

М.Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті

ОӘД 577.114.083:6644.162:636.085.66.

Қолжазба құқығында

МАХАТОВ ЖАҚСЫЛЫҚ БАУМАНҰЛЫ

**Глюкоза және сорбиті алу мақсатында бидайдың сабанындағы
полисахаридтер деполимеризациясының ферментативті технологиясын
жасау**

6D070100 - Биотехнология

Философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Ғылыми жетекшісі:
Б.Ш. Кедельбаев
т. ғ. д., профессор
П. Либерцайт
ж.ғ.д., профессор
Вена университеті,
Австрия

Қазақстан Республикасы
Шымкент- 2020

МАЗМҰНЫ

	беттер
НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР.....	4
АНЫҚТАМАЛАР МЕН ТЕРМИНДЕР.....	5
БЕЛГІЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР	6
КІРІСПЕ.....	7
1-тарау ӘДЕБИ-АНАЛИТИКАЛЫҚ БӨЛІМ	13
1 ҚҰРАМЫНДА ЦЕЛЛЮЛОЗА БАР ШИКІЗАТТЫ	
ФЕРМЕНТАТИВТІ ГИДРОЛИЗДЕУ ПРОЦЕСІНІҢ	13
ТЕХНОЛОГИЯЛЫҚ АСПЕКТІЛЕРІ, РЕАКЦИЯ	
ӨНІМДЕРІ, САБАН ЦЕЛЛЮЛОЗАСЫНЫҢ	
КОНВЕРСИЯЛАУ ТӘСІЛДЕРІ	
1.1 Құрамында целлюлоза бар шикізатты ферментативті	13
гидролиздеу процесінің технологиялық аспектілері	
1.1.1 Қазақстанда полисахаридті шикізатты биотехнологиялық қайта	13
өңдеу келешегі	
1.1.2 Өсімдік шикізатының полисахаридтерін қайта өңдеуге	
байланысты технологиялық мәселелер	15
1.1.3 Бидай сабанын қайта өңдеу технологиясы ның негіздері	17
теориялық және практикалық негіздері (бидай сабаны)	
1.2 Өсімдік шикізаты құраушыларын ферментативті гидролиздеу	21
негіздері және глюкоза мен сорбит алу	
1.2.1 Бидай сабанының құрылымдық сипаттамалары	21
1.2.2 Бидай сабанының полисахаридтерін қайта өңдеу кезінде	
ферментті препараттарды қолдану	27
1.2.3 Бидай сабанындағы полисахаридтерінің деполимеризациясында	
мультиэнзимді композицияларын қолданудың	29
артықшылықтары	
1.2.4 Глюкоза және сорбит алу үшін бидай сабаныны	
полисахаридтерінің ферментативті гидролизі	31
1.2.5 D- сорбитті алудың биотехнологиялық тәсілдері	32
1.2.6 Құрамында көмірсулар бар өсімдік шикізаты мен	
лигноцеллюлозды қалдықтарының химиялық және	39
ферментативті (гидролитикалық) гидрлеу мен гидролизінің	
катализаторлары	
2-тарау НЫСАНДАР, ШИКІЗАТ ПЕН МАТЕРИАЛДАР,	
ТӘЖІРИБЕЛІК ҚОНДЫРҒЫЛАР МЕН ТӘЖІРИБЕЛЕР	44
ЖҮРГІЗУ ӘДІСТЕРІ	
2.1 Зерттеу нысандары мен материалдар	44
2.2 Тәжірибелік зерттеулер әдістемесі	45
2.3 Ферментативтік белсенділікті анықтау әдістері.	47
2.4 Микроағзалар- продуценттер ферменттер скринингі	50
2.5 Бидай сабанын ферментативті деполимеризациялау кезінде	
глюкоза мен сорбит алу	

