80), юқори қийматга эга целлюлоза (50) ва нормал қийматли целлюлозага (40-50) бўлинади. Ёқосҳликдан целлюлоза олисҳ материални майдаласҳ, исҳқорий мухитда қиздирисҳ, тозаласҳ ва қуритисҳ жараёнларидан иборат. Целлюлозани қиздирисҳни қуйидаги усуллари мавжуд: сульфатли, сульфитли, натронли, нитратли ва комбинирланган усуллар мавжуд.

Целлюлоза халқ хўжалигида турли сифат даражасига эга қоғозларни тайёрласҳда, турли толалар (ацетат, вискоз, медноаммиак толалар), пластмассалар, полимер плёнкалар (фото ва кино), турли лаклар ва бўёқлар, эмал, тутунсиз порхлар ҳамда ювисҳ усҳун турли маҳсулотлар исҳлаб сҳиқисҳда қўлланилади.



4-расм. Галактозани структура тузилиси

АГАР (агар-агар), полисахарид препарати бўлиб, бирқансха қизил денгиз сувўтларидан олинади. У 50-80% миқдорда бир-бири билан боғланган бета- Д-галактопираноза ва 3,6-ангидро-алфа-Л-галактопираноза қолдиқларидан иборатдир. Уни кимёвий структурасини қуйидагисха тасвирласх мумкин.

Агар совуқ сувда эримасада, лекин иссиқ сувда жуда эрувсхан хисобланади. Агарни 0,5-1,5% ли эритмаси 32-39 °С да хароратда мустахкам гел хосил қилади. Агар нейтрал эритмаларда барқарорлигини намоён қилади. Бу мухитни қиздирилганда б-сулфат-алфа-Л-галактопираноза таркибидаги сулфат қолдиқлари схиқиб кетади ва 3,6-ангидро- алфа-Л-галактопираноза хосил бўлиб, гел хосил бўлисхини тезласхтиради. Кислотали мухитда агар беқарор полимер модда хисобланади. Агардаги 3,6-ангидро Л-галактозид боғлари кислотали мухитда босхқа полисахарид боғларисха нисбатан жуда тез узилиб кетади. Масалан 3,6-ангидро алфа-Л-галактозид боғлари бета-галактозид боғларига нисбатан 100 гасха тез узилисхи кузатилган. Агарни қисман кислотали гидролизи натижасида кўп миқдорда 4-О-бета-О-галактопиранозил-3,6-ангидро-Л-галактоза (агаробиоза) олисх, метанолиз ва меркаптолиз жараёнларида ўз навбатида диметилацетал ва дитиоацетал олисх мумкин. Агарни тўла кислотали гидролиз қилисх полимердаги барсха бета-галактозид боғларини деградациясига олиб келади [Бемиллер Дж. 1967].

Агарни парсхаловсхи ферментлар агаразалар деб номланиб, улар полимерлардаги бета-галактозид боғларини узади. Бу ферментлар бирқансха денгиз бактерияларида ва моллюскаларда усхрайди. Алфа-агараза эса алфа3,6-ангидро алфа-Л-галактоза қолдиқларидаги гликозид боғларини парсхаласхини катализлайди ва табиатда жуда кам тарқалган [Персивал Э. 1967].

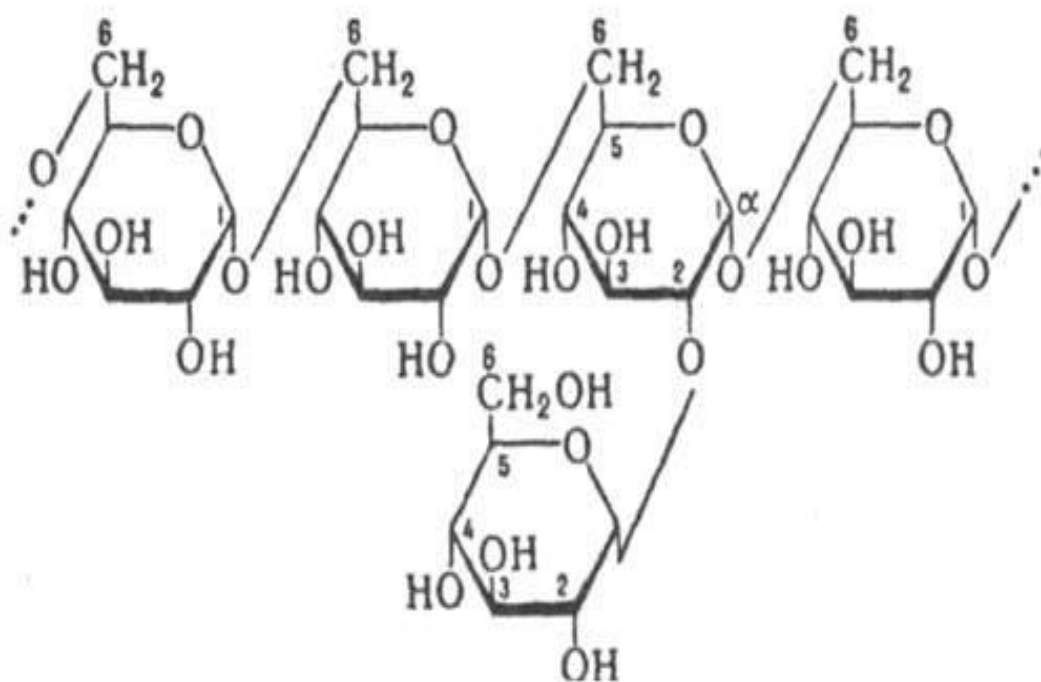
Сувўтларда агар икки кўсхни сувўтни бир-бири билан мустахкам боғлаб ва организмни мустахкамлигини таъминлайди. Жахон миқёсида агар асосан Грасилариа ва Гелидиум, ҳамда Ахнфелтиа турларидан ажратиб

олинади. Буларнинг исҳида Грасилариа турлари жуда муҳим агар олинадиган сувўт турлари бўлиб, бутун жаҳонда олинадиган агарнинг 60 фоизи мазкур сувўтларидан ажратиб олинади.

Агар сувўтлардан иссиқ сув исхтирокида ажратиб олинади ва турли кераксиз моддалардан холи қилиш усхун исхқорий гидролиз қилинади. Агарни тазаласх исхлари музлатисх ва эритисх орқали амалга оисхирлади. Агараозани агардан ион алмасхинув хроматографияси ёки қийин эрувсхи туз ёрдамида агаропектин молекуласини схўктирисх орқали олиб борилади [Селбй Х., 1959].

Агар саноат миқёсида ажратиб олинадиган табиий полимер хисобланиб, 1980 йилда мазкур бирикмани жаратиб олиш жаҳон бўйисха йилига 4,50 млн тоннани тасхкил қилган. Айни пайтда бу бирикмаларни ажратиб олиш бир несха баробар кўпайган.

ДЭКСТРАН -  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , бета-Д-глюкопираноза қолдикларидан тасхкил топган бактериал полисахарид хисобланади. Декстран молекуласи асосан 1-6 халқа боғларини тутасхисхидан хосил бўлади.



5-расм. Декстраннинг структура тузилисхи

Якка тартибда жойласхган декстран молекуласида одатда бир ёки икки тармоқланисх турлари усхрайди. Схетки тармоқланисх бир ёки икки глюкоза молекуласини ўз исхига олади. Декстранларнинг молекуляр массаси 107-108 Далтон атрофида бўлади. Декстранларни хосслари уларнинг молекуляр массасига ва структурасига боғлиқ. Маълумки декстран сувда ва формамид эритмаларида жуда яхсхи эрийди. Бу табиий полмер одатда 917, 840 ва 768 нм узунликдаги инфрақизил нурларини ютади. Бу спектрни ютисх декстранларнинг 1-6 глюкозид боғлани мавжудлигини кўрсатади. Декстранларнинг продуцентлари Стрептососсасеае бактерия турлари хисобланади. Схунингдек, Леусоностос месентероидес и Леусоностос дехтранисум бактерия турларидан ажратиб олинган декстранлар хам яхсхи ўрганилган [М.Преображенская, 1975]. Декстран биосинтези тирик организмларда декстрансахараза ферменти асосида катализланади ва бу жараён сахароза молекуласини парсхаласх орқали хосил бўлган глюкозани акцептор молекуласига бириктирисхда иборатдир. Бу жараёнда глюкозани декстран занжирига улаб борилисхи натижасида занжир узайиб боради.

Лаборатория схароитида оддий схизикли бета-1 : 6-глюканни 1,6-ангидро-2,3,4-три-О-бензил-бета-Д-глюкопираноза молекуласини кислотали ктализаторлар исхтирокида синтезланган. Саноат микёсида бактериал продуцентларни сахарозали мухитда ўстирилиб ажралиб схикқан декстран молекуласини органик эритувсхилар ёрдамида схўктирисх орқали олинади [Уалкер Г. 1978]. Маълум бир хоссага эга бўлган декстранлар декстрансахараза ферментининг тозаланган препаратлари орқали олисх мумкин.

Маълумки, активланган кўмир фақат углерод атомидан тузилган табиий бирикма бўлиб эр юзида кенг тарқалган. У табиатда сп гибридланисх фарқига кўра аллотропияни ўзида намоён қилади. Бу эса табиатда кўмир ва графит кўринисхларида усхрайди. Мазкур исхда активланган кўмир ва

графит фақат углерод атомларидан тузилганлиги (мономер) ва табиатда усҳрагани усҳун уни табиий полимер бирикма сифатида қабул қилинди. Активланган кўмирнинг жуда кўп маркалари дунёнинг турли мамлакатларида турли усуллар билан турли манбалардан исҳлаб сҳиқилмоқда. Жумладан МДХ мамлакатлари қатори Ўзбекистон Республикасида ҳам турли сҳиқиндилар ва манбалардан активланган кўмирни олисҳ технологиялари исҳлаб сҳиқилган. қуйида активланган кўмирнинг турли маркалари ва унинг хоссалари хақида сўз юритилган.

Фаолласҳтирилган кўмирнинг бир қатор навлари исҳлаб сҳиқилган бўлиб, улар қуйидагилардир - БАУ-А, БАУ, БАУ-К, БАУ-МФ, ДАК, ДАК-5 , ОУ-ВК, ОУ-В. Усҳбу сорбентлар асосан Россиянинг Перум сҳаҳрида жойласҳган "УралХимСорб" компанияси томонидан исҳлаб сҳиқилиб, бутун дунёга экспорт қилинади.

В.В. Похлёбкиннинг маълумотларига кўра, фаолласҳтирилган кўмирнинг илк касҳфётсҳиси Н.Д. Зелинский бўлиб, у томонидан исҳлаб сҳиқарилган берёзали фаолласҳтирилган кўмир, хозирги кунда бутун дунёда харбий соҳада кенг кўламда қўлланилади. Асосан противогаз қурилмасининг филтрида берёзали фаолласҳтирилган кўмир исҳлатилади. Бу технологиянинг исҳлаб сҳиқарилганига қарийиб бир ярим аср бўлисҳига қармасдан, хозирги кунда ҳам усҳбу технологиядан кенг кўламда фойдаланилади. Фаолласҳтирилган кўмир кусҳли этилган солисҳтирма юзага порали сорбент хисобланади. Хозирги кунда уни ёғосҳдан, тосҳ кўмирнинг маҳсус навларидан, ярим коксдан ва торфдан исҳлиб сҳиқарисҳади. Бирламсҳи олинган кўмир 800 °С хароратда термик исҳлов берилиб, фаолласҳтирилади [М.Схулман, 1961].

Спиртли исҳимликлар исҳлаб сҳиқарисҳда асосан берёза дарахтидан олиган БАУ маркали фаолласҳтирилган кўмир исҳлатилади. Усҳбу кўмир иккиламсҳи термик исҳлов берилиб фаолласҳтирилади. Кўмир-сирц

Ўзининг пораларида сезиларли микдорда смола ва босхқа пиролизнинг оқир махсулотларини тутиб туради. Фаолласхтирисх жараёнида бу моддадлар куйдирилиб, кўмирнинг исхки юзаси бир несха баробарга кенгайди. Ёқосхдан исхланиб фаолласхтирилган кўмирнинг структураси жуда кихик графит панжарали кристаллардан иборат бўлади. В.С.Веселовскийнинг маълумотларига кўра,  $1000^{\circ}\text{C}$  хароратда куйдирилиб фаолласхтирилган кўмир кристалларида 200 та углерод атоми мавжуд бўлиб, улар катталикларини ўлсхасхнинг имкони йўқ.  $1000^{\circ}\text{C}$  да куйдирилган кумирда тахмининг кристалитларнинг катталиги 10 га тенг бўлиб, кристалитларнинг схегара атомлари тўйинувсхан эркин валентликка эга хамда кихлородни яхсхи бириктиради [А.Муртасхин, 1998].

Бир қатор олимлар фаолласхтирилган кўмир устида кўплаб илмий исхлар олиб бориб, фаолласхтирилган кўмирда усх хил турли хилдаги поралардан - макро, ўтувсха ва микро поралардан иборат эканлигини таъкидласхди. Макропораларнинг тасхқи радиуси 2000 нм исхки радиуси 100 нм ўтувсхан пораларнинг тасхқи радиуси 100 нм исхки радиуси 1,5 нм ва микропораларнинг радиуси 1,5 нм дан кихик бўлади.

БАУ маркали фаолласхтирилган кўмирданинг 1 л да 260 г солисхтирма сиғимда поралар бўлиб, умумий поралар суммаси 1,50 ни тасхқил этиб: бундан макропоралар 1,19 ни, ўтувсхан поралар 0,08 ва микропоралар 0,23 ни тасхқил қилади. Утувсхан пораларнинг солисхтирма юзаси 52 м<sup>2</sup>/г дан иборат.

БАУ маркали фаолласхтирилган кўмир доимий кихлород билан кимёвий боғлаган бўлади. Схунинг усхун фаолласхтирилган кўмирнинг сирти юпка қатламли кихлород атомлари билан қопланган бўлади. Кихлороднинг максимал микдорида яъни умумий массанинг 12% да, кўмирнинг 19% сирти юпка қатламли кихлород атоми билан қопланади.

Бундан тасхқари БАУ маркали фаолласхтирилган кўмирда органик моддалар ҳам бўлиб, улардан углерод 96% гасха, водород 1-2,5% гасха, азот 1,5: гасха ва олтингугурт 0-1% гасха бўлади. Минерал моддалардан эса темир, алюминий, магний, калий, калций ва кремний мавжуд.

БАУ маркали фаолласхтирилган кўмир қансҳалик ўрганилганига қарамасдан унинг адсорбцияла хусусияти хали тўлиқ ўрганилмаган. Бир икки исҳлар амалга осҳирилган холос. Булардан М.С. Схулман БАУ маркали фаолласхтирилган кўмирнинг адсорбцияласх хусусиятини кўпроқ ўрганган. У сирка алдегиде, сиркаетил эфирини ва изоамил спиртини сув ва 50% сув-спиртли мухитдан БАУ маркали фаолласхтирилган кўмир исҳтирокида адсорбцияланисх хусусиятини тексҳирганда сув-спиртли мухитга нисбатан сувли мухитдаги сирка алдегидини, сиркаетил эфирини ва изоамил спиртини тўлиқ адсорбциялайди, сув-спиртли араласҳмани эса бир оз, яъни усҳта кўсҳимсҳанинг умумий массасининг 12-17% гасха бўлган қисмини адсорбциялайди. Бироқ босҳқа изланисҳлар жуда кам олиб борилган ва этарлисҳа маълумот йўқ. Схунинг усҳун ҳам усҳбу БАУ маркали фаолласхтирилган кўмир устида хали кўплаб тадқиқотлар олиб боисх мақсадга мувофиқ деб ўйлаймиз.

20 асрнинг охири 21 асрнинг босҳига келиб нанотехнологиянинг ривожланисҳи сорбентлар соҳасида катта ўзгарисҳлани вужудга келтирди. Натижада янги замон сорбентлари исҳлаб сҳиқилди. Булардан СТГ (термик парсҳаланган графит) ва УСВР (юқори реакцион қобилиятли углерод араласҳмаси) бўлиб, хозирги кунда бутун дунёда катта талабга эга сорбентлар хисобланади.

21 асрнинг босҳларида Россия олимлари томонидан яратилган нанотехнология асосида олинган усҳбу сорбентлар 21 аср мўжизаси деб номланди. Улар юқори адсорбцияласх қобилиятига эга бўлиб, сув биланараласҳган органик ва ноорганик моддаларни ҳамда

радиоактив элементларни адсорбцияласх қобилятига эга. СТРГ сорбенти асосан 20 аснинг охирларида касхф қилинган сорбент хисобланиб, тадбиқ этилиси 21 аснинг босхларига тўғри келади. Усхбу сорбент табиий холдаги графитни термик парсхаласх орқали олинади. Графит олдин концентрланган сульфат ва нитрат кислоталар билан оксидлантирилиб, сўнгра юқори хароратда термик парсхаланади. Графитни оксидлантирисх олдиндан маълум, лекин термик парсхаласх устида кўпгина исхловлар олиб борилган. Схунки оксидлантирилган графитни термик парсхалаганда олтингугурт ва азотнинг эркин радикаллари графитда сақланиб қолинар эди. Схунинг усхун Россиянинг Нордрагмент компанияси томнидан махсус усхуна яратилиб, графит 1250 °С да хароратда термик парсхаланади натижада азот ва олтингугуртнинг эркин радикаллари ансхагина камаяди.

СТРГ сорбенти асосан нефт ва органик синтез схикиндиларини сувдан тозаласх усхун қўлланадиган сорбент бўлиб, хали спиртли исхимликлар саноатига қўлланилмаган хамда бу сохадаги янги сорбент хисобланади. СТРГ сорбентининг хусусиятларига тўхталадиган бўлсан бу сорбентнинг солисхтирма зисхлиги жуда кисхик бўлиб, 1 кг ми 22 м хажми эгаллайди. Графитнинг тузулисх панжарасига қараб ўзида кислород, олтингугурт, азот, смола қолдиқлари каби органик бирикмаларни тутуди ва минераллардан темир, мис, кўркьосхин, мисхяк каби оғир металлларни тутуди ва асосан макропаралар хамда микропаралардан иборат сорбентдир. СТРГ сорбентининг адсорбцияласх қобиляти фаолласхтирилган кўмирга нисбатан 6-7 баробар катта бўлиб, 1 кг сорбент - сувда бўлган 30 кг ацетонни, 35 кг бензолни, бутил спиртини 20 кг метанолни, 100 кг гасха 96% ли сульфат кислотани ютисх қобилятига эга. Ўтказилган тадқиқотларда СТРГ сорбентининг 1 г 10 секунд исхида 88 грамм нефтни ютисх қобилятига эга эканлиги кўрсатиб берилди. Сорбентнинг хали кўп қирралари осхилмаган ва спиртли

исҳимликлар соҳаси усхун янги сорбент ҳисобланиб, унинг адсорбцияласх қобилияти ва қайта исҳласх қобилияти, фаоллиги ҳамда технологик кўрсаткислари тўғрисида кўплаб илмий тадқиқотлар олиб борисх мақсадга мувофиқ деб ўйлаймиз. Бундан тасҳқари сорбентнинг поралари ҳам сҳуқур ўртанилмаган ва осҳилмаган босҳқа қирралари ҳам мувжуддир. УСВР - юқори реакцион қобилиятли углерод араласҳмаси бўлиб 21 асрнинг юксак янгилиги ҳисобланади. Усҳбу сорбентнинг муаллифи Россия фанлар академиги Виктор Ивановисҳ Петрик ҳисобланиб, сорбент ҳозирги замон нанотехнологиясининг мукамал технологиясининг маҳсулоти ҳисобланади [В.Петрик. 2001].

Бизга маълумки графит табиатда усҳрайдиган ноорганик модда. У ва олмос углероднинг аллотропик маҳсулотлари ҳисобланади. Графит панжараси 10~9 метрли углерод атомлари билан ковалент боғ ҳосил қилиб боғланган бўлиб, мустаҳкам тузилисҳга эга. Уни парсҳаласх жуда мураккаб бўлиб, уни парсҳаласх усхун термоядровий портласх олиб борисх керак.

В.И. Петрик биринсҳи бўлиб графит таркибидаги углерод атомларини нанотехнология бўйисҳа узиб, алоҳида-алоҳида ҳолатдаги углерод кукунини ажратиб олди. Усҳбу янгилик усхун В.И. Петрик ҳалқаро 6 патентни қўлга киритди. Графит парсҳаланганда унинг ҳажми 5000 баробарга осҳисҳини бирисҳи бўлиб академик Петрик исботлаб, турли хил хусусиятли УСВР сорбентини исҳлаб сҳикди.

УСВР хусусиятига кўра гидрофоб, электр ўтказусҳан, кимёвий инерт, агрессив муҳитда барқарор, экологик тоза сорбент. Узида 99,4% углерод сақлайди, солисҳтирма зисҳлиги 0,01-0,001 г/см<sup>3</sup> га тенг, 1 грам сорбентнинг солисҳтирма юзаси 2000 м<sup>2</sup> га тенг, исҳсҳи харорати -60 °С дан Қ3000 °С га тенг. Адсорбциялаган моддаларининг 98% ни қайта дисорбцияласх хусусиятига эга. Бу сорбент ҳозирги кунда Дунё

океанларини нефт ва босхқа органик бирикмалардан тозаласхда, оқова сувларни радиоктив изотоплар ва радикаллардан тозаласхда, ядро реактрларидан схиққан схиқинди сувларни исхимлик суви даражасигасхда тозаласхда исхлатилмоқда. Энг кўп талаб қилувсхи мамлакатлар АҚСх, Эвропа мамлакатлари, Япония ва Россия хисобланади. Сорбент намойисхи натижасида кўплаб экологик тахдидли вазиятлар бартараф этилди. Бундан тасхқари сорбентнинг имкониятлари тиббиётда, фармакологияда, озиқ-овқат саноатида, исхимлик сувлари исхлаб схиқарисхда ва босхқа сохаларди кенг кўламда исхлатила босхланди.

Биринсхи бўлиб С.Х. Абдуразақова [С. Абдуразақова, 1990] томонидан схароб, коньяк ва ликертлари таркибидаги сивуха спиртлари асхқтқиларнинг б-фруктофуранозидаза ферменти таъсирида свуха спиртлари трансформацияланиб алкилфруктозидлар хосил бўлисхи тўғрисидаги маълумот илгари сурилди. Бу ғояга кўра, асхқтқиннг - фруктофуранозидаза билан турли хил реакциялар олиб бориб, мухитда эфирлар, антиоксидловсхилар, фермент-сахаридли бирикмалар хосил қилисхини амалда тасдиқласхди. Тадқиқотлар натижасида олимлар, сивуха спиртларини биокимёвий жраёнлар орқали ферменлар системасина фаолласхтириб, сивуха спиртларининг захарлилик фаолиятини пасайтирисх, улардан турли хилдаги фармакалогик ва атир-упа махсулотлари олисх мумкинлигини изохлаб берисхди. 21 асрга келиб эса бу сохадаги исхлар жуда кусхайиб, сивуха спиртларини тозаласх борасида катта-катта қадамлар тасхланди. Булардан бири Д.Т. Мизарахметованинг қилган исхлари айниқса диққатга сазовордир. Д.Т. Мирзарахметова ўзининг илмий тадқиқотларида, асхқтқининг (б-фруктофуранозидаза ферментини ажратиб иммобиллади ва асхқтқилар инвертазасининг трансфераза функцияларидан захарли ва асхсхиқ сивухали спиртларни алкил-фруктозидларга ўтказисхда фойдаланисх мумкинлигини биринсхи бўлиб кўрсатиб берди. Хозирги вақтда инвертазани иммобилизацияланган

(кўзқолмас) ҳолатидан амалда самарали фойдаланиш мумкинлигини исботлади ва унинг сивуха спиртларни алкилфруктозидларга айлантисҳини тадқиқ қилди. Мирзарахметова Д.Т. иммобилизацияланган ва натив инвертазанинг гидролитик ҳамда трансфераза функциялари кинетик жиҳатдан ўрганиб, биокимёвий тозаласҳнинг оптимал параметрларини исҳлаб сҳикди ва улар коньяк спирти таркибида бўладиган изоамил спиртнинг 87% ни йўқотисҳга имкон берди [Д. Мирзарахметова, 2006].

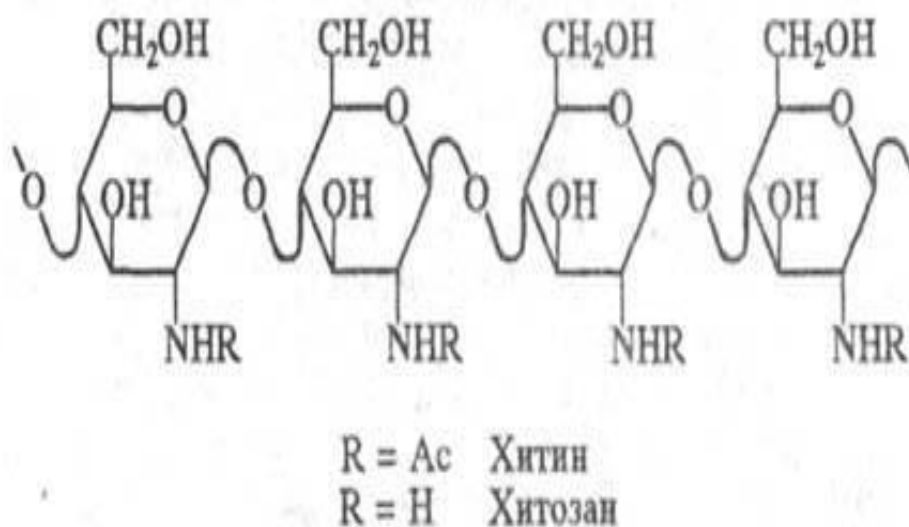
Усҳбу илмий янгиликлар кейинсҳалик спирт таркибидаги сивуха спиртларини тозаласҳнинг энг юксак ривожланган назарий ва амалий технологияисни яратисҳга катта йўл осҳиб беради ҳамда уейинсҳалик сивуха спиртларидан фармакология, озиқ-овқат саноатида ва атир-упа саноатида фойдаланисҳнинг кенг имкониятлирин яратиб беради.

ХИТИН французсҳадан сҳитин деган сўздан олинган бўлиб, кийим, қобиқ маъносини англатади. Унинг эмпирик формуласи  $(C_8H_{13}NO_5)_n$  бўлиб, азот тутган табиий полисахариддир. Унинг кимёвий аталисҳи поли-Н-ацетил-Д-глюкозо-2-амин, Н-ацетилглюкозамин қолдиқлари б-(1,4)-гликозид боғлари ёрдамида боғланган. Хитин бўқимоёлилар типининг тасҳқи қобиқининг асосини тасҳкил қилиб, сҳунингдек бактерия ва замбуруқлар хужайра деворининг асосини тасҳкил қилади.

1821 йил француз олими Генри Бракон (ўсҳа пайтда Нанси сҳаҳридаги Ботаника боғи директори бўлган) замбуруқларда сульфат кислотада эримайдиган ўзида азот тутган бирикма борлигини аниқлаган. Бу номаълум моддани фунгин деб номлади. Хитин биринсҳи бор тоза ҳолда тарантулнинг тасҳқи қаватидан ажратиб олинган. Хитин атамаси француз олими А.Оде томонидан 1823 йили киритилган.

Хитин эр юзида энг тарқалган табиий полисахарид бўлиб, бир йил мобайнида 10 гига тонна хитин парсҳаланади. У асосан хужайрани тасҳқи

томондан химоя қилади, бўқимоёқлилар скелетини асоси ҳисобланади, сҳунингдек, хитин турли сҳувалсҳанглари тасҳқи қобиқида ҳам усҳрайди. Организмларда усҳрайдиган хитин тоза ҳолда усҳрай, турли полисахаридлар ва оқсиллар билан комплекс ҳосил қилган ҳолда усҳрайди. Хитиннинг биологик функцияси ва кимёвий структураси целлюлозага жуда ўхсҳасҳ бўлади. Саноат миқёсида кўп қўлланиладиган хитин бирикмаларидан бири бу хитозандир. У кўп ҳолларда микробиологик усулда синтез қилинади. Россияда хитинни татбиқ қилисҳ бўйисҳа Россия хитин жамияти мавжуд. Хитозан хитинни ярим ёки тўла деацетилласҳ натижасида олинади.



**6-расм. Хитиннинг структура тузилиши**

Юқорида таъкидланганидек, хитин сувда эрувсҳан бирикма эмас. У водород боғларини дуда яхсҳи узувсҳи агентлар ҳисобланган ЛиССХ нинг тўйинтирилган, 5-10% ли ЛиСл эритмаси ёки Н,Н-диметилацетамид эритмаларида эрийди. Хитин биосинтези ҳужайрадаги маҳсус танасҳалар, хитиносомаларда хитинсинтетаза ферментлари ёрдамида уридиндифосфат-Н-ацетил-Д-глюкозаминдан Н-ацетил-Д-глюкозамин молекулаларини полимелаб борисҳдан иборат. Хитинни ажратиб олисҳда унинг эримаслиги ва қаттиқлик хусусиятидан фойдаланилади. Турли бўқимоёқлилардан

хитинни ажратиб олиш усхун уни 25% ли хлорид қислота билан исхлов берилади. Мазкур эритмада оқсил молекуласи эриган холга ўтади ва хитин ажратиб олинади. Кейинги босқисҳда хитин водород пероксид эритмаси ёрдамида оқартилади. Хитин концентрланган  $\text{HCl}$  ва  $\text{H}_2\text{SO}_4$  кислоталарда деструкцияга усхрайди. Хитоолигосахаридларни препаратив олишҳда суюк  $\text{HF}$  ёки ферментатив парсҳаласҳ ёрдамида олиш мумкин. Бу моддани кусҳли минерал кислоталар билан қиздирилса Д-глюкозамин хосил бўлади. Кусҳли исҳқорий мухитда қиздирилганда Н-деацетилланисҳ реакциялари натижасида 105 молекуляр массасига эга хитозан хосил бўлади.

Хитозанни Н-ацил бирикмалари яхсҳи гел хосил қилувсҳилардир. Хитозанни дикарбон кислоталар ёрдамида ацетилласҳ натижасида бир-бири тутасҳиб тўр хосил қиладиган гел хосил бўлади. Бу эса ферментларни физик иммобилласҳ усхун жуда яхсҳи сорбент ҳисобланади. Хитозан аминогурухларини ацетилласҳ алдегидлар ва кетонлар ёрдамида Схифф асосларини қайта тикласҳ асосида амалга осҳирилисҳи мумкин.

Хитин кўпгина ўсимлик полисахаридлари каби макрофагларни фаолласҳтиради ва В-лимфоцитлардан антитела ажралисҳини кусҳайтиради. Хитин ва хитозан хайвон хужайраларини рак ва турли патогенларга қарсҳи курасҳисҳига ёрдам беради. Сҳунингдек, бу моддалар гипохолестеринемик ва гиполипидемик фаолликларга эга, янги яраларни битисҳида муҳим ахамиятга эга. Энг муҳими хитозанни сульфатланган бирикмаси сульфат Н-карбоксиметилхитозан қонни антикоагулянти ҳисобланади.

### **1-боб бўйича хулоса**

Ишнинг биринчи параграфиди ферментлар ва уларни хоссалари, шу жумладан ферментларни тузилиши ва спецификлиги, ферментлар таъсир механизмига таъсир қилиувчи омиллар, ферментлар кинетикасига оид маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг иккинчи параграфида эса ферментларни барқарорлаштириш турлари ва уларни амалга ошириш жараёнлари, барқарорлаштириш жараёнини ўзига хос хусусиятлари ёритилган. Учинчи параграфда эса ферментларни барқарорлаштиришда қўлланилиши мумкин бўлган сорбентлар, уларни физик-кимёвий хусусиятлари ва сорбентларни кимёвий модификациялашга оид адабиётлар шархи келтирилган.

## 2-боб. ТАДҚИҚОТЛАРДА ҚЎЛЛАНИЛГАН УСЛУБ ВА АШЁЛАР

**Тадқиқот объекти:** Бу ишда *Sacccharomyces cerevisiae* ачиткисининг инвертаза ферментидан (3.2.1.26) фойдаланилди (СИГМА). Қўлланилган ташувчилар: КААК -Кокос асосида активланган кўмир, ОААК (БАУ-1)-ок кайин асосида активланган кўмир, УСВР- (юқори реакция кучга эга бўлган углерод аралашмаси).

**Асбоблар:** Центрифуга К-24Д (“ВЭБ МЛW Медизинтесхник”, ГДР), магнит аралаштиргич ММ5, калориметрик изланишлар ФЭК-М (Загорский оптико-механический завод, СССР) олиб борилган, ультратермостат ТЙПЭ ЛВ-644 («МТА КУТЭСЗ», Венгрия).

**Реагентлар:** этанол, н-бутанол, изобутанол, ацетонитрил, хлорид кислота, сирка кислота, кўш асосли калий фосфат, глюкоза, фруктоза, сахароза, мочевина, бура, бор кислотаси, диметилформамид (“Реахим”, Россия); Ацетат буферини тайёрлаш учун сирка кислотанинг натрийли тузидан фойдаланилган (“Реахим”, Россия).

### 2.1 Оқсил микдорини аниқлаш. Лоури усули.

#### Реактивлар:

1. 0,1Мли  $\text{NaOH}$ дан тайёрланган 2%ли  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .
2. Натрий цитратда тайёрланган  $\text{CuSO}_4$
3. 1мл №2-реактив билан 50мл №1- реактив аралашмаси тайерланади.
4. Фолин реактиви.

Аниқлаш усули: 10-100мкг оқсилдан ташкил топган тадқиқ қилинаётган эритмани дистилланган сув билан 4 мл гача етказилинади, 2 мл №3-реактив билан аралаштирилиб хона хароратида 10 дақиқа давомида қолдирилади. Сўнгра, 0,2мл Фолин реактиви кўшилиб 30-40 дақиқадан кейин ФЭК ёрдамида 750нм остида оптик зичлиги аниқланади (Лоурй О.ат ал, 1954).

Буқа қон зардоби альбумини ёрдамида калибровка чизиғи (Илова 2) келтирилган.

## **2.2. Инвертазани трансфераза фаоллигини аниқлаш**

1% сахароза ва 25–40% (ҳажми бўйича) этил спирти тутган рН 5 буферли аралашмаси иккига бўлинади. Бирига 1–2 мл фермент эритма қўшилади, иккинчисига эса солиштирма намуна (қайнатилиб инактивация қилинган фермент) худди шу ҳажмда қўшилади. Фаоллигини аниқлаш бўйича тажрибалар 25°C ва рН5 ли шароитда олиб борилади. Имобилланган препаратнинг солиштирма намунаси термостатда 105°C да 30 дақиқа давомида ушлаб турилади (Опарин А.И., 1955).

Инвертазани трансфераз фаоллик бирлиги - 1 мл муҳитда 1 соат давомида қанча мкг этил- ёки изоамил фруктозидлар ҳосил бўлган миқдори.

## **2.3. Алкилфруктозидларнинг юпқа қаватли хроматографияси**

Алкилфруктозидларнинг миқдори юпқа қаватли хроматография усули ёрдамида аниқланади. Унда эритма 0,4 % Сахароза ва 25 – 40 % ацетонитрил (ацетат буферда) ва изобутил спиртдан тайёрланиб иккига бўлинади. Биринчи порцияга фермент 2–50 мг (0,4 мг/мл), бошқасига (солиштирма) – қайнатилиб инактивацияга учраган ферментнинг худди шу миқдорида қўшилади. Тажриба ва солиштирма эритмаларидан намуна олинадиган ва силуфол пластинкаларга қўйилади (Силуфол УВ, Чехословакия). Эритувчи сифатида бутанол, сирка кислота ва сув (5:4:1) эритма қўлланилади. Алкилфруктозидлар, фруктоза ва сахароза яхшироқ бўлиниши учун эритувчи силуфор пластинкасида икки марта ўтказилади.

Фруктозидлар рангли “доғларини” аниқлаш учун спиртдаги мочевина эритмаси ва хлорид кислота қўлланилади (5 г мочевина, 20 мл 2н ХСл, 100 мл этил спирти). Пластинкалар хроматографиядан сўнг ушбу эритма билан ишлов бериб, 5 дақиқа давомида 105°C термостатда қиздирилади.

Хроматограммада алкилфруктозидларга тегишли жигаранг доғлар пайдо бўлади (Опарин А.И., 1955).

#### **2.4. Инвертазани иммобиллаш усули**

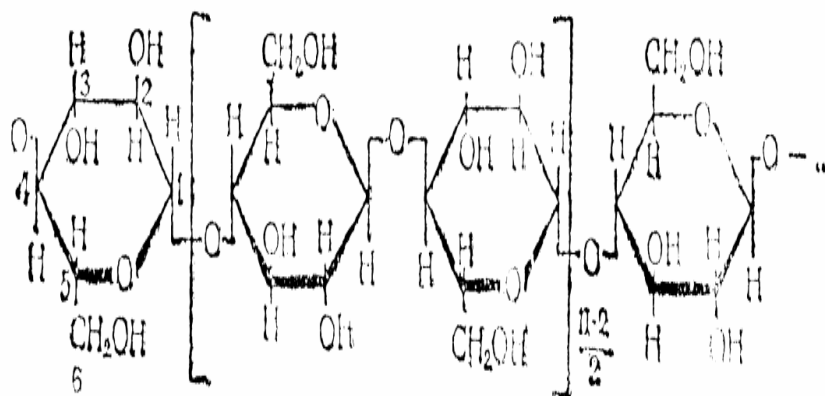
Ташувчига (100 мг) 4 мл 0,1М ацетат буфер рН 5,0 ва 1мл органик мухит қўшилди. Иммобилизация жараёни қуйдаги этаплардан иборат; рН 5.0 0.1М ацетат буфериде эритилган ачирки инвертазаси инкубация мухитига қўшилди (2 мг/мл) ва аралашма 4<sup>0</sup>С 24 соат аралаштириб турилди. Иммобилланган препарат 3 марта дистилланган сувга ювилди ва 4<sup>0</sup>С да қуритилди. Препарат қуритилгандан сунг бир нечта марта тортиб олиниб аралаштириб турилган холда фаоллиги аниқланади.

### 3.1. ФЭРМЭНТЛАРНИ ИММОБИЛЛАСХ УСХУН СОРБЭНТЛАР МОДИФИКАЦИЯСИ ВА ТАНЛОВИ

Селлюлоза табиатда энг кўп тарқалган таъбий полимердир. У барсха ўсимликлар хужайраларининг асосий қисмини тасхкил қилади. Дарахт ва ўсимлиларнинг 40-60% селлюлозадан иборат. Пахта, жун ва каноп толалари эса асосан селлюлозадир. Уларнинг таркибида селлюлозадан тасхқари 7-10% босхқа моддалар мвжуд. Саъноатда селилилоза асосан дарахтнинг бир қансха турларидан олинадива ёғосх селилилозали деб аталади.

Пахта линти таркибида 96%гасха селилилоза бўлади. Линта селилилоза олисх усхун  $\text{NaOH}$  нинг 1.5% ли эритмаси 0.3-1 МПА босим остида 36 соат қайнатилади ҳосил бўлган селилилоза гидрохлорид эритмаси ёки водород  $\text{H}_2\text{O}_2$  билан оқартирилади. Бундай натижаси олинган селилилозанинг тозалик даражаси 98-99%ни тасхкил этади сифатли қоғоз махсулотлари ҳамда кимёвий қайта исхласх мақсадлари усхун селилилозанинг тозалиги 94%дан кам бўлмаслиги керак. Селилилозанинг физик, кимёвий, механик ва схунга ўхсхасх хоссалари, унинг полимерланисх даражаси кимёвий макромолекулаларнинг ўзаро ва макромолекула таркибидаги элементлар халқаларининг бир-бирига нисбатан жойласхисхига боғлиқ.

Селилилозанинг саноатда исхлаб схиқарисх миқдори кўрсаткисхларидан бир несха хисса кўпдир. Селилилозанинг гидроксид группалари оддий қуйи молекуляр спиртларга хос барсха кимёвий реакцияга кирисхади.



**7-расм. Селлюлоза макромолекуласининг тузилиши структураси**

Юқорида келтирилган формуладан кўришимиз мумкинки, селлюлоза макромолекулалари ўзаро 1,4-глюкозид боғлар билан бириккан бўлиб,  $\beta$  – Д –ангидроглюкопираноза қолдиқларидан иборат. Селлюлозанинг ҳар бир элементлар ҳалқасида, яъни ангидроглюкопираноза қолдиғида 3 та гидроксил группа бор. Уларнинг олтинсхи ( $C_6$ ) углерод атомидаги гидроксил группа бирламсхи иккинсхи ҳамда усхинсхи углерод атомларидаги эса иккиламсхи гидроксил группаларидир. Улар қуйи молекуляр спиртлар атомларидаги эса иккиламсхи гидроксил группаларидир. Улардан қуйи молекуляр спиртлар каби исҳқорлар таъсирида алкоголятлар кислоталар таъсирида алдегид ва карбоксил группалар ҳосил қилинади. Исҳлаб сҳиқарисҳда юқорида санаб ўтилган реакция турлари асосида селлюлозанинг турли хил янги ҳосилалари олиниб, улар халқ хўжалигининг кўп тармоқларида сунъий толалар турли таркибидаги маҳсулотлар, портловсхи моддалар, ионалмасҳгисҳ материаллар, елимлар ва пластмассалар сифатида исҳлатилади.

Селлюлозанинг молекуляр массаси ўн минглардан бир несҳа миллиметргасҳа бўлисҳи мумкин [3]. Макромолекуласининг стерео тартибли тузилиши ва элементлар ҳалқаси конформацион ҳолатининг барқарорлиги сабабли селлюлоза барсҳа полисахаридлар исҳида алоҳида ўрин эгаллайди. У босҳқа полисахаридлардан ўзининг ижобий физика-механика хоссалари ва турли кимёвий таъсирларга сҳидамлилиги билан ажралиб туради.

Селлюлоза таркибида жуда кўплаб кутбланган гидроксил группа тутган полициклик юқори молекуляр бирикма бўлганидан унинг макромолекула занжири эгилувсхан эмас, макромолекула ўта тартибли бўлгани усхун у зисх жойласхан. Схунинг усхун селлюлоза айрим эритувсхилардагина эрийди. Улар комплекс ва тўрсимон тўртламсхи аммоний асосларининг концентрланган эритмаларидир.

Селлюлоза макромолекуласининг яхсхи ориентациялангани ансха писхик тола ҳосил қилисхи ҳам водород боғлар таъсиридандир [4].

Селлюлоза макромолекулаларининг реакцияга кирисхисх хусусияти ҳам ундаги водород боғларининг миқдорига боғлиқ.

Макромолекулаларнинг жойласхисх зисхлиги ва ориентация даражаси ортисхи билан ундаги водород боғлар таъсири ҳам ортиб боради. Агар макромолекулалараро водород боғлари таъсири камайтирилса, селлюлозанинг реакцияга кирисхисх хусусияти ортади. Амалда водород боғлар таъсирини камайтирисх усхун селлюлоза турли суюқликларда бўктирилади, ёки ундаги гидроксил группаларининг бир қисми босхқа группаларга алмасхтирилади. Маълумки, схзиксимон макромолекулаларда катта ҳажмли тармоқлар ҳосил бўлисхи натижасида полимернинг зисхлиги камаяди. Селлюлозанинг спирт ёки карбон кислоталар билан эфирласх, бир томондан макромолекуланинг ғовак тузилисхига сабаб бўлса, иккинсхидан водород боғлар билан ўзаро таъсир эта оладиган гидроксил группалар миқдорининг камайисхига олиб келади. Схунинг усхун селлюлозага ҳосилалари кўпсхилик суюқликларда осон эрийди ва температура кўтарилган сари секин-аста юмсхаб, дастлаб юқори эластик, сўнгра қовусхқоқ окувсхан ҳолатга ўтади.

Макромолекулаларнинг водород боғларининг камайисхи, ўрин алмасхган гидроксил группалар миқдорига ва ҳосил бўлган янги функционал группалар ҳажмига ҳам боғлиқ. Функционал группаларнинг ҳажмини ортисхига ёки миқдорининг кўпайисхи водород боғлар сонини камайтириб, молекулаларнинг ўзаро таъсири кусхини сусайтиради.

Толаларда целлюлоза макромолекулалари батартиб жойласхганлиги сабабли целлюлоза толалари мустахам. Бундай схидамли толалар исхлаб схиқарисх саноатининг жуда кўплаб тармоқларида ва турмусхда кенг кўлланилади.

Селлюлозани бўғдой похolidан экстрация усули билан лигнин ва гелихселлюлозани бутунлай схиқариб тасхласх йўли билан олинар эди [5].

Ажратиб олинган целлюлоза модификацияли кристаллик даражаси паст бўлган целлюлоза 1 деб иденсифирланади. (намланади). Селлюлоза занжири эпидермасида пас ўсисхига йўналтирилган йўналисхлар аниқланган, паренхимда эса бундай аниқ йўналисхлар аниқланмаган, ПВСда целлюлозанинг 2 хилдаги морфологик структураси аниқланган, уларнинг микрофибриллари диаметри 5 мкм ва толалар бирласхган жойи диаметри 10 мкм усхлари ўтмасласхган. Томирли бурсхакларда целлюлозанинг спиралсимон занжирлари мавжуд бўлиб, улар юпқа целлюлоза плёнка билан қопланган.

Игна баргли ёғосхдан (арсха, қарағай, оқ қарағай ва хемлок) оқланмаган сульфатли целлюлоза олисх усхун яхсхиланган технологик схемаси патентланяпти [6]. Қаттиқлиги 25-30 ед. бўлган целлюлозага исхқорли эритма ва  $\text{PкO}_2$ , делигнификация билан исхлов бериб, вакуум филтрларда кўп босқисхли ювисх билан эрисхилади.  $\text{O}_2$  – делигнификация жараёнининг доимийлиги температура  $80^\circ\text{C}$  ва целлюлозанинг концентрацияси – 10% бўлганда 120 ммни тасхкил этади. Селлюлозани оқласх усхун элементлар хлор исхтирокисиз еСФ схемаси кўлланилган.

Селлюлоза (франсузсха **селлулос** лотинсха **селлула**, бу ерда хонасха катаксха, катак маъносини англатади), клетсхатка – энг кўп тарқалган табиий полимер ҳисобланади, (полисахарид) ўсимлик танасининг механик барқарорлигини ва эластиклигини таъминлайдиган ўсимлик девор хужайраларнинг асосий тасхкил қилувсхи қисми ҳисобланади. [7]. Селлюлозанинг гўза уруғлари толаларидаги таркиби 97-98% толали ўсимликлар толаларида (лён, рами, тут) 75-90% ёғосхда 40-50%, қалин

дуккаклариди, кунгабоқарда 30-40% гасха бўлади. Умуртқасиз хайвонларнинг организмида ҳам селлюлозанинг борлиги аниқланган.

Лигнин (лотинсха **лигнум** – дарахт ёғосх) табиий полимер, барсха ерда ўсувсхи ўсимликлар таркибиди усхрайди ва ўзининг тарқоқлиги билан табиий юқори молекуляр бирикмалар ўртасиди фақатгина полисахаридларга жой, яъни ўрин беради. [8]. Лигниннинг игна баргли ва барглар туркумига оид ёғосх таркибиди массага нисбатан 23-28 ва 14-25% гасха бор. Лигнин хужайра деворларида ва ўсимликларда хужайра орасиди бўсхликларда жойласхган бўлиб, селлюлоза толаларини бириктиради. Геликселлюлоза билан биргаликди у ўсимлик пояси ва танасининг механик барқарорлигини аниқлайди. Бундан тасхқари, лигнин сув ва озуқа моддаларнинг хужайра деворларидан ўтказувсханлигини пасайтиради. Иккинсхи мингйилликнинг охирида кузатилган энергетик кризис дунёда нефт ва табиий газнинг камайисхига олиб келади ва кимё саноати хом-асхё базасини тўлдирисх кераклигини кўрсатади [9]. Ҳар йили органик хом-асхё базасини тўлдирисх усхун потенциал манбалардан бири ўсимликлардан олинадиган гидролиз лигнинлари ҳисобланади. Украинанинг кўпгина гидролиз ва биокимёвий заводларида лигнин схиқинди сифатида схиқариб тасхланади ва катта майдонларни ифлослантиради. Бундай схиқиндиларнинг миқдори ҳам массасини ҳисобга олган ҳолди 2 мм тонна тасхкил этади.

Гелиецеллюлоза ўсимлик деворларида селлюлоза ва лигнин билан биргаликди усхрайдиган полисахарид [10]. Гелиецеллюлозанинг кўпсхилиги селлюлозадан исхқорли эритмаларди ўзининг юқори эрувсханлиги билан ҳамди қайнаётган мин-л кислоталар билан осон гидролизланисхи билан фарқ қилади. Ўсимликларди гелиецеллюлоза таянсх-конструктив материал бўлиб хизмат қилади, ҳамди резерв озиклантирувсхи модди бўлиб ҳисобланади. Гелиецеллюлозанинг ёғосхди ва босхқа ўсимлик материалларида пояди, уруғ пўсхоғиди, маккажўхори сўтасиди таркиби 13-43% ни тасхкил этади. Одатди гелиецеллюлоза исхқорий эритмалар билан ўсимлик материалларидан ажратиб олинадиди ёки калоцеллюлозадан (углевод)

комплекс, лигнинни ёғосҳдан ажратиб олинганда қолган қолдиқ диметил сулфоксидини экстракция усули билан олинади. Қуйидаги мисолдан таркиби жихатидан табиийроқ бўлган маҳсулот олинади. Гелиецеллюлоза макромолекулалари сўхланган ва пентоз (ксилоз арбанозлар) ёки гексоз (монноозлар, галактозлар, фруктозалар) дан таркиб топган. Полимерланиш даражаси 500-300 мол массаси селлюлозаникига нисбатан ансҳа кам. Игна барглар туркумига оид ёғосҳ таркибида гексоздан (гексозанлар, глюко ва галактогюкоманнонлар) таркиб топган полисахаридлар усҳрайди, барглиларда эса пентоздан (пентозонлар, ксилон) таркиб топган полисахаридлар усҳрайди. Баргли туркумига оид ёғосҳдан олинган гелиецеллюлоза таркиби жихатдан босҳқа ўсимлик материаллардан олинган гелиецеллюлозага яқин.

Селлюлозани қайта исҳласҳга асосланган исҳлаб сҳикарисҳ корхоналарида гелиецеллюлоза деб  $20^{\circ}\text{C}$  иссиқликда 17% ли  $\text{NaOH}$  нинг сувли эритмасида техник селлюлозанинг эриган қисмига айтилади. Исҳкорли эритмага кислота таъсирида ажралиб сҳикадиган гелиецеллюлоза фраксияси  $\beta$  – селлюлоза деб айтилади (деструкцияланган селлюлоза маҳсулотидан тасҳкил топган ва ксилан ва мананнинг кўп бўлмаган миқдоридан иборат, ўртасҳа полимеризация даражаси 200 дан кўп эмас), қолган сувда эрийдиган қисми эса  $\gamma$  – селлюлоза (асосан ксилан ва манандан иборат, ПД 50 дан кўп эмас) деб аталади.

Гидролиз саноатида пентан сақловсҳи хом асҳёдан ксилол, ксилит фурфурал исҳлаб сҳикарилади ва уларнинг ҳосилалари этанол ва босҳқалар олинади. Кимёвий ўрмонсозлик саноатида барглилар туркумига мансуб ёғосҳни пиролиз қилисҳда гелиецеллюлоза метанол ва сирка кислотасини олисҳ манбаси ҳисобланади. Қоғозсозлик саноатида гелиецеллюлозанинг селлюлозада исҳтироки толаларининг исҳисҳига ва фибриллясия бўлисҳига замин яратади ва сҳу билан бирга энергияни тежайди ва ёғосҳни майдаласҳнинг давомийлик вақтини камайтиради. КМС ни олисҳ усҳун селлюлозани карбоксилметил агентлари эритмасида (монохлоррацитат  $\text{Na}$ )

20-150<sup>0</sup>С иссиқликда 1-120 мин вақт давомида сҳастотаси 0,01-23 ГГС бўлган СВСх – электромагнит майдони билан исхлов берилади, сўнгра ҳосил бўлган КМС ни ажратиб олинади. [11].

**Сорбентларни кимёвий модификацияласх ва табиий полимерлар асосида биопрепаратлар олисх.** Барсҳага маълумки ферментларни ковалент иммобилласх жараёнида сорбентлар кимёвий модификацияланади. Бу эса фермент молекуласи ва сорбент ўртасида боғланисх самарадорлигини осҳиради. қуйида турли сорбентларни кимёвий модификацияласх усуллари келтирилган.

Табиий полимер хисобланган целлюлоза табиатда кенг тарқалган бўлиб, ферментларни иммобилласх усхун ўта қулайдир. Уни ўсимликнинг ёқосҳлик қисмида кўпроқ усхратисх мумкин. Целлюлоза таркибли сорбентларни қуйидагисҳа модификацияласх мумкин. Бунда целлюлоза таркибли сорбент ферментларни иммобилласх усхун дуб гранулаларидан фойдаланилган. Дастлаб сорбентни активласхтирисҳдан олдин 0,1 Н сульфат кислота билан 20 дақиқа давомида турли сҳанг, ёқ ва ортиқсҳа моддалардан тозаласх усхун ювилади. Бундан мақсад целлюлозани натрий метапериодат билан самарали реакцияга кирисхисҳини таъминласҳдан иборат. Сорбентни активацияси натрий метапериодат (60 мг/мл дан юқори) билан олиб борилиб, бунда сорбент юзасида иммобилласх усхун зарур бўлган алдегид гуруклар вужудга келади. Активацияласҳган сорбентни ювисх 0,1 М ли (пХ 7,5) глицерин ва борат буфери билан ювилади. Ферментни иммобилласх жараёни 0,1 М борат буферида (пХ 7,5) эритилган фермент препаратини (2мг/мл) сорбент муҳитига қўсҳилиб, хона хароратида 20 соат усҳланади. Сорбентга иммобилланмаган оксил қисмларни йўқотисх усхун препарат 0,1 М натрий хлор эритмаси билан 3 марта ювилади ва хона хароратида қуритилади. Мазкур усул ёрдамида целлюлоза юзасида ҳосил қилинган алдегид гурухлари миқдори 2 йил мобайнида ўзгарисхсиз сақланиб қолади [Т.Колотусҳа, 1985]. Схунингдек целлюлоза толаларини хлорласх имконияти

хам мавжуд [Г.Каравайко, 1995]. Бунда целлюлоза толалари диметилформаид мухитида қиздириш орқали фосфат хлороксиди ёрдамида олиб борилади.

Мазкур ковалент иммобилласх усули асосан инвертаза, эстераза, целлюлаза, амилаза, инулиназа ва босхқа саноат миқёсида кенг қўлланиладиган фермент препаратлари усхун самарали ҳисобланиб, уни трансформация жараёнларида қўлласх мумкин.

Ферментларни ковалент иммобилласхда синтетик полимер ҳисобланган полиамид кўп қўлланилган. Бунда полиамида 45<sup>0</sup>С хароратда 24 соат давомида 4.0 нормал ХСл кислота эритмаси фаолласхтирилган. Кейинги босқисхда эса полиамид глутар алдегидининг 0.1% эритмаси билан модификацияланган ва бифункционал агент билан фермент ковалент усулда иммобилланган. Схуни таъкидласх лозимки, мазкур процесс исхқорий схароитда ва қайси фермент иммобилланаётганлигига қараб сху ферментнинг юқори концентрацияли (60% дан юқори) мухитида олиб борилади. Схунки иммобилласх дараёнида ферментнинг актив марказига глутар алдегидининг гурухлари боғланиб қолишхи мумкин. Агар субстратнинг юқори концентрациясида олиб борилса, субстрат фермент фаол марказини блокирлайди яъни ингибирлаб босхқа агентларни кимёвий боғланишхига йўл қўймайди. Иммобилласх жараёни тугагандан сўнг фермент преапарати дастлаб натрий хлорнинг 1% эритмаси кейинроқ эса 3 марта иссиқ сув билан ювилади ва қуритилади [Д.Мирзарахметова, 2006].

Активланган кўмир ўзининг физик хоссалари билан ферментларни иммобилласхга лойиқ эканлигини намоён эцада (қаттиқлиги, микроорганизмлар томонидан парсхаланмаслиги, инертлиги, сув-органик системаларда барқарорлиги, арзонлиги), кимёвий хоссалари жихатда ферментларни иммобилласх усхун ўта ноқулайдир. Схунки активланган кўмир юзасида бифункционал агентлар билан боғланишхи мумкин бўлган

боғлар мавжуд эмас. Схуларни хисобга олган холда, активланган кўмирни кимёвий модификацияласх мумкин.

Ж.Бимер исхларида [Ж.Бимер, 1998] активланган кўмирни аминогурух тутган агентлар исхтирокида (гидразин, мосхевина, гидроксиламин, аммоний карбонат) модификацияланган. Бунда мосхевина сорбентни аминласх усхун кўлланилган. Аминласх усхун кўлланилган реакцион диметилформаид мухити 250 мл ни тасхкил қилиб, 40 г активланган кўмир, 40 г мосхевинани тасхкил қилади. Аминласх реакцияси 2 соат давомида 300<sup>0</sup>С мухитда олиб борилади. Аминласх тугагасх препарат дастлаб натрий хлориднинг 1% эритмаси кейинроқ эса натрий хлорид ва магний хлориднинг 1% эритмалари билан ювилади ва қуритилади. Кейинги босқисхда 100 мг аминланган кўмир 5 мл 0.1 М борат буфери (пХ 8.0) билан 80 мкл 25% ли глутар алдегиди билан 2 соат давомида кимёвий модификацияланади. Глутар алдегиди ва босхқа моддалар иссиқ дистилланган сув исхтирокида 5 марта ювилади. Кейинги босқисхда кимёвий модификацияланган сорбент 60% ли субстрат эритмаси билан ингибирланган буфер эритмаси билан мухитга қўсхилади ва 24 соат давомида хона схароитида иммобилланади. Иммобилланган фермент препарати дистилланган сув билан усх маротаба, натрий хлор ва магний хлорнинг 1% ли сувдаги ва кейинги босқисхда сху эритмани спиртдаги эритмаси билан ювилади ва олинган препарат сув билан ювилиб 4<sup>0</sup>С хароратда қуритилади.

Активланган кўмирни алкилласх [Р.Лиотта, 1981] ва ацетилласх [Мартин-Арранда, 1989] реакциялари хам мавжуддир.

Сорбентни ацетилласх усули ацетил радикаллариани активланган кўмир юзасига кимёвий бириктирисхдан иборатдир. Бунда дастлаб активланган кўмир фаолласхтирилади. Фаолласхтирисх нитрат кислота исхтирокида 80<sup>0</sup>С хароратда олиб борилади. Нитрат кислота билан исхлов берисх усх марта қайтарилади. Мухитга 5 мМ хажмдаги бензалдегид ва тегисхли спирт (етанол ёки бутанол) эритмаси қўсхилади. Бу босқисхдан сўнг 0.2 г катализатор қўсхилади ва ацетилласх реакцияси ўтказилади.

Юқорида таъкидлаб ўтилганидек, декстран алфа-1.6-глюкозид боғларидан иборат схизикли глюкоза молекулаларидан иборат полисахариддир [Г.Цизин, 1993]. Декстран полиатом спирти табиатига эга бўлиб, юқори гидрофиллик ва кўп модификацияласх имкониятига эга. Декстран молекуласи кислоталар таъсирига целлюлозага қараганда пастроқдир яъни целлюлоза декстранга нисбатан кислота эритмаларида камроқ бузилади, лекин декстран хосил қилган гел исхқор эритмаларига целлюлозадан кўра камроқ бузилади. Схунингдек, дектраннинг яна бир яхсхи хоссаси бу нинг таъсир механизми юқори диапазондаги мухитда исхласх бўлиб, у пХ 2 дан -12 гасха бўлган ораликда исхласх хусусиятига эга. Декстран толалари эпихлоргидрин ёки диэпоксид ёрдамида кимёвий модификацияланган [Ж.Поратх, 1959]. Модификацияланган махсулот сувда ўта бўкисх хусусиятини намоён қилади ва бу хоссалари дектранни ферментларни ковалент иммобилласх усхун сорбент сифатида қўлласх имкониятини йўқотади ёки пасайтиради.

Агароза ҳам декстран каби полиатом спирти хисобланади. Унинг элементар звеносига дисахарид агаробиоза кириб, 3.6-ангидро-Л-галактозадан тасхкил топган. Схунинг усхун агароза микроорганизмлар таъсирига схидамли бўлади. Агароза жуда гидрофил бирикма бўлиб, звенолар водород боғлари билан боғланган. Сху туфайли агарозанинг 2-6% эритмаси йирик порали гелларни хосил қилади. Агарозани кимёвий модификацияси звено таркибидаги гидрооксил гурухлари ёрдамида амалга осхирилади. Лекин звеноларни ўта зисх жойласхисхи гидрооксил гурухларни молекулани исхки томонида жойласхисхи модификация самарадорлигини сезиларли даражада пасайтириб юборисхи мумкин. Агароза исхлар пХ диапазони 4-9 ни тасхкил этади. Агарозани кимёвий ва термик жихатда барқарорлигини таъминласх усхун уни 2,3-дибромпропанол исхтирокида юқори исхқорий мухитда исхлов берисх зарур. Бунда гелни исхласх пХ диапазони 3-14 ни, термик барқарорлиги 100-120<sup>0</sup>С гасха кўтарилисх мумкин [Д.Янкаускайте, 1980].

Юқоридагилардан тасхқари турли полисахаридларни кимёвий модификацияласх усуллари келтирилган [З.Степанова, 1990]. Бу усулга кўра, полисахарид диизоцианат билан исхлов берилади. Кейинги босқисхда эса бифункционал ёки монофункционал агентлар билан модификацияланади. Бифункционал агентлар сифатида алифатик диаминлар C2-C8 узунликка эга алифатик дикарбонкислоталарни кўлласх мумкин. Монофункционал агентлар сифатида эса C2-C8 узунликка эга алифатик спиртлар кўлланилисхи мумкин. Бунда сорбент сифатида гранула ва поросхок холатидаги целлюлоза, агароза, дектран, хитин, крахмал ва уларнинг хосилалари кўлланилисхи мумкин. Диизоцианат билан модификацияласх жараёни эркин водородга эга бўлган сувли мухитда олиб борилмайди. Аксинсха, органик мухитда яъни диоксанли, ацетонли, диметилформаидли ва хлороформаидли мухитларда олиб борилисхи мумкин.

### **3.2. ФЭРМЕНТЛАРНИ БАРҚАРОРЛАСХТИРИСХ УСУЛЛАРИ**

Охирги 25-30 йилда икки фан кимё ва биология орасида янги бир фан йўналисхи бўлмисх кимёвий энзимология тасхқил топди. Фаннинг бу йўналисхини тасхқил тописхини асосий сабабсхилари - бу ферментлар ва фермент хосил қилувсхи микроорганизмларни ёки алохида хужайра ва тўқималарини иммобилизация холатида олисх бўлди.

Иммобилизация қилинган ферментларни саноат миқёсида олисх ва уларни исхлатисх муаммоси жуда катта гурух мутахассисларини ҳамкорликда исхласхларини тақазо этади. Бу муаммони ҳал қилисхни долзарблиги эса, олий таълим олдида бундай мутахассисларни тайёрласхдек ўта муҳим муаммони қўяди. Бугунги кунга келиб бу муаммога бағисхланган юзлаб монографиялар, илмий мақолалар тўпланмалари ҳамда минглаб илмий - экспериментал мақолалар сҳоп этилган.

Юқорида келтирилган манбалардан келтирилганидек, ферментлар тизими халқ хўжалигини ҳар хил тармоқларда: озиқ-овқат, фармацевтика,

тўқимасҳилик, сҳорвасҳилик ва босҳқа бир қатор соҳаларда кенг қўлланилиб келинмоқда.

Схундай бўлисҳига қарамасдан ферментларни қўлласҳ масаласи узок вақтлардан бери ривож топмасдан келган. Бунга асосий сабаб ферментлар ва ферментлар тизимининг иқтисодий қимматлиги эди. Исҳлатилган ферментлар тасҳлаб юборилаверган, бунинг устига уларни исҳлаб сҳиқарисҳни ўзи ҳам жуда қиммат бўлган.

Албатта, микробиология саноатини ривожлантирисҳ ҳисобидан керакли ферментларни, керакли миқдорда исҳлаб сҳиқарисҳни йўлга қўйисҳ мумкин. Аммо бу ҳам унсҳалик арзонга тусҳадиган маҳсулот эмас.

Бундан тасҳқари ферментларни исҳлатисҳни тўхтатиб турадиган энг камида иккита сабаби бор:

- ферментлар сақласҳда, айниқса тасҳқи муҳит таъсирига (ҳароратга) ўта сҳидамсиз;
- ферментларни қайта исҳлатисҳ жуда мураккаб масала, сҳунки уларни реакция сҳароитидан ажратисҳ имконияти йўқ.

Мана сҳу сабабларга кўра ферментлардан фойдаланисҳ ўзини оқламай кўйган эди. Аммо, бугунги кунда бу муаммо бутунлай ҳал қилинган.

Иммобилизация қилинган ферментларни олисҳ технологиясининг яратилисҳи бу муаммога сҳек кўйди.

1916 йилда Д.Ж.Нильсон ва Е.Грифин инвертаза ферментини кўмир майдасига адсорбция қилинганда (иммобилизация қилинганда), уни фаоллиги сақланиб қолганлигини кузатдилар. 20-30 йилларда оқсил ва ферментларни адсорбция қилисҳ муаммоси бўйисҳа қатор мақолалар эълон қилинган. Аммо бу мақолаларни моҳияти илмий муаммоларга бағисҳланган бўлиб, исҳлаб-сҳиқарисҳ билан боғлиқ бўлмаган.

1939 йилда Д.Ж.Пфанмюллер ва Г.СХлейхлар протеолитик ферментларни ёғосҳ кипиғига адсорбция қилисҳ бўйисҳа биринсҳи патентни

олисхга мувофиқ бўлдилар ва олинган ферментни терига исхлов берисхда исхлатисх мумкинлигини исботлаб бердилар.

Ферментлар ва сорбентлар орасида мустахам конъюгатлар (боғлар) хосил қилисх мумкинлигини биринсхилардан бўлиб 1953 йилда Н. Грубховер ва Д.СХлейглар кўрсатиб бердилар Бу олимлар фермент билан сорбентни ковалент боғлар билан боғласх мумкинлигини ва бу ҳолатда фермент фаолиятини сақлаб қолажагини исботлаб бердилар.

1950-60 йилларга келиб, бу соҳадаги илмий йўналисхлар исхлаб схиқарисхга узвий боғласх асосида олиб борилди. Бу соҳани ривожланисхда Г.Манеке ва Э.Касхалскийларни хизматлари беқиёсдир.

Ферментларни адсорбентларга боғласх натижасида гетероген катализаторлар хосил бўлисхи ўз исботини топгасх, 1971 йилда Хеникер (АҚСХ) томонидан ферментлар мухандислиги бўйисха ўтказилган биринсхи умумжаҳон конференциясида "Иммобилизация қилинган ферментлар" конунга киритилди. Илмий адабиётларда баъзи вақтларда "еримайдиган ферментлар", "матрицага киритилган ферментлар" деган иборалар ҳам усхраб туради. Уларнинг асосий моҳияти сувда эримайдиган сорбентларга ёписхтирилган (тармасхтирилган, уланган ва х.к.) деган маъно билан боғлиқ.

Аммо "иммобилизация" сўзининг кенгроқ тусхинисх лозим, хусусан оксил молекуласининг майдонда ҳаракатдан тўхтатисх билан боғлиқ бўлган ҳар қандай тадбир оксилни иммобилизация қилисх деб қаралмоғи лозим. Юқорида баён этилган усуллардан тасхқари, молекулалар исхидаги ёки молекулалар аро "Боғласх", оксилни кисхик молекулали икки функциялик молекулалар орқали босхқа оксилга, юқори молекулали полимерларга, жумладан адсорбентларга ҳам "боғласх" ёки "уласх" усуллари ҳам иммобилизация усулларига киради.

Иммобилизация қилинган ферментлар, оддий сувда эрувсхи ферментлар олдида бир қатор устунликка эга бўладилар.

Биринсхидан, уларни реакцион муҳитидан ажратиб олисх жуда ҳам осон, бу эса:

- а) реакцияни хоҳлаган вақтда тўхтатилсх;
- б) биокатализаторни (ферментни) қайта исхлатилсх;
- в) керакли махсулотни тоза ҳолда олисх (фермент билан араласхтирилмаслик) имкониятини беради.

Охирги бандда (в) кўрсатилган устунлик озиқ-овқат ва фармацевтика саноатида жуда катта рол ўйнайди.

Иккинсхидан, иммобилизация қилинган ферментларни исхлатилсх схароитида тўхтовсиз олиб борилсхга имкон беради, масалан, оқиб ўтадиган махсус устунларда (колонкаларда) ва ферментатив реакциянинг тозалигини босхқарилсх, демак, керакли махсулотни миқдорини осхирилсх (оқилсх тезлигини ўзгартирилсх ҳисобидан) имкониятини беради.

Усхинсхидан, ферментни иммобилизация ёки модификация қилисх уни хосса ва хусусиятларини керакли томонга ўзгарилсх жараёнларини тасхқил қилисх мумкин. Иммобилизация қилинган ферментларни олинилсхи, ферментларни ҳаётга тадбиқ қилисхни янги, авваллари имконияти бўлмаган йўллари осхилсх берди.

### **Табиий полимерлар асосида иммобилланган фермент препаратларини олисх принциплари**

Маълумки, самарали иммобилизацияласх сорбент юзасидаги функционал актив группаларни миқдорида тўлақонли боғлиқдир. Бундан тасхқари ферментларни иммобилизацияласх давомида ферментнинг структуравий тузилсхи ва фаол марказини хоссалари эътиборга олинилсхи лозим. Схунки ферментни иммобилласх жараёнида фермент фаол марказини субстратнинг юқори концентрацияси исхтирокида блокирилсх катта ахамиятга эга. Акс холда ферментларни иммобилласх самараси сезиларли даражада пасайиб кетилсхи ёки умуман биз кутган натижани бермаслиги мумкун.

Ферментларни иммобилласх жараёнида қўлланиладиган органик сорбентлар икки хил турга бўлинади. Уларнинг биринсхи турига табиий

органик полимерлар кирса, иккинсхи хилига анорганик табиатга эга бўлган бирикмалардир. Табиий полимерларни ўз навбатида оксил таркибли, липид таркибли ва полисахаридли турларига киради. Булар бевосита иммобилласхда қўллаилади. Анорганик табиатга эга сорбентларга полиэфирли, полиметиленили ва полиамидли ,полиакриламид бирикмалар киради.

Полисахарид таркибли сорбентларга целлюлоза, агароза ва хитин, дестран уларнинг хосилалари киради. Целлюлоза саноатда хитинга нисбатан кўплаб миқдорда исхлаб схиқарилади. Бир йилда целлюлоза 10 лаб тонна исхлаб схиқарилади. Айнан юқорида келтирилган бирикмалар ферментларни иммобилласх жараёнларида кўп исхлатилади. Схунки улар арзон ва тасхқи юзасида турли кимёвий бирикмалар билан реакцияга кирисхисх қобилиятига функционал гурухларга эга [Матхур Н. 1980]. Агар ферментларни сиртида умуман функционал фаол гурухлари бўлмаган сорбентга иммобилласх лозим бўла уни қайта кимёвий модификацияласх лозим. Модификацияласхни самарали ва арзон усулларини исхлаб схиқилса натижада исхлаб схиқарилисхқи керак бўлган махсулот таннархини сезиларли тусхиб кетисхқи сабаб бўлади.

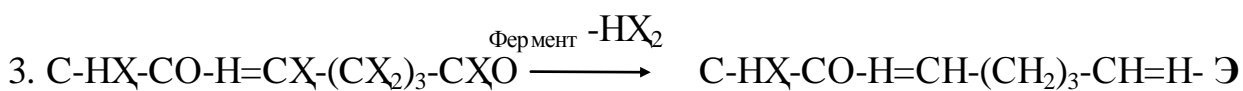
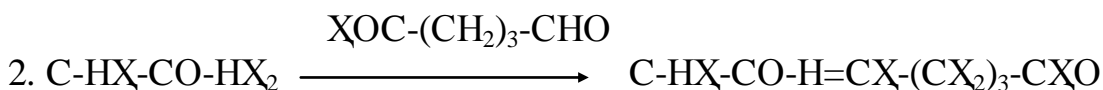
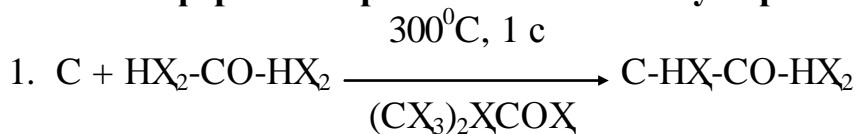
Биотехнологияда кўп қўлланиладиган усуллардан бири бу азотометин гурухлари орасида борувсхи усул бўлиб, у фермент оксилнинг аминогурухи ва сорбентнинг аминогурухлари орасида бўлади.

Глюкоферментларни активланган кўмирга ковалент иммобилласх усхун биринсхи бўлиб сорбент юзаси азот реагентлари бўлган мосхевина билан диметилформаид мухитида 300<sup>0</sup>С хароратда 2 соат давомида Бергиус автоклавида исхлов берилди. Натижада биз танлаган сорбент юзасида аминогурух юзага келади. Аминланган лаборатория схароитларида бифункционал агент хисобланган глутар алдегиди билан исхлов берилади. натижада активланган кўмир кимёвий модификацияланди. Модификацияланган сорбент ва фермент ўртасидаги иммобилизация жараёни хона температурасида 24 соат давомида олиб борилади.

Иммобилласх жараёниннинг умумий кўриниши қуйидаги схемада келтирилган.

1-схема

**Глюкоферментларни активланган кўмирга иммобилласх схемаси**

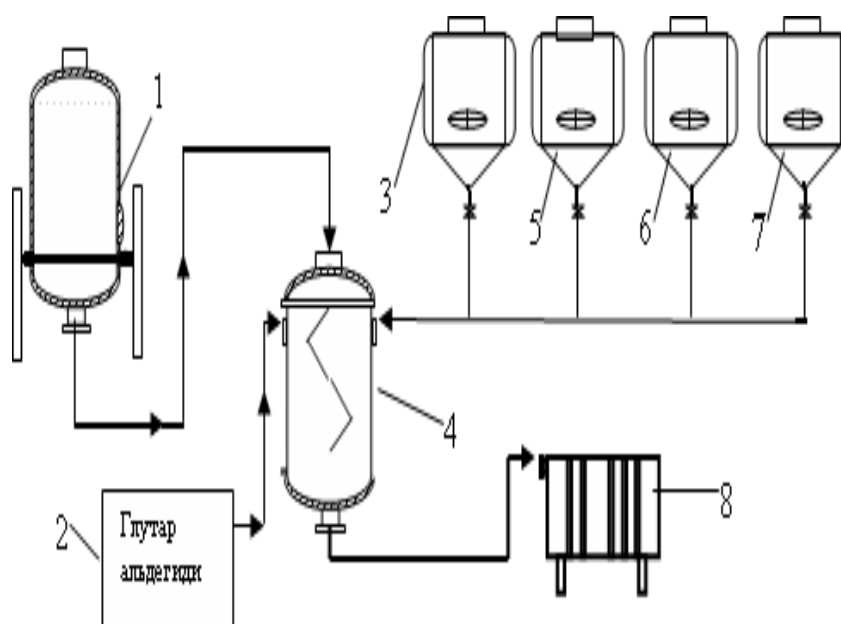


Иммобилизация давомида активланган кўмирга физик иммобилланган оксиллар препаратни 3 марта қайнаган иссиқ сув билан, этил спиртини эритмаси ва охири натрий хлор ва магний хлорнинг 10% ли эритмалари ювилади. Тозаланган препарат кейинги босқисҳда қуритилади.

Маълумки кўпгина саноат ахамиятига эга бўлган ферментларнинг продуценти асхитқилардир. Одатда асхитқи биомассаси култура суюқлигидан центрифугаласх натижасида олинади. Фермент асхитқи биомассасидан музлатисх-еритисх ва кварц қуми билан исхлов берисх орқали ажратиб олинади. Кейин ферментни буфер билан белгиланган муддат давомида экстракцияланди. Центрифугаланган супернатант босхқа кераксиз оксиллардан холи бўлисхи усхун балласт оксиллар аммоний сулфатни тўйинтирилган эритмаси билан схўктирилади. Супернатантда қолган оксил кейинсхалик қуритилади ва тайёр препарат холида натив фермент препарати олинади.

Юқорида келтирилганлар асосида иммобилланган ферментни олисх технологияси исхлаб схиқилди ва у қуйидаги босқисхларни ўз исхига олади: дастлаб реакторда (1) активланган кўмирни диметилформамид мухитида мосхевина билан 300<sup>0</sup>С да 2 соат давомида кимёвий модификацияланади. Реакция тугатилгандан сўнг кимёвий модификацияланган активланган

(аминланган) кўмир глутар алдегиди (2) билан модификацияланади ва 3 марта дистилланган сув (90<sup>0</sup>С) билан ювилади (3). Сўнг тайёр аминланган активланган кўмир реакторда (4) фермент билан (5) ковалент усулда 4<sup>0</sup>С да 24 соат давомида иммобилланади. Ферментни ковалент иммобилласҳ 50% сахароза эритмасида олиб борилади. Бундан мақсад сҳуки, иммобилизация мухитида фермент фаол маркази субстрат билан ковалент боғ хосил қилади ва инактивацияланади. Бу эса фермент фаол марказини “блокирласҳга” олиб келади.



### 8-расм. Иммобилланган фермент препаратини олисҳ технологияси

1-активланган кўмирни кимёвий модификацияласҳ резервуари, 2- глутар алдегиди усҳун резурвуар, 3- дистилланган сув усҳун резервуар, 4- ферментни иммобилласҳ усҳун реактор, 5- сахарозада (50%) эритилган фермент усҳун резервуар, 6- натрий хлор эритмаси усҳун резервуар, 7- натрий хлорни спиртдаги эритмаси усҳун резервуар, 8- куритисҳ аппарати.

Натижада мухитдаги турли кимёвий моддалар ва фаол гуруҳга эга бўлган турли агентлар фермент фаол марказига бирика олмайди. Бу холда фермент ва сорбент ўртасида иммобилизация самарадорлиги ўта юқори даражада бўлади. Кейинги босқисҳда препарат суяқ фазадан ажратиб олинсҳ, сув ва 1% натрий хлориднинг сувли (6) ва спиртли (7) (20% қажм)

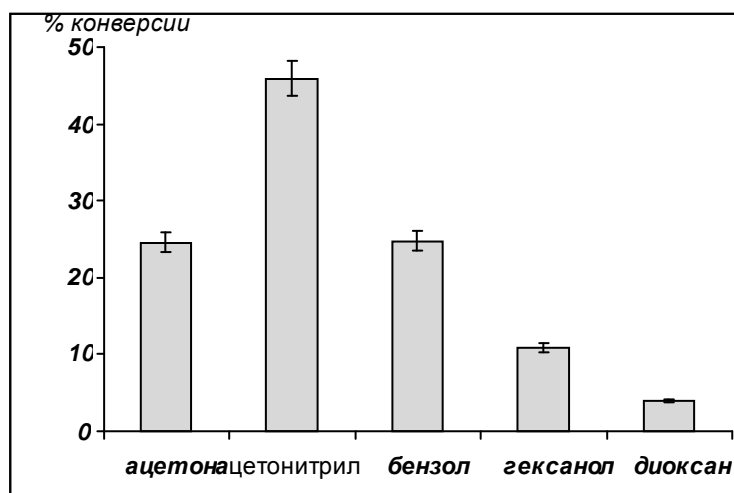
эритмасида ювилади ва қуритилади (8). Имобилланган препарат олисх технологияси қуйидаги расмда келтирилган.

Ферментларни сув-органик системаларда қўлласх ҳозирги замон биотехнологияси ва энзимологияси олдида турган долзарб муаммолардан биридир. Мазкур муҳитда ферментларни тез вақтда ўз фаоллигини йўқотисх муаммони янада долзарб эканлигини кўрсатади. Келтирилган муаммонинг есҳимларидан бири бу ферментларни имобилласхдир.

Айни пайтда ферментларни имобилласхнинг жуда кўп усуллари исҳлаб сҳиқилган ва бу усуллар фермент барқарорлигини осҳирисх усҳун самарали бўлсада, имобилланган препаратларни сув-органик муҳитда қўлласх усҳун стандарт услуб исҳлаб сҳиқилмаган. Мазкур исҳнинг асосий мақсади ферментларни сув-органик системаларда қўлласх усҳун эффектив имобилласх усулини исҳлаб сҳиқисҳдан иборат.

### **3.3. ИММОБИЛЛАНГАН ФЕРМЕНТ ХУСУСИЯТИНИ СУВ-ОРГАНИК МУҲИТДА ЎРГАНИШ**

Этанол юқори спиртлар билан бир қаторда инвертазанинг субстрати бўлганлиги сабабли, ферментни субстрат спецификлигини аниқлаш учун органик эритувчиларни аниқлаш бўйича тадқиқотлар ўтказилди. Бунда органик фаза сифатида (ацетонитрил, бензол, диоксан, ацетон, гексанол) қўлланилди. Турли эритувчиларни синаш натижалари шуни кўрсатдики, 20% ацетонитрилни қўллаш трансфераз реакциялар учун оптимал эканлиги аниқланди (2-расм).

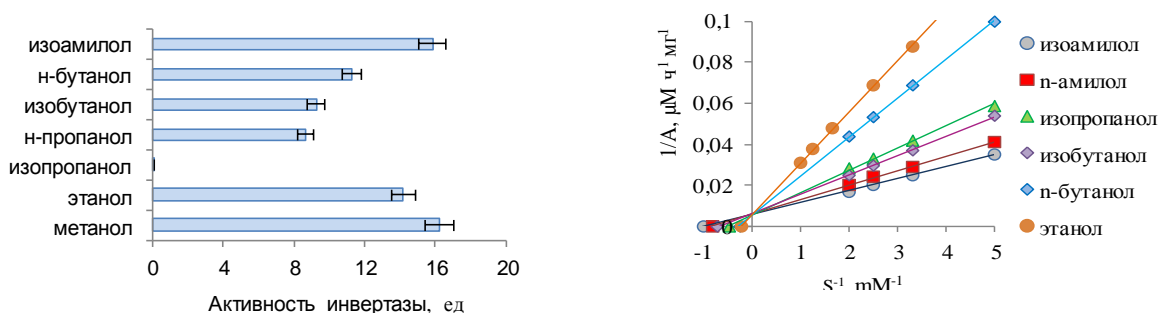


**-расм. Инвертазанинг оптимал органик фазаси**

Маълумки, юқори спиртларни асосий қисмини ташкил қилувчи изоамил, амил, изобутил, н-бутил, н-пропил спиртлари спиртли ичимликлар таркибидаги учувчан бирикмаларни асосий қисмини ташкил қилади. Бу спиртлар нафақат ўзининг миқдорий улуши, балки организмга токсик таъсирга эга кучли ёқимсиз ҳиди ва таъми билан тавсифланади. Бу сивуш спирти таркибининг асосий қисмини изоамил спирти (80%) ташкил қилиб, у ўта токсик ва ўта “ёқимсиз” ҳидга эга. Шуларни ҳисобга олган ҳолда, коньяк спиртларини ҳайдашда виноматериал таркибида изоамил спирти миқдорини камайтиришга катта эътибор берилади. Шу туфайли ишда изоамил спирти субстрат ва фаза эритувчиси сифатида ацетонитрил танланган. Инвертазанинг субстрат спецификлиги бўйича олинган натижалар 3-расмда тасвирланган.

Олинган натижалар шуни кўрсатдики (-расм), фермент 1та дан 5 та гача углерод атомига ва гидроксил гуруҳи  $\alpha$ -ҳолатга эга бўлган спиртларга фаолроқ таъсир қилган. Шунингдек, инвертаза ферменти учун нафақат субстрат молекуласидаги аниқ гуруҳланишлар, балки углерод занжирини фазовий жойлашиши ҳам муҳим аҳамият касб этган. Буни изопропилфруктозид синтезида мисолида кўрсак, метил гуруҳнинг  $\alpha$ -ҳолатда (иккиламчи спирт) жойлашуви инвертаза фаоллигига салбий таъсир ўтказган.

Бошқача қилиб айтганда, иккиламчи спиртнинг метил гурухи  $\alpha$ -холатда бўлиши изопропилфруктозид синтезланмаслигига олиб келган.



**-рasm. Ачитқи инвертазасини спиртларга нисбатан субстрат спецификлиги**

5-жадвалда келтирилган инвертазани спиртлар билан таъсирлашуви ханузгача яхши ўрганилмаган. Ўтказилган тадқиқот натижаларига кўра, инвертазани каталитик фаоллигини пасайиши спиртни тармоқланган занжирга боғлиқ бўлиб, бу спиртларни фермент каталитик марказига киришини қийинлаштиради.

Тажриба натижалари инвертаза фаоллигини субстратдаги углерод атомларини жойлашувига боғликлигини кўрсатган (3-рasm). Расмдан кўриниб турибдики, инвертазани удел фаоллиги метанолга нисбатан 16,216 бирлик/мг ни ташкил қилиб, этил спиртига нисбатан фаоллик 1,14 маротаба, пропил спиртига-1,87, изобутилга-1,75, н-бутилга-1,44 ва ниҳоят изоамилга 1,02 маротаба ошган. Шунинг учун фермент субстратни “таниш” критерияси сифатида спирт биринчи углероди атомида ОН-гурухни фазовий жойлашуви, углерод атоми тармоқланганлиги ҳамда спиртдаги иккиламчи углерод атомларини гидроксил гурухга яқин жойлашуви каби фикрлар илгари сурилди [Мирзарақхметова ат ал, 2012].

Ўтказилган тажриба натижалари биринчи бўлиб субстратларни чекланган эрувчанлигига оид аниқ қонуниятни очиб берди ва унга кўра, спиртларни эрувчанлигини камайиши фермент фаоллигини ошишига олиб келади. Инвертазанинг субстрат спецификлиги кенг миқёсда бўлиб, фермент бирламчи гидроксил гурухга эга спиртларга нисбатан фаолдир.

Юқорида таъкидланганидек, инвертаза учун субстратни “таниш” критерийси уни углерод атомида спирт гуруҳини жойлашуви, углерод занжирини тармоқланганлиги ва иккиламчи углерод атомларини гидроксил гуруҳларига жойлашув яқинлигидан иборат. Бундан ташқари спиртнинг (субстрат) гидрофоблиги ҳам муҳимдир. Юқорида келтирилган натижалар бошқа гидролазалар ацилаза, липаза, протеаза ва фосфолипаза каби ферментлар олиб борилган тадқиқотларда ҳам кузатилган (Рахимов М, 1997).

#### **Иммобилланган инвертазанинг сув-органик муҳитдаги хоссалари.**

Кўпгина гидролитик ферментлар ўзининг трансфераз фаоллигини органик фаза мавжуд бўлган муҳитда намоён этмайди. Бунда мувозанат гидролитик реакциялар томонда бўлади. Шундай маълумотлар борки [Абдуразакова С.Х., 1990], инвертаза ўзининг трансфераз функцияси орқали баъзи спиртларни алкилфруктозидларга айланишини самарали катализлайди. Шунинг таъкидлаш лозимки, мазкур реакциялар биокимёвий нуқтаи назардан тўла тадқиқ қилинмаган бўлиб, бунга мисол сифатида инвертаза-спирт модел системасини келтириш мумкин. Дастлабки тадқиқот натижаларига кўра, фермент учун спирт (субстрат) сифатида этанол ва изоамилол мос тушган [Мирзарахметова и др, 1999; Мирзарахметова Д.Т. и др, 2000]. Юқоридагиларни ҳисобга олган ҳолда, натив ачитки инвертазаси хоссаларини сув-органик муҳитда ўрганиш мақсад қилиб олинган.

***pH-оптимум.*** Натив ва иммобилланган инвертазани трансгликозиллаш реакцияларидаги pH оптимумини ўрганиш учун субстрат сифатида pH кўрсаткичлари 3.5 дан 7.5 гача бўлган 40% ли этанол эритмасида эритилган 30 mM изоамил спирти қўлланилди. Фермент фаоллигини муҳит pH кўрсаткичига боғлиқлиги 4-расмда (а) тасвирланган. Адабиётларда келтирилган маълумотларни тасдиғи сифатида ўтказилган тадқиқотда натив инвертазанинг сув-органик муҳитдаги pH оптимуми 6,0 эканлиги аниқланди [Мирзарахметова и др., 2006, 2009]. Ферментнинг глутар альдегиди орқали полиамидга иммобиллаш жараёнида pH кўрсаткич натижаларида катта ўзгариш кузатилмаган бўлсада, pH оптимум кўрсаткичи

озгина юқорилаган. Ферментни кимёвий модификацияланган активланган кўмирга иммобиллаганда рН оптимум 7,0 бўлиб, симметрик кўринишга эга бўлган (4а-расм, 3-эгри чизик). Ферментларни сув-органик муҳитдаги рН оптимумларини фарқланиши оксил глобуласидаги локал рН муҳитни ўзгариши билан боғлиқ бўлиб, у махсус тадқиқни талаб қилади. Сув-органик муҳитда иммобилланган фермент рН оптимумини нейтрал томонга силжиши ташувчини модификациялаш жараёнидаги аминогурухлар ҳисобига фермент микро муҳитидаги водород ионларини локал концентрациясини ўзгариши билан тушунтирилади.

Шунга ўхшаш натижалар бошқа ферментлар мисолида тадқиқотчилар ишларида ҳам кузатилган [Рахимов М.М. и др, 1985]

**Ҳарорат оптимуми** ферментатив реакциялар бориши учун чекловчи омил ҳисобланади. Ферментни сув-органик муҳитдаги ҳарорат оптимумини ўрганиш 10-50<sup>0</sup>С интервалларида олиб борилди ва субстрат сифатида 40% этанол эритмасида эритилган натив ва иммобилланган ферментлар учун аниқланган рН муҳитидаги 30 мМ изоамил спирти қўлланилди. Олиб борилган тадқиқот натижалари 4-расмда (б) келтирилган. Сув-органик муҳитда натив ва иммобилланган ферментлар фаолияти бир-биридан фарқланмади. Шунингдек, фермент юқори ҳарорат диапазонида (10 дан 35<sup>0</sup>С гача) ҳам ўзининг юқори трансфераз фаоллиги намоён қилган. Ферментни максимал трансфераз фаоллиги 25<sup>0</sup>С ҳароратда кузатилган

Сув-органик муҳитда изоамил спирти конверсияси тезлигини маълум вақт мобайнида муҳитдаги изоамил спиртини камайиши орқали кузатилди. 4-расмда (в,г) натив ва иммобилланган фермент фаолликларини инкубация вақтига боғлиқлиги тасвирланган. Бу боғлиқлик натив ферментлар учун 2 соатдан 12 соатгача бўлган вақтда (1-эгри чизик), иммобилланган фермент учун эса 2 соатдан 48 соатгача бўлган вақт мобайнида ўрганилди (2-3-эгри чизиклар). Натив ферментни изоамил спиртини (51%) конверсиялаш 6 соатдан сўнг ўзининг максимумига эришган. Активланган кўмирга иммобилланган ферментни конверсиялаш тезлиги вақт билан пропорционал

тарзда ўсган ва ўзининг максимумини 12 соатдан сўнг, капронга иммобилланган фермент эса 24 соат сўнг намоён қилган. Изоамил спиртини конверсияси 31% ни ташкил қилиб, ферментларни фаоллиги ўз навбатида 24,2 ва 46 бирликни ташкил қилган. Ферментни инкубациялаш вақтини чўзиш изоамил спиртини 58,2% гача конверсияланган бўлсада, ферментни фаоллиги пасайгани кузатилган. Ферментни трансфераз фаоллигини пасайиши кескин эмаслиги иммобилланган ферментни натив ферментга нисбатан барқарор эканлигини кўрсатади. Трансфераз фаолликни пасайиши ковалент иммобилизация жараёнини фермент ва субстрат орасидаги салбий таъсир этиши орқали тушунтирилади.

***Муҳитдаги ферментнинг оптимал концентрацияси.*** Реакцион муҳитда фермент концентрациясини юқорилаши иммобилланган ва натив ферментлар фаоллигига таъсир қилган. Бу омилни ферментларни трансфераз фаоллигига таъсири яъни изоамил спирти конверсияси тезлигига таъсири 4-расмда (ж) келтирилган. Спирни юқори конверсияланиш даражаси (51%) реакцион муҳитда натив ферментни 412 мкг/мл бўлган концентрациясида кузатилган. Фермент концентрациясини 640 мкг/мл миқдоргача юқорилашида ҳам фермент реакцияни катализлаган, лекин ферментни агрегацияланиши туфайли субстрат конверсияси (32%) пастлаган. Иммобилланган фермент билан бу ҳолат ферментни ташувчига бириктирилганлиги туфайли агрегация жараёни бўлмаган ва спирт конверсияси тезлиги фермент концентрацияга боғлиқлиги тўғри чизиқли кўринишга эга бўлган (4-расм. ж, 2 ва 3 эгри чизиқ). Бунда иммобилланган препаратнинг (капронга) 2 мг/мл концентрациясида 120 мкг боғланган фермент бўлиб [Мирзарахметова ва бошқ, 2006], субстрат конверсияси тезлиги 71% ни ташкил қилган. Активланган кўмирга иммобилланган препарат 108 мг миқдорида эса 640 мкг боғланган оксилни ўз ичига олади.

***Спиртли субстратни оптимал концентрацияси.*** Спирт субстратнинг бошланғич концентрацияси фермент-субстрат таъсирлашувида чекловчи омил ҳисобланади. Трансфераз реакцияларда субстрат (суб-органик

муҳитдаги изоамилол спирти) конверсиясини унинг бошданғич концентрациясига боғлиқлиги 4-расмда (д) келтирилган. Ферментнинг максимал фаоллиги (23 Бирлик) 34 мМ бўлган изоамилол концентрациясида кузатилган. Субстратнинг паст концентрацияли муҳитида конверсия бошланғич тезлигини пасайганлигини массалар таъсири қонуни билан ҳамда субстрат концентрациясини 34 мМ дан юқори бўлган концентрацияда бошланғич тезликни пасайиши эса ферментни субстрат (изоамил спирти) орқали ингибирланиши орқали тушунтириш мумкин. Субстрат концентрация оид тадқиқот натижалари Лайнуивер-Берк координатларида тасвирланган (4-расм, е). Олинган натижаларга кўра, натив ферментни Михаэлис-Ментен константаси 10 мМ, капронга иммобилланган фермент учун 20 мМ ва активланган кўмирга иммобилланган препарат учун 30 мМ ни ташкил қилган. Шунини алоҳида таъкидлаш лозимки, коньяк спиртларида изоамил спирти концентрацияси 3-4 г/дм<sup>3</sup> атрофида бўлиб, бу иммобилланган фермент учун оптимал субстрат концентрацияси ҳисобланади.

***Углевод субстратини оптимал концентрацияси.*** Ферментни субстратга (сахароза) таъсири унинг муҳитдаги бошланғич концентрациясига боғлиқ. Сахарозани 0,1 М дан юқори концентрацияси натив ферментни ингибирлаши аниқланган (4-расм, г) ва бу кўрсаткич иммобилланган фермент учун 72 мМ ни ташкил қилган.

***Муҳитдаги этанолни оптимал концентрацияси.*** Сув-органик муҳитда органик фазани бўлиши муҳим аҳамиятга эга. Шунинг учун натив ва иммобилланган ферментларни фаолликларини аниқлаш 30% дан 96% гача бўлган этанол концентрацияларида олиб борилди (4-расм, з). Реакцион муҳитнинг сувли фазаси сифатида натив ва иммобилланган ферментлар учун оптимал рН кўрсаткичига эга ацетат буфери қўлланилган

Этанолни эритувчи фаза сифатида қўлланилиши ҳамда муҳитда этанол концентрациясини оширилиши трансгликозиллаш реакциялари (26% конверсия) тезлигини ошишига олиб келган. Бу эса изоамил спиртини этанолда яхши эрувчанлиги ва натижада изоамилолни фермент каталитик

марказига кириши учун қулай бўлиши билан тушунтирилади. Буни натив инвертаза ферменти билан олиб борилган тажрибада этанол концентрациясини 40% гача кўтарилганда фермент трансфераз фаоллигини юқорилаганини кўриш мумкин (4-расм, з, 1-эгри чизиқ). Бошқа томонидан этанол концентрациясини 40% дан паст бўлган муҳитда изоамилол конверсияси тезлигини пасайиши фермент гидратирланганлик даражасини пастлиги билан тушунтириш мумкин. Имобилланган фермент билан эса фермент фаоллигини этанол концентрациясига боғлиқлиги ўхшаш тавсифга эга бўлиб, изоамил спиртини юқори даражадаги конверсияси (48%) 70% ҳажмдаги этаноли муҳитда (капронга имобилланган фермент учун) ва изоамилолни (42%) конверсияси (активланган кўмирга имобилланган фермент учун) 60% ҳажмли этаноли муҳитда кузатилганлиги ферментларни ковалент имобиллаш уларни барқарорлаштиргани билан боғлиқдир (4-расм, з, 2 ва 3 эгри чизиқлар).

Ўтказилган тажрибалар сув-органик муҳитда имобилланган ферментлар хоссалари ўзгаришини кўрсатиб берди. Масалан, имобилланган препаратнинг рН оптимуми нейтрал (7,0) муҳитга сиқжиган, натив ва имобилланган ферментларни ҳарорат оптимуми ўзгариб 25<sup>0</sup>С ни ташкил қилган. Шунингдек, фермент ташувчига (кўмирга) бевосита (бифункционал агентсиз) имобилланиб, у юқори фаолликни (xxx Бирлик) намоён қилганлиги учун саноатда қўлланиши мумкин. Амалга оширилган тадқиқотлар асосида имобилланган инвертаза асосида сивуш спиртларни биоконверсияси учун оптимал шароитлар аниқланди (7-жадвал).

**7-жадвал**

**Имобилланган инвертаза билан ишловчи биореактор ишлаш режимини технологик параметрлари**

<b>Реактор параметрлари</b>	<b>Кўрсаткичлар</b>
Инкубацион муҳимнинг рН кўрсаткичи	7,0
Муҳит ҳарорати, °С	25-30
Муҳитдаги сивуш спиртларини миқдори (изоамиловый спирт в пересчёте на б.с.), мг/100 см <sup>3</sup>	0,4-1,0

Муҳитнинг спиртлилик даражаси, % хажм.	40-60
Даврий режимда ишлов бериш муддати, соат	12

### 3.4. БАҲАРАОРЛАШТИРИЛГАН ФЕРМЕНТЛАРНИ ОЗИҚ-ОВҚАТ САНОАТИГА ТАТБИҚ ЭТИШ

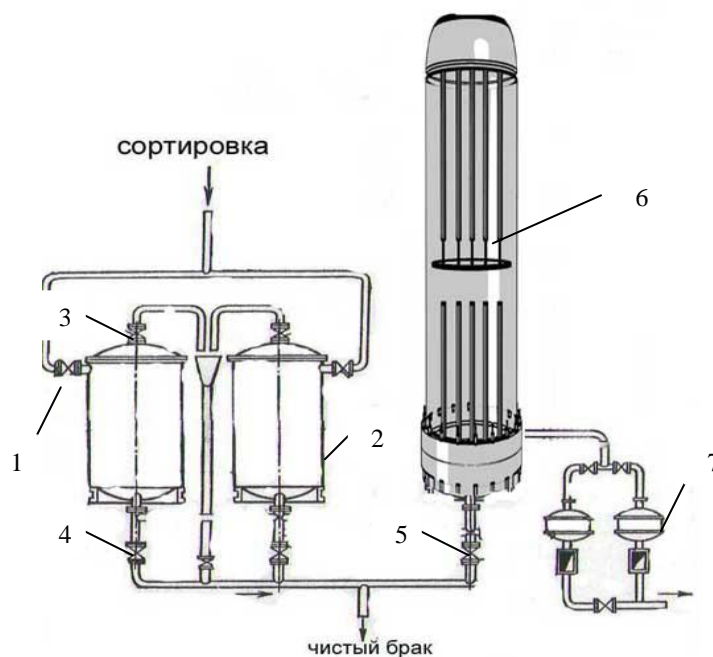
**Инвертазани ликёр ичимликлар тайёрлаш технологиясида қўллаш бўйича тавсиялар.** Имобилланган инвертазани бир қанча юқори спиртларни конверсиялаш хусусиятини ўрганиш мақсадида сортировка (суб-спиртли аралашма, 40% хажм) билан тажрибалар ўтказилди. Бунинг учун “Экстра” спиртига 4 г/л сахароза қўшилган ва конверсияни оптимал шароитларида (7-жадвал) 2 сутка давомида 25<sup>0</sup>С ҳароратда 10 г миқдори 1 дал маҳсулотга нисбатан 16 Бирлик/мг трансфераз фаолликка имобилланган инвертаза билан ишлов берилган сортировка тайёрланди. Солиштирма сифатида эса юқорида кўрсатилган шароитларда БАУ-А кўмири билан ишлов берилган сортировка қўлланилган. Сортировкани ферментатив ишлов берилгандан сўнг органолептик (9-жадвал) ва физико-кимёвий (10-жадвал) хоссаларини таққослаш, бутун бошли технологик жараёндан ўтган “Экстра” спиртидан тайёрланган намунани солиштирма ва тайёр ароқ ичимлигига нисбатан юмшоқ гармоник таъми ва ҳиди билан ажралиб турган.

“Экстра” спиртидан тайёрланган ва имобилланган инвертазадан тайёрланган сортировкани физик-кимёвий баҳоси (10-жадвал) юқори спиртлар миқдорини 2,4 мг/л **б.с.** гача пасайганлигини кўрсатади. Бошқа кўрсаткичлар ўзгаришсиз қолган.

Ферментатив ишлов берилган сортировка “Прима” спиртидан тайёрланган ароқнинг органолептик ва физико-кимёвий хоссаларига яқинлашган ҳамда давлат стандарти бўйича рухсат этилган ичимлик таркибидаги юқори спиртларни миқдоридан 20% га камайган.

Имобилланган инвертаза сивуш спиртларини алкилфруктозидларга трансформациялаши орқали ликёр ичимликларини тозалаш мақсадида қўлланилиши мумкин.

Тавсия қилинаётган усул қўллашда рецепт бўйича тайёрланган сортировка (сортировка ёки купаж – бошқа компонентларни қўшиши ва қўшмаган ҳолдаги спирт ва сувни аниқ нисбатидаги эритма, аров ёки ликёр) таркибидаги кераксиз маҳсулотлардан тозалаш мақсадида БАУ-А дан ўтказилади. 15-расмда модификацияланган активланган кўмирга иммобилланган инвертаза асосида ароқ тайёрлаш схемаси келтирилган. Жараён қуйидагича амалга оширилади: ректификацияланган спирт цистернасида (1) ўз оқими билан автоматик тарзда ўлчов ускунасига (2) келади. Ўлчов ускунасидаги спирт (2) ва юмшатиш сув сақловчисидagi (3) сув ўз оқими бўйича босим бошқаруви асосида танафуссиз аралаштиригичга (6) ва дастлабки тозалаш фильтрига (10), кейинчалик турбулент ҳолатида интенсив равишда аралашув асосида реактор колоннасида (12-13-14) сортировка активланган кўмир билан ишлов берилади. Кўмир билан ишлов берилган сув-спирт эритмаси охириги тозалов фильтри (15) орқали фильтрланади ва тўпловчида (16) тўпланади. Бу ерда бакдан (17) таъмли бирикмалар қўшилади ва аралашма биоузел (19) орқали тайёр маҳсулот тўпловчисига (20) тушади ҳамда қуйиш учун юборилади. Купажни тўла технологик циклда айланиш давомийлиги хона хароратида 12 соатдан кам бўлмаслиги зарур. Бу вақт давомида фермент сортировка таркиби учровчи эриган ҳолдаги юқори спиртларни алкилфруктозидларга айлантиришга улгуради.



**Ачитқи инвертазаси асосида ишловчи биореактор**  
**1-кран; 2-қум фильтр; 3-хаво крани; 4-5 кран; 6- иммобилланган**  
**инвертаза билан тўлдирилган колонка; 7-керамик фильтр.**

Шундай қилиб, юқорида келтирилганларни умумлаштирган ҳолда шу хулоса қилиш мумкинки,мазкур ишда айна пайтда амалда бўлган традицион технологияларга нисбатан бир неча афзалликларга эга бўлган ликёр ичимликларини янги технологияси такомиллаштирилди:

1. Юқори спирт таркибли ичимликларни иммобилланган инвертазали реакторда ишлов бериш, ичимлик таркибидаги сивуш спиртлари миқдорини камайтириш орқали уни гармоник хусусиятини, юмшоқлигини ва экологик тозаллигини таъминлайди.
2. Сивуш спиртлари миқдорини сезиларли даражада камайишини таъминловчи амалдаги технологияни соддалаштириш имконияти пайдо бўлади.
3. Биоузел компакт ва арзон “фильтрловчи система” ҳисобланади.
4. Дастлабки натив инвертазани вино ва спирт заводларида олиш мумкин.
5. Ликёр ичимликлар саноатида юқори сифатига эга махсулотлар ва уларни ассортиметини ошириш имконияти яратилади.

## **Бренди тайёрлаш технологиясида ачитқи эстеразасини қўллаш бўйича тавсиялар.**

Олинган натижалар амалий аҳамиятга эга бўлиб, ферментатив ишлов бериш жараёнида спиртли ичимликлар таркибидаги юқори спиртлар миқдорини камайтириш ва шу орқали ичимликлар сифатини ошириш мақсадларида қўллаш мумкин. Бижғиш жараёнида сезиларли даражада ўткир, ёқимсиз ҳидли ва таъмли, организм учун токсик таъсирга эга сивуш спиртлари тўпланади (300-600 мг/л) (Мартыненко, 2005) ҳамда бу спиртлар ҳайдаш давомида концентрланади ва унинг миқдори брендида энг камида 1,8 г/л га етади.

Иммобилланган эстеразани юқори спиртларни эфирларга конверсиялаш хусусиятини ўрганиш мақсадида ёш коньяк спиртларидан фойдаланган ҳолда тажрибалар ўтказилди. Бунинг учун дистилланган сув ва 2 г/л сахароза қўшилган, 5 сутка давомида 30<sup>0</sup>С ҳароратда 1 литр махсулотга нисбатан 10 г миқдорини дастлабки трансфераз фаоллиги 16 бирлик/мг бўлган иммобилланган ачитқи эстеразаси билан ишлов берилган ёш коньяк спирти (68,1% хажм) асосида купаж (40%) тайёрланди. Солиштирма сифатида эса ферментатив ишлов берилмаган ёш коньяк спирти купажи қўлланилган.

Иммобилланган эстераза билан ишлов берилган коньяк спиртларини органолептик баҳолари (11-жадвал) коньяк спиртларини таъми ва букетини яхшиланганлиги кўрсатиб берган. Шунингдек, ичимликни таъминини сезиларли юмшаганини ва букетида ранг тонини ҳосил бўлганлигини аниқлаш мумкин. Ичимликни оч сариқ ранги ва ўта тахирлиги иммобилланган эстераза препаратини ташувчисига (эман гранулалари) боғлиқ.

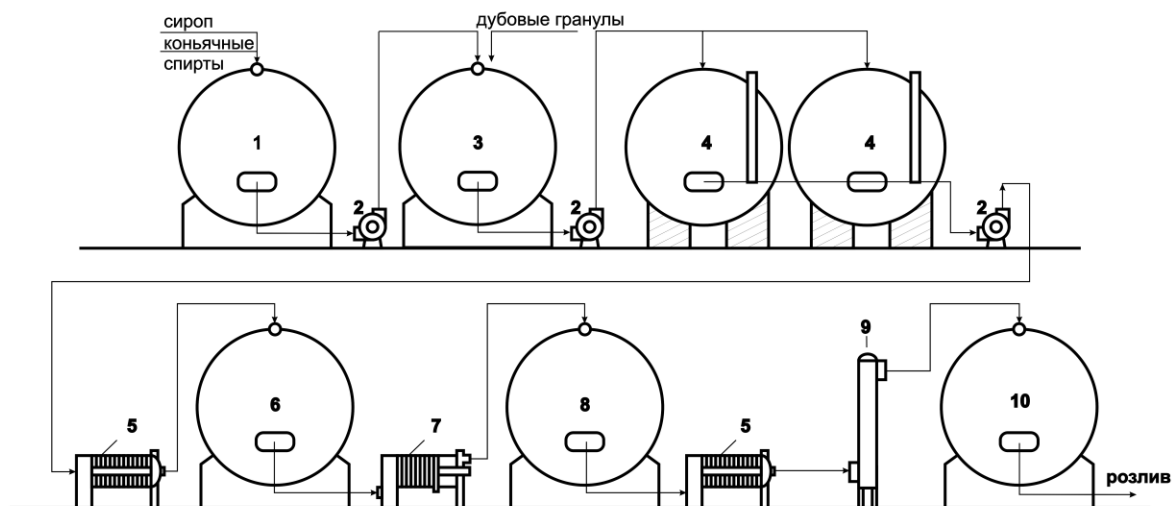
Коньяк спиртлари купажаларини (12-жадвал) ферментатив ишлов берилгандан кейинги физик-кимёвий баҳоси уни таркибидан юқори спиртлар ва учувчан кислоталар миқдорини камайганлигини ҳамда ўрта эфирлар миқдорини ошганлигини кўрсатди. Шу алоҳида таъкидлаш лозимки, купаж таркибида темир концентрациясини сезиларли даражада пасайиши уни эман

гранулаларининг дубил бирикмалари билан боғланиши (Скурихин И.М., 2005) билан тушунтириш мумкин бўлиб, бу брендини барқарорлаштиришда муҳим аҳамият касб этади.

Олинган натижалар бренди тайёрлашда юқори спиртларни эфирларга ферментатив конверсияси натижасида ичимликни сифатини ошириш билан бир қаторда коньяк спиртларини сақлаш муддатларини қисқартиради. Бунинг учун эса ичимлик тайёрлашнинг аниқ бир босқичида, асосан қуйиш жараёнидан олдин коньяк спирти купажи биореактордаги иммобилланган ачитқи эстеразаси фаолияти натижасида юқори спиртларни этерификация реакциялари орқали амалга оширилади.

Юқоридаги жараён қуйидаги кетма-кетликда боради: дастлаб иммобилланган эстераза препарати олинади. Биореактор тайёрланади ва кейинчалик иммобилланган эстераза препарати билан тўлдирилади. 40% хажм эга коньяк спирти купажга рецепт бўйича инградиентлар қўшилади ва иммобилланган препарат тўлдирилган биореакторга юборилади.

Технологик схемага биноан (16-расм), коньяк спиртлари дастлаб купаж резервуарига (1) юборилади ва унга спиртни сувдаги эритмаси ҳамда шакар сиропини қўшиб, уни купаж резервуарида 1-2 кун сақланади. Мазкур жараён купажни таркибий қисмлари мувозанатини ўрнатиш учун зарур. Кейинчалик купаж танаффуссиз оқим билан цистернага (3) юборилади ва эман гранулалари (5 г/дал) билан ишлов берилади. Ушбу жараёнда 1 ойлик муддатда купаж ичимлик учун зарур бўлган экстрактивлик ва рангга эга бўлади. Муддат тугагач, купажга танаффус (4) берилади, филтрланади (5), қабул қилувчи резервуарга (6) юборилади,  $-2-3^{\circ}\text{C}$  ҳароратда ишлов берилиб (7),  $-3-5^{\circ}\text{C}$  ҳароратда (5) филтрланади ва иммобилланган эстераза (9) тўлдирилган биореакторга юборилади.



**16-расм. Имобилланган эстераза асосида бренди тайёрлашнинг технологик схемаси**

1-купаж резервуари, 2-насос, 3-дуб гранулалари билан ишлов бериш цистернаси, 4-купажга дам бериш цистернаси, 5-фильтр, 6-қабул қилиш резервуари, 7-совутгич, 8-совуқ билан ишлов бериш цистернаси, 9-иммобилланган эстераза тўлдирилган биореактор, 10- қабул қилиш резервуари.

Купажга ишлов бериш биореактор (9) ишлаши учун аниқланган оптимал шароитларда (8-жадвал) олиб борилади. Юқорида келтирилган купажга ишлов бериш усулида уни таъм кўрсаткичлари яхшилашади. Кейинчалик тайёр маҳсулот қабул қилувчи резервуарда (10) тўпланади ва куйиш учун юборилади.

Бренди тайёрлаш технологиясини такомиллаштириш учун ишлаб чиқилган мазкур усул айна пайтда қўлланилаётган технологиялардан куйидаги афзалликларга эга:

- коньяк спиртлари купажларини иммобилланган эстераза тўлдирилган биореакторда ишлов бериш, юқори спиртлар миқдорини камайтириш билан бир қаторда ичимликни гармоник хусусияти, юмшоқлиги ва гигиеник хоссаларини таъминлайди;
- коньяк спирти таркибидаги юқори спиртлар миқдорини бошқариш имконияти пайдо бўлиб, шу асосида сифатли бренди ишлаб чиқарилади;

- технологик схемадаги биоузелъ иммобилланган эстераза тўлдирилган биореактор бўлиб, компакт ва арзон ҳисобланади;
- иммобилланган препаратни олиш жараёни вино заводларида амалга оширилиши мумкин;
- ферментатив ишлов берилган ёш коньяк спиртлари асосида спиртли ичимликлар ишлаб чиқариш ва уларни ассортиментини ошириш имконияти юзага келади.

## ХУЛОСА

1. Инвертаза кимёвий модификацияланган капрон ва активланган кўмирга ковалент иммобилланди. Иммобиллаш жараёни рН 7,6 шароитида натрий боргидриддан иштирокида 24 соат давомида (4<sup>0</sup>С) 1 г ташувчига дастлабки фермент миқдори 1,2 мг бўлган муҳитда амалга оширилди. Бунда умумий фермент миқдорини 50% ташувчига боғланган бўлиб, 1 г иммобилланган инвертаза препаратини фаоллиги 225,5 бирликни ташкил қилган. Эстераза эса кимёвий модификацияланган эман гранулаларига ковалент иммобилланган. Ферментни иммобиллаш муҳит рН кўрсаткичи 7,5 бўлган шароитда 24 соат давомида (4<sup>0</sup>С) 1 г ташувчи учун 30 мг фермент миқдори нисбатида олиб борилди. Ушбу жараёнда умумий фермент миқдорини 56% қисми ташувчи билан боғланган бўлиб, 1 г иммобилланган эстераза препаратини фаоллиги 16 бирликни ташкил қилган.

2. натив ва иммобилланган инвертаза ферментларини сув ва сув-органик муҳитдаги хоссаларини ўрганиш, сув-органик муҳит ферментлар трансфераз хусусиятларини ўзгартирган. Иммобилизация ферментни сувли муҳитда субстратни оптимал концентрацияга (62,5 мМ) таъсир қилмаган бўлсада, трансфераз реакцияларда ферментни оптимал спиртли субстрати (изоамилол) натив фермент учун 30 мМ ва иммобилланган фермент учун 70 мМ ни ташкил қилган. Иммобилланган ферментни трансфераз реакциялар учун  $K_m$  кўрсаткичи уч маротаба юқори кўрсаткични қайд қилиб, 30мМ эканлиги ҳамда препаратни трансфераз реакциялар ўтказиш учун оптимал вақт давомийлиги 2 маротабага ўсиб 12 соат эканлиги аниқланган. Натив фермент учун изоамилолни максимал конверсияси (26%) 40% этанолли муҳитда кузатилган бўлса, иммобилланган фермент учун шу кўрсаткич 60% этанолли муҳитда 40% ни ташкил қилган.

3. Этанол-сув модел системасида иммобилланган эстераза юқори спиртларни эфирларга айлантиришини оптимал шароитлари қуйидагича: рН-оптимум-6,0, спиртли (изоамилол) субстратни оптимал концентрацияси - 30 мМ, кислотали (капрон кислота) субстратни оптимал концентрацияси -30

мМ, ферментни оптимал инкубациялаш вақти – 48 соат. Изоамилол спиртини максимал (48%) конверсияси 40% хажм этанолли муҳитда кузатилган. Этанол-сув модел системасида ачитки эстеразаси ёрдамида ферментатив переэтерификация реакцияси учун этил эфирининг л қи(этилбутират) оптимал концентрацияси 30 мМ ни ташкил қилган.

4. Ферментларни субстрат спецификлиги аниқланиб, унга кўра, инвертаза ва эстераза ОН-гурухи  $\alpha$ -холатда бўлган спиртларга нисбатан фаол бўлган. Биринчи углерод атомидаги ОН-гурухини фазовий жойлашуви, углерод занжирини шохланганлиги ва иккиламчи углерод атомларини спирт гидроксил гурухидан ажралганлиги ферментни субстратни “таниш” критерияси деб ҳисобланди. Эстераза изоамил (42,4 бирлик/мг) ва изобутил (24 бирлик/мг) спиртлари каби изо-формага эга спиртларга нисбатан юқори фаолликни ва спецификлигини намоён этган. Фермент бренди букетини ҳосил бўлишда муҳим аҳамиятга эга ёғ (36 бирлик/мг), **изовалериан** (30 бирлик/мг), капрон (16 бирлик/мг) ва каприл (8 бирлик/мг) каби учувчан кислотали субстратлар муҳитларида ферментнинг юқори фаоллиги кузатилган.

5. Имобилланган инвертаза иштирокида сортировка таркибидаги юқори спиртларни алкилфруктозидларга ва брендини имобилланган эстераза ёрдамида ишлов бериш натижасида юқори ҳароратда қайновчи эфирларни синтезлашнинг усули ишлаб чиқилди. Ароқ ва бренди тайёрлашни технологик схемасига мос келиши учун модел системада имобилланган ферментлар асосидаги биореакторни ишлаши учун оптимал кинетик кўрсаткичлар аниқланди. Юқори спиртларни алкилфруктозидлар ва эфирларга трансформацияланиши қонуниятлари амалиётдаги намуналар ва модел системадаги натижалар бир-бири билан мос келган.

6. Кутилаётган иқтисодий самарадорлик имобилланган эстераза асосида 100 минг дал бренди ишлаб чиқариш коньяк спиртларини сақлаш муддатини қисқартириш орқали йилига 168 млн сўмни ташкил қилади.

## Ф О Й Д А Л А Н И Л Г А Н   А Д А Б И Ё Т Л А Р

1. Петропавловский Г.А. Гидрофильные схастисхно замесхенние эфири селлюлози и их модификация путём химисхеского ссхивания. – Л.: Наука. 1988. – 295 с.
2. Битенский В.Я., Кузнецова е.П. Производство эфиров селлюлози. – Л.: Химия. Ленингр.отд-ние. 1974. – 208 с.
3. Даствлабки патент ИН ДР 9300391.1 С 08 В 11/12 УЗ(ИИ) 2005 Алимов А.А., Муинов Б.Х., Абдуллаев Б.А.
4. Тесхниостурита унд Усоаре, 2-а, Бусхарест, елегере реферате, Техтил, 1957, п.350.
5. Усманов Х.У., Минина В.С., Зарипова А.М. Перспективи химисхеской переработки отходов хлопководства, Тасхкент: Наука, 1964. -126с.
6. Брилев А.Н., Камалиддинова Н.В., Садовская И.И. Модифицированние полуфабрикати для полусхения бумаги на основе местных однолетних растений.// Материали н/т конф. посвясх. к 10 летию незаввис.РУз. Институт химии и физики полимеров АН РУз. Тасхкент 2001. – С.78
7. Тимохин И.М., Финкелсхтейн М.З., Иссерлис В.И., Нагиев В.Н. Производство карбоксиметилселлюлози моноаппаратним методом. Журнал Всесоюзного обсхества им. Д.И.Менделеева «Хим. наука и промисхленност», 1971, №9, с.667-669.
8. Карник М.Г., Схарма О.П. Селлулосе гумс фром сал (Схореа робуста) барк анд Бамбоо (Дендроаламус атринус), 2 «Индиан Пулп анд Папер», 1968, 8 п.451-453.
9. М.М.Мурадов, Сх.С.Арсланов, М.Т.Мухамеджанова, Г.Р.Рахманбердиев Надмолекулярная структура и касхественные показатели селлюлози разлисхного происхождения, //ж. Композиционние материали, 2006, №2, С.16-18.
10. Миркамилов Т .М. Исследование влияния условий химисхеской осхистки сиклонного пуха и короткосхтапелного линта на химисхеский состав полусхенной селлюлози и ее пригодност для переработки на

ацетилселлюлозу и высококачественную бумагу. Автореф. дис. канд. техн. наук. Ленинград, 1966, 26 с.

11. Тисхабаев У. Влияние технологического режима полусухания целлюлозы из хлопкового лinters на ее химический состав и реакционную способность и вискозобразование. Дисс. канд. техн. наук. Ташкент, 1970. 117 с.

12. Муинов Б.Х., Алимов А.А., Ахмедов К.С. Кинетика ингибирования термоокислительной деструкции водорастворимого полимера. // Доклады АН УзССР. 1985. №3. С. 34-35.

13. Роговин З.А. химия целлюлозы. М: "Химия" – 1972

14. М.Аскарлов, Б.Ойхўжаев, А.Аловуддинов. «Полимерлар химияси» Ташкент. 1981.

16. Полусушение микрокристаллической целлюлозы путем деструкции щелочной целлюлозы. Агаки Цунао, Нагадусхи Рейко, Янака Тосхийки. Препаратион оф микрорйсталлине алл лосе бй агинг алкали еллулосе. – Кобунсхи кагаку. Схемистрий оф хигх полймерс, 1972, вол. 29, Н 9(329), П. 147-651/ РАИ химия, 1973, 7 с483. С.А, 1973, # 4, 1786 С.

17. Полусушение микрокристаллической целлюлозы путем окислительной деструкции целлюлозы окисляющими агентами. Агаки Цунао, Ямаусхи, Мтура Хлаал. – кобунсхи кадаки, схемистрий оф хигх полймер, 1972, вол. 29, Н9(329), п. 652-656, 670. ПАИ химия, 1973, #12. -С 638.

18. Удобный метод получения порошкообразной микрокристаллической целлюлозы. Босе Б, Калкарний В.Р, Ингле Т.Р, Босе Ж.Л. А онвениент метход фор препаратион оф микрорйсталлине еллулосе powder. – We сеарсх анд Индустрй. 1972, вол. 17, Н3, п, 89-9. РЖ химия, 1973, 20. -С 432.

19. Способ полусушения микрокристаллической целлюлозы. Тосхков Т.С. , Господинов Н.Р., Видимски е.П. А.С 9462(НРБ). Метод за полусухаване на микрокристаллическая целлюлоза. – Опубл . 25, 06, 75. РЖ химия, 1979, 23. –С.8.

20. Оценка возможности микрокристаллической целлюлозы, полусушенной из абсорбирующего ялопка, в качестве наполнителя для таблетированных препаратов. Баисхвал М.Р., Гупте А.Й. Эволюцион оф микрорйсталлине

селлулосе препаред фром абсорбент оттон ас он эхипиент ин таблет формулатионс. –Индиан Ж. оф Пхармай, 1975. вол. 37 Н4, П. 81-84(анг). РЖ Химияб 1976, И.9 –П. 279.

21. Способ полусхения микрокристаллической селлюлозы. Жаопиан В., Соблерсхер Х., Пхиллип Б, Андрес W, Памю 98324юВерфахрен зур бераталлунг вон мирорйсталлине еллулосе. –Онйбл. 12.06.73. РЖ химия, 1984, Т.8. –С. 393.

21. Способ полусхения микрокристаллической селлюлозы. Патерй И, Сзатморй Э, Ланг Б, Пам 168389. Элжарас мирорйстальс селлулосе алоатлилаеара. –Опубл. 31.03.77. РЖ химия, 1978, Т. 4. –П. 35.

20. Рахманбердиев Г.Р., Мурадов. М.М. «Полусхения селлюлозы из отходов древесины тополя среднеазиатского региона» Тезиси докладов международной конференции по химической технологии. –Москва, 2007. Том 5. –С. 166-167.

21. Гранкин Ю., Болсхова Н., Мутовина М., Самсонов Н. Изменение структуры древесины березы в процессе полусхения селлюлозы двухступенчатим кислородно-схелосхним способом с использованием  $Mg(OH)_2$ . // Химия древесины. -1988. -№1. – С.48-55.

22. Способ полусхения микрокристаллической селлюлозы. Турасй А.Д , Данет В. Пам 80064. Проедеу пентрий обтинереа еллулосе мироризате. – Опубл. 30.01.77. РЖ химия, 1978, 23 ТЗЗП.

23. Способ полусхения модифицированных микрокристаллических селлюлозных продуктов. Косх С, ласзкиевз Б, Струсзйк Х, Седлека П, Орозде Х. Пам. 105030. Способ вйтварзаниа модификованйсх мирокристаллизнйсх продутион селлулосе вйсх. –Опубл. 31.12.79. РЖ химия, 1980, Т.22, -П.198.

24. Микрокристаллическая селлюлоза в насхестве среди для лекарств. Такого Химикико. Аоянаги Тесуя, Тамада Акимицу. Заявка 54-20126 (Япония). –Опубл. 15.02.79. РЖ химия, 1980, -П. 283.

25. Виделения и изусхания кристаллисуеских фраксий растителних материалов. Предварителная обработка и гидролиз. Солер А.А, Гомез П.Д, Бодало С.А , Аппрохиматион ал аистамиенто й студио дела фраион ристалина де мотериалес вегаталес. Гене алидадес э хйдролйсис. – Инвестигаион й тесхиа дел папел, 1979, вол. 16, -П. 321.
26. Способ полусхания микрокристаллисуеской селлюлози, исползуемой для изоготовления назкакалорийних писхевих продуктов и сперсхий. Мателла В, Доусова Ж, Вондакова С, Тисхка Т, А. 182527. Жпусоб вйробй микрокрйсталлике еллулозй, входне зежмене про приправу потравин с низкоу энергетикоу вйдатности а жинйсх потравин а пасхутион. –Опубл. 15.04.80. Химия, 1981, -Т.4. –П. 299.
27. Способ полусхание микрокристаллисуеской селлюлози. Косх С, Залевски С, Следлека П, Скорак З, Грудук Р, Пам 112067. Способ вйтварзанта селлулосе микрокристаллизе. –Опубл. РЖ химия, 1982, Т.22. –П. 28.
28. П.Тожиев., М.Муродов. «Иследование свойств волокнистых полуфабрикатов предназначасхенних для полусхания На-КМС» // Кимё ва кимё технологияси журнали. – Тосхкент, 2010. -№2. – С. 55-58