

**«Глюкоза мен сорбиті алу мақсатында бидайдың сабанындағы
полисахаридтер деполимеризациясының ферментативті технологиясын
жасау» тақырыбындағы
Махатова Жақсылық Бауманұлының
6D070100-«Биотехнология» мамандығы бойынша философия
докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алуға диссертациялық жұмысқа**

АНДАТПА

Диссертациялық зерттеудің жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыста кезектегі сорбит алынатын, глюкоза алу мақсатында мицелиалды саңырауқұлақтар карбогидраздарымен бидай сабанын тиімді ферментативті деполимеризациялауды жасау қарастырылады.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Қазақстанда ауылшаруашылығы дақылдарының ішінде өсіру көлемі бойынша бидай алдыңғы орындарда тұрады. Мысалы, бидай өнімін жинау 2018 жылы 32 млн. тонна, 2019 жылы 33 млн.тоннаға жуық, ал қалдықтар (бидай сабаны мен бөлінділер) 12-15 млн. тонна/жылына құрайды. Осы қалдықтардың жыл сайын жаңартылуы, төменгі бағасы, көп көлемі, олардың негізгі құрылымдық құраушысы, целлюлоза ферментациясына негізделген конверсиясының биотехнологиясын жасау қажеттілігі пайда болады. Ферменттердің кең алуантүрлері бидай сабанының өсімдік шикізатын биологиялық бағалы заттар, қанттар мен басқа өнімдерге тиімді қайта өңдеуге мүмкіндік береді.

Қазіргі уақытта, бидай сабанын қайта өңдеудің көптеген түрлері болуына қарамастан, олардың көп бөлігі өңдеусіз, қалдық түрінде қалады. Бидай сабанының бір бөлігі малдарды азықтандыру және жануарларға төсеніштер ретінде қолданылады, қалған бөлігі алқаптарға жайылады немесе өртеледі. Өндірістердің әртүрлі бағыттары үшін бидай сабаны бастапқы шикізат ретінде келешегі бар болып табылады.

Осыған байланысты, бидай сабаны полисахаридтерін деполимеризациялаудың ферментативтік технологиясын іздеу ерекше қызығушылық танытады.

Нәтижесінде, глюкоза мен сорбиті алу мақсатында бидай сабанын көмірсуларға дейін кешенді қайта өңдеуді жасау, экологиялық жағдайды жақсартуға ғана емес, сонымен қатар, өнеркәсіп және ауылшаруашылығы үшін шикізат пен бағалы қосымша өнімдер алуға мүмкіндік береді.

Зерттеудің мақсаты мен міндеттері.

Жұмыстың мақсаты – тікелей ферментативтік гидролиздеумен глюкоза мен сорбит алуға негізделген бидай сабаны полисахаридтерін тиімді биотехнологиясының деполимеризациялау технологиясын жасау болып табылады.

Қойылған мақсатқа жету үшін келесі міндеттерді шешіледі:

- микробиологиялық зерттеулер нәтижелері негізінде келешегі бар целлюлаза штаммдар-продуценттері скринингін жүзеге асыру және

микроағзалар консорциумының көмегімен ферменттер биосинтезінің процестерін қарқындату;

- тендестірілген ферменттік кешен алу мақсатында қоректік ортаның оптималды құрамын және штаммдарды өсіру жағдайларын таңдау;

- гидrolитикалық ферменттер кешенін бөлудің және тазартудың тиімді әдістерін жасау;

- бидай сабанын терең және кезеңмен деполимеризациялау үшін жоғары тиімді мультиэнзимдік композицияны алудың технологиясын жасау;

- сорбит және глюкозаның көп шығымын алу мақсатында бидай сабаны полисахаридтерін деполимеризациялау үшін ферментативтік өндеудің жағдайлары мен технологиясын жасау.

Зерттеу нысандары. Түркістан облысы топырағынан алынған, М.Әуезов атындағы ОҚМУ-нің, «Биотехнология» кафедрасының зертханасында бөлінген, *Aspergillus* тегіндегі мицелиалды саңырауқұлақтар пектиназдың микробиальды көздері қызметін атқарады, Өзбекстан Республикасы, Ғылым Академиясының Микробиология институтының «Микробтық ферменттер» зертханасында алынған *Penicillium* и *Trichoderma*. Целлюлолитикалық ферменттердің көздері *A.awamori F-RKM 0719* және *Tr. viride 121* штаммының бірлескен түптік өсіру нәтижесінде алынған *Целлозим Г20х* микроағзалар қауымдастығы, ақылы препараттар: *Cellic CTec (Novozym, Дания)*, *Accellerase 1000* және *Accellerase DUET*.

Сонымен қатар, зерттеу нысаны ретінде Түркістан облысында өсетін және аудандастырылған, бидайдың «Стекловидная-24» сортынан алынған.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

Глюкоза мен сорбит алу мақсатында бидай сабаны полисахаридтерін тиімді деполимеризациялау үшін, целлюлаздық, ксиланаздық, β -глюканаздық, пектназдық әсері бар ферменттер көздері-жаңа жоғары белсенді ферменттік препараты «*Целлозим Г20х*» алудың биотехнологиясы жасалынған.

Зерттеу процесінде *Tr. viride 121* және *A. awamori F-RKM 0719* штаммдарының целлюлолитикалық ферменттердің микроағзалар-продуценттері қауымдастығы жасалады, онда олар целлюлолитикалық белсенділіктің, жанама ферменттер белсенділігінің жоғарлауын қамтамасыз етеді. *Tr. viride 121* және *A. awamori F-RKM 0719* микромицеттерін культивирлеудің оптималды жағдайлары таңдалады және өсіру үшін қоректік ортаның оптималды құрамы анықталады.

Tr. viride 121 және *A. awamori F-RKM 0719* микромицеттер қауымдастығының ферменттік кешенінің каталитикалық белсенділігін және тұрақтылығын жоғарлату мақсатында бөлу және тазарту әдістері жасалады, нәтижесінде жоғарғы тазартылған дәрежесі бар *Целлозим Г20х* ферменттік препараты алынады.

Жұмыстың практикалық және теориялық маңыздылығы. Целлюлолитикалық ферменттер микроағзалар-продуценттер қауымдастығы-*Tr. viride 121* және *A. awamori F-RKM 0719* штаммдарын қолдану

нәтижесінде 2,2 % дейін глюкоза мен сорбит алуға мүмкіндік беретін және бидай сабаны полисахаридтерін ферменттермен өңдеудің оптималды параметрлерін қамтамасыз ететін, пайдаланылатын ферменттік препарат «Целлозим Г20х» (микроағзалар қауымдастығы) алудың тиімді технологиясын жасау және тәжірибелік негіздеу болып табылады.

Жұмыстың теориялық маңыздылығы өсімдіктердің ауылшаруашылық өндірісінің қалдықтарынан полисахаридтер өндірісі кезінде жоғары тиімді целлюлолитикалық ферменттік препараттар «Целлозим Г20х» (микроағзалар қауымдастығы) алу және қолданудың биотехнологиялық негіздері туралы түсінікті кеңейтуге негізделеді.

Ғылыми-зерттеу жұмыстарының нәтижелері Қазақстанда биологиялық белсенді өнімдер өндірісі бойынша маманданған мекеме, биотехнологиялық өндіріс «Ана-жер» ЖШС енгізілген.

Жұмыс «Бидай сабанынан глюкоза алу әдісі» №3429 пайдалы моделіне патентпен қорғалған.

Диссертациялық жұмыстың негізгі жағдайлары оқу процесінде «Biotechnology of microorganisms» пәнінде қолданылады.

Зерттеудің негізгі тұжырымдамалық ережелері мен нәтижелерін докторанттар, магистранттар, биологиялық, биотехнологиялық, экологиялық және медициналық бағыттағы бакалаврлардың оқу үдерісінің арнайы курстарын дайындауда, сонымен қатар, ғылыми еңбектерді, оқулықтар мен оқу-әдістемелік құралдарды дайындауда қолдануға болады.

Қорғауға шығарылатын диссертацияның негізгі жағдайлары

- целлюлолитикалық белсенділіктің, жанама ферменттер белсенділігінің жоғарлауын қамтамасыз ететін, келешегі бар целлюлаз штаммдар-продуценттер мен *Tr. viride 121* және *A. awamori F-RKM 0719* штаммдарының целлюлолитикалық ферменттердің микроағзалар-продуценттері қауымдастығының скринингі;

- продуценттердің физиологиялық қажеттілігін және қоректік ортаның құраушысы ретінде әртүрлі тағамдық қалдықтарды қолданумен, теңдестірілген ферменттік кешеннің көп түзілуін қамтамасыз ететін, өсіру жағдайлары, қоректік орта құрамы және технологиялар;

- «Целлозим Г20х» (микроағзалар қауымдастығы) кешенді ферменттік препаратын алу технологиясы және сипаттамасы.

- бидай сабаны полисахаридтерін ферменттік өңдеудің оптималды параметрлері, «Целлозим Г20х» (микроағзалар қауымдастығы) ферменттік препаратты қолдану технологиясы және жаңа ферменттік препараттардың бидай сабанын деполимеризациялау тиімділігіне әсерін салыстырмалы бағалау.

Қорытынды:

1. Бастапқы шикізаттан 2,2% дейін глюкоза мен сорбит шығымын қамтамасыз ететін, жаңа «Целлозим Г20х» (микроағзалар қауымдастығы) ферменттік препаратты қолдану негізінде бидай сабаны полисахаридтерін ферментативтік деполимеризациялаудың тиімді биотехнологиясы жасалады.

2. Скрининг нәтижесінде саңырауқұлақтардың 46 штамдарынан 24 культура алынады, оларды алуда селективті қоректік орталарда сатылы іріктеу әдісін қолданумен, *A. awamori F-RKM 0719* және *Tr. viride 121* саңырауқұлақтардың келешегі бар культуралары анықталады. Құрамында карбогидраздың бес өкілі бар, целлюлолитикалық ферменттер кешенін синтездеу бойынша культуралық-морфологиялық және биохимиялық ерекшеліктері зерттеледі.

3. *Tr. viride 121* және *A. awamori F-RKM 0719* штамдарының целлюлолитикалық ферменттердің микроағзалар-продуценттері қауымдастығы жасалады. Синергетикалық әсер ету есебінен саңырауқұлақтар қауымдастығының өнімділігі 30-70% жоғарлаумен, уақыт аралығында кезектегі қосумен *A. awamori F-RKM 0719* және *Tr. viride 121* саңырауқұлақтарын бірге өсіру үшін қоректік ортаның оптималды жағдайлары мен құрамы анықталады.

4. *Tr. viride 121* және *A. awamori F-RKM 0719* штамдары қауымдастығының ферменттік ерітіндісінің жоғарғы тазалану дәрежесі нәтижесінде жаңа «Целлозим Г20х» (микроағзалар қауымдастығы) ферменттік препараты алынады. «Целлозим Г20х» препаратының физика-химиялық қасиеттері зерттеледі, 30°C-тан 70°C дейінгі температурада бидай сабаны ферментативтік гидролизі және 50°C температура кезінде ферменттік препараттың әсері мен тұрақтылығының оптималды параметрлері анықталады.

5. «Целлозим Г20х» кешенді препаратынан Сефадексте гелді-құбырлы хроматография жолымен жоғарғы тазалану дәрежесі бар β -1,4-эндоглюканаза алынады және 7,5 ПААГе ЭФ әдісімен «Целлозим Г20х» құрамында молекулалық массалары 35-36 кДа аралығындағы эндоглюканазаның 3 түрі анықталады.

6. Ферменттік препараттардың микрокристалды целлюлоза (МКЦ), карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ), ксилан, пектин гидролизі кезінде салыстырмалы бағалау көрсеткендей, меншікті белсенділіктің белсенділіктері және мәндері бойынша бізбен алынған *A. awamori F-RKM 0719* және *Tr. viride 121* саңырауқұлақтар негізіндегі Целлозим Г20х мультиэнзимді композиция, *Genencor International PS A03143-1.1EN Optiflow RC 2.0* и *PS A03197-1.0EN Acellerase CB100* ұқсас қасиеттермен ақылы препараттардан жоғары болады.

7. Өндірістік тәжірибелік сынақтарда ферменттік препарат «Целлозим Г20х» 2,2 % дейін глюкоза мен сорбиттің жоғарғы шығымы бар бидай сабаны биоконверсиясы кезінде тиімділігі анықталады.

Зерттеу нәтижелерін жариялау. Диссертация тақырыбы бойынша 15 ғылыми жұмыстар жарияланды, оның ішінде Scopus халықаралық мәліметтер базасындағы журналда мақалалар - 2, ҚР БҒМ Білім және ғылым саласындағы бақылау комитеті ұсынған басылымдарда мақалалар - 3, халықаралық конференцияларда мақалалар мен тезистер 7, пайдалы модельге патент 1.

Диссертацияның құрылымы мен көлемі. Диссертациялық жұмыс кіріспе, отандық және шетелдік ғылыми-техникалық және патенттік әдебиеттерді шолудан, тәжірибелік бөлімнен, пайдаланылған әдебиеттерден, қорытынды мен қосымшалардан, 121 беттен, 37 суреттер, 24 кестелерден тұрады. Әдебиеттер тізімі 161 көздерден тұрады.

Диссертациялық жұмыс ҚР БҒМ грантымен 2015-2017 жылдары қаржыландырумен «Тікелей бірлескен химиялық және ферментативтік гидролитикалық гидролиз және гидрлеумен ксилит пен сорбит алу мақсатында құрамында көмірсулар бар өсімдіктер шикізатын терең қайта өңдеудің инновациялық технологиясын жасау» тақырыбындағы жобасы (03.03.2017ж. №203-35 келісім-шарт бойынша) аясында орындалады.