2.6	Ферменттерді бөлу және олардың кезеңдері	
3-тарау	ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ	53
3.1	Мицелиалды саңырауқұлақтар арасындағы целлюлолитикалық ферменттерді алудың скринингі және салыстырмалы сипаттамасы	53
3.2	Целлюлолитикалық ферменттер кешенін алу үшін микроағзалар қауымдастығын жасау	56
3.3	Микроағзалар қауымдастығымен синтезделген ферментативтік кешеннің сипаттамасы	60
3.4	Қоректік орта құрамы мен культивирлеу жағдайларына байланысты целлюлаз кешенін биосинтездеуді реттеу	60
3.5	Жоғары белсенді мультиэнзимді композицияны алу және тазарту	69
3.6	Саңырауқұлақтар қауымдастығының гидролитикалық ферменттерінің кешенді препаратын алу және олардың сипаттамасы	72
3.7	Өндіріс үшін Целлозим Г20х мультиэнзимді композициясы дайындаудың технологиялық сызбасын жасау	79
3.8	Бидай сабанының полисахаридтерін кешенді қайта өңдеуді жасау	84
3.9	Бидай сабанының полисахаридтерін ферментативті өңдеу нәтижелері	89
3.10	Бидай сабанын ферментативті гидролиздеу кезінде глюкоза және сорбит алу	92
3.11	Бидай сабанының ферментацияпроцесінің кинетикасы	100
	ҚОРЫТЫНДЫ.....	107
	ҚОЛДАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ	110
	ҚОСЫМШАЛАР.....	123

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР

Осы диссертацияда келесі стандарттарға сілтемелер қолданылады:

«Ғылым туралы» Қазақстан Республикасының заңы №407-IV 3 ҚР 18.02.2011 ж.;

ҚР МЕЖББС 5.04.034-2011. Қазақстан Республикасының білім берудің Мемлекеттік жалпы білім беру стандарты. Жоғарғы оқу орнынан кейінгі білім беру. Докторантура. Негізгі жағдайлар (№1080 2012 жылғы 23 тамыздан өзгерістер);

МЕСТ 7.32-2001. Ғылыми-зерттеу жұмысы туралы есебі. Рәсімдеу құрылымы мен ережелері;

МЕСТ 7.1-2003. Библиографиялық жазбалар. Библиографиялық сипаттамалар. Құрастырудың жалпы талаптары мен ережелері.

МЕСТ Р 55293-2012. Тағам өнеркәсібі үшін ферменттік препараттар. Целлюлазды белсенділікті анықтау әдістері;

МЕСТ Р 53973-2010. Тағам өнеркәсібі үшін ферменттік препараттар. β -глюканазды белсенділікті анықтау әдістері;

МЕСТ Р 55298-2012. Тағам өнеркәсібі үшін ферменттік препараттар. Пектолитикалық белсенділікті анықтау әдістері;

МЕСТ Р 34678-1997 – Глюкозаны анықтау әдістері

АНЫҚТАМАЛАР МЕН ТЕРМИНДЕР

Осы диссертацияда сәйкес келетін анықтамалармен келесі терминдер қолданылады:

Целлюлазалар -	мономер — глюкозаға дейін полимеризацияланудың әртүрлі дәрежесінде олигосахаридтердің жиынтығы түзілетін целлюлоза молекуласында 1,4-β-гликозидті байланыстарды катализдейтін гидролиздің, ферменттер кешені.
Целлюлоза -	Органикалық қосылыстар, көмірсулар, $(C_6H_{10}O_5)_n$ эмперикалық формуласы бар полисахарид
Гемицеллюлазалар -	ферменттер, гидролаз класынан тұратын, гемицеллюлоз (ксиландар, глюкандар, пентозандар) деполимеризациясын жүзеге асырады.
β-глюкозидазалар -	целлюлолитикалық кешен ферменттері, қысқа целлоолигосахаридтерді ыдыратады, олардың құрамында целлобиоза және 6-ға дейін глюкозды бірліктер болады.
Целлобиогидролазалар -	целлюлолитикалық кешен ферменттері, аморфты және кристалды целлюлозаны гидролиздейді, онда полимер молекулалары соңынан целлобиоздар қалдықтарын ыдыратады, сонымен қатар, гидролизденген субстратқа бір бөлігі әсер етеді
Деполимеризация —	Полимерді мономерге немесе мономерлер қоспасына айналдыру процесі

БЕЛГІЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

КС – культуалды сұйықтық
ТК – түптік культивирлеу
ҚФК – қатты фазалы культивирлеу
ЖБК – жоғарғы беттік культивирлеу
ФП – ферменттік препарат
ФК – ферменттік кешен
ПФ – пектолитикалық ферменттер
ЦБ – целлюлазды белсенділігі
βГБ – эндо-1,4-β-глюканазды белсенділігі
КС – ксиланазды белсенділігі
ПкБ – жалпы пектолитикалық белсенділігі
ПгС – полигалактуронозды белсенділігі
ЕМ – егістік материал
ҚО – қоректік орта
ЧА – Чапек-агар
ЕПБ – ет-пептонды бульон
СА – сусло агар
МЭК – мультиэнзимді композиция
РЗ – редуцирлеуші заттар
АПК – агроөнеркәсіптік кешен
ТЭК – техника-экономикалық көрсеткіш
ТО – Түркістан облысы
КМЦ – карбоксиметилцеллюлоза
МКЦ – микрокристаллическая целлюлоза
ЭГЗ – эндо-1,4-β-глюканаза
ЭФ – электрофореграмма

КІРІСПЕ

Диссертациялық зерттеудің жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс глюкоза, одан кейін сорбит алу мақсатында бидай сабанын мицелиялық саңырауқұлақтар карбогидразалармен конверсиясының ферментативті деполимеризациясын жасауға арналады.

Диссертациялық жұмыстың тандап алынған тақырыбының өзектілігі. Қазақстанда ауылшаруашылығы дақылдарының ішінде өсіру көлемі бойынша бидай алдыңғы орындарда тұрады. [1]. Мысалы, 2018 жылы 32 млн. тонна бидай дайындалды, 2019 жылы 33 млн.тоннаны құрады. Онда қалдықтар (бидай сабаны мен бөлінділер) өнімділіктің 30-40 % тең, бұл сабанға есептегенде бұл сан 12-15 млн.тонна/жылына құрайды.

Сонымен қатар, осындай жыл сайын бидайдың қалпына келетін, арзан болуы және дайындау қарапайымдылығы өсімдік биомассасын целлюлоза-қағаз, тағам және медицина өнеркәсібінде кезектегі бірқатар өнімдер алумен целлюлозаны өңдеу үшін шикізат көзі ретінде қарастыруға мүмкіндік береді. Ферменттердің алуантүрлілігі мен олардың сипаттамалары көрсетілген өсімдік шикізатын биологиялық сіңірілетін қанттарға тиімді қайта өңдеу үшін үлкен мүмкіндіктер береді.

Қазіргі уақытта, бидай сабанын өңдеу және қайта өңдеу бойынша бірқатар шаралар жасалған және жүзеге асырылады, ал олардың көп бөлігі қолданылмайды. Көптеген жағдайларда олар ірі қара малдарды азықтандыру және жануарлар төсеніші ретінде қолданылады, ал қалған бөлігі жермен тармаланады немесе алқаптарда өртеледі. Осылайша, осы қалдықтар ірі көлемді, тез табылады, жыл сайын қайта қалпына келеді, Қазақстан Республикасында ауылшаруашылығы өндірісінде келешекте қолданылатын екіншілік ресурстар ретінде қарастырылады.

Өнеркәсіптік маңызды өнімдерге көрсетілген өсімдіктер шикізатын қайта өңдеудің жоғарыда келтірілген мәліметтер тәжірибелік тұрғыда қызығушылық танытады. Осыған байланысты, полисахаридтерге мол, осы қалдықтарды қолдануға қызығушылық артуы, осы қалдықтарды қайта өңдеудің оптималды әдістерін іздеуге негізделеді [2]. Осы қалдықтарды қайта өңдеу кезінде негізгі критериялар олардың бағасы, көлемі, тез табылуы және таралуы, сонымен қатар, химиялық құрамы және технологиялық қасиеттері болып табылады.

Осыған қарамастан, бұл қалдықтардағы өсімдіктер жасушаларының полисахаридтері биологиялық бағалы өнімдер және сіңірілетін қанттарға тиімді айналуы болып табылады және соңында глюкоза түзуі [3]. Сонымен қатар, тікелей микроағзалар, ферменттер кешенін, химиялық гидролиздеуші агенттер және тағамдық емес шикізатты сіңірілетін қанттарға тиімді айналдыру үшін басқа тәсілдер қолдану мүмкіндіктер бойынша зерттеулер жүргізіледі [4].

Ескеретін нәрсе, бидай сабаны полисахаридтерін қайта өңдеуді тежеуші, негізгі факторлар, бұл өндірістердің төменгі рентабелділігі, ол шикізатты дайындау, жоғарғы энергия шығыны мен мақсатты өнімнің төменгі шығымы

болып келеді. Бұл мәселелер бастапқы шикізатқа тиімді әдістер мен тәсілдерді көп қолдану кезінде шешімін табуы мүмкін.

Қорыта келгенде, биоконверсия және құрамында 40 % дейін қиын ыдырайтын және аз қолданылатын целлюлоза бар, жыл сайын қайта қалпына келетін өсімдіктер қалдықтарын кең қолдану, биотехнологияның маңызды салаларының бірі болып табылады. Қазіргі уақытта, кездесетін ақылы ферменттер, препараттар құрамында целлюлоза бар материалдар биоконверсиясы үшін қарапайым оңай сіңірілетін қанттарда қымбат бағасына байланысты тез табылмайды, тұрақсыз, төменгі қабылдау белсенділікке ие, бұл оларды іс-тәжірибеге кең қолдануға кедергі келтіреді.

Осыған байланысты, әртүрлі гидролитикалық ферменттерді өндіруге қабілетті, суперпродуценттер, микроағзалардың жоғары белсенді штаммдарын іздеу мен бөліп алу өзекті болып табылады.

Құрамында көмірсулар бар өсімдіктер шикізаты мен әлемдік биотехнология іс-тәжірибесі негізінде өнімдер шығаруға бағытталған, ірі тонналы өндіріске техника-экономикалық талдау жасау көрсеткендей, осы өндірістердің рентабелділігін жоғарлату шикізатты, оның ішінде екіншілік қалдықтарды қайта өңдеудің кешенді нұсқасына өту кезінде мүмкіндігі артады. Мұндай өндірістер, ең алдымен тағамдық, фармацевтика және азықтар бойынша соңғы өнімдер шығарылатын, қалдықтарды тиімді қайта өңдеуді қажет етеді [5].

Жартылай өнімдерді бөлу және тазарту технологиялық кезеңдері болмайтын, целлюлозадан тікелей бағалы заттар алынатын, «one-pot» процестері деп аталатын, бір сатылы ферментативті технологияларды іздеу қызығушылық танытады. Процесті бір сатылы ұйымдастыру өсімдіктер полисахаридінен сорбитті ферментативті гидролитикалық гидрлеу жолымен алуға мүмкіндік береді және «platform molecules» деп аталады, бұл өнеркәсіптік процестер үшін келешекте қолданылатын шикізат көзінің бірі болып табылады.

Нәтижесінде, глюкоза мен сорбитті 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;

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

- гидролитикалық 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 өңдеудің жағдайлары мен технологиясын жасау.

Зерттеу нысандары Түркістан облысы топырағынан алынған, М.Әуезов атындағы ОҚМУ-нің, «Биотехнология» кафедрасының зертханасында бөлінген, *Aspergillus* тегіндегі мицелиалды саңырауқұлақтар пектиназдың микробиялды көздері қызметін атқарады, Өзбекстан Республикасы, Ғылым Академиясының Микробиология институтының «Микробтық ферменттер» зертханасында алынған *Penicillium* және *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.

Зерттеу пәні. Өсімдіктер биомассасының полисахаридтерін деполимеризациялау, сабан полисахаридтерінің құраушыларын гидролиздеу процесіне ферменттік гидролиздің әсері, соңғы гидролиздің бағалы өнімдерін және ферменттік препараттарын алу мен қолдану технологиясы.

Зерттеу әдістері. Жұмыста микробиология және биотехнологиядағы жалпы қабылданған әдістер қолданылады: гидролаз продуценттерінің скринингі, микроағзаларды культивирлеу әдістері; МЕСТ Р қолданылатын әдістеме бойынша ферментативті белсенділігін анықтау: МЕСТ Р 55293-2012 – Целлюлазды белсенділікті анықтау әдістері; МЕСТ Р 53973-2010 - β -глюканазды белсенділікті анықтау әдістері; МЕСТ Р 55979-2014 - МЕСТ Р 55298-2012 – Пектолитикалық белсенділікті анықтау әдістері; ферменттік препараттарды бөлу және тазарту әдістері; редуцирлеуші заттарды анықтау әдістері, нормативті – техникалық құжаттарға сәйкес қанттар мен басқалардың құрамын анықтау әдістері.

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 жасалады.

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 теориялық және практикалық маңыздылығы. Целлюлолитикалық ферменттер микроағзалар-продуценттер қауымдастығы-*Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 штамдарын қолдану нәтижесінде 2,2 % дейін глюкоза мен сорбит алуға мүмкіндік беретін және бидай сабаны полисахаридтерін ферменттермен өндеудің 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 қорғалады [қосымша А].

Диссертациялық жұмыстың негізгі жағдайлары оқу процесінде «*Biotechnology of microorganisms*» пәнінде қолданылады [қосымша Б].

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 штамдар-продуценттер мен *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 штамдарының 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 өндеудің оптималды параметрлері, «Целлозим Г20х» (микроағзалар қауымдастығы) ферменттік препаратты қолдану технологиясы және жаңа ферменттік препараттардың бидай сабанын деполимеризациялау тиімділігіне әсерін салыстырмалы бағалау.

Жұмыстың апробациясы. Зерттеу нәтижелері мен диссертацияның негізгі жағдайлары халықаралық ғылыми конференцияларда ұсынылды және баяндалды: «Қазіргі әлемдегі ғылым» атты V-ші Халықаралық ғылыми-практикалық конференция (Киев), «Биология, медицина және фармацевтіяның келешектегі дамуы» атты IV-ші Халықаралық ғылыми-практикалық конференция (Шымкент), «Заманауи фармацевтія мен медицинадағы инновациялық жетістіктер» атты Халықаралық ғылыми-практикалық конференция (Шымкент), ICITE-2017 (Шымкент), химия ғылымдарының докторы, академик Абдумус Мұратұлы Қуатбековтың 75 жылдығына арналған «Өндірістің, білім мен ғылымның қазіргі жетістіктері: мәселелері мен келешегі» атты Халықаралық ғылыми-практикалық конференция (Шымкент), «Биология, медицина және фармацевтіяның даму болашағы» жас ғалымдар мен студенттердің V-ші Халықаралық ғылыми конференциясы (Шымкент), «Ғылыми зерттеулер – дамудың жаңа мүмкіндіктерінің құралы» магистранттар мен студенттерге арналған халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция (Шымкент), International Conference Actual problems of applied sciences Journal World (Испания).

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 9, пайдалы модельге патент 1.

Диссертацияның құрылымы мен көлемі. Диссертациялық жұмыс 3 тараудан тұрады, кіріспе бөлігінде жұмыстың өзектілігі, мәселенің қазіргі жағдайы, жаңалығы, зерттеулердің теориялық және қолданбалы маңыздылығын бағалауды қарастырады. 1 – тарау отандық және шетелдік ғылыми-техникалық және патенттік әдебиеттерді шолуға, 2 – тарау-тәжірибелік бөлім, 3 – тарау - алынған нәтижелер және оларды талқылау, одан әрі қорытынды келтірілген және тәжірибелік мәліметтерден алынатын қорытындылар баяндалады, 161-ден тұратын пайдаланылған әдебиеттер тізімі, оның ішінде шетелдік -121, сонымен қатар, зертханалық қондырғылар, жүргізілген жұмыстар мен сынақтар актілері бар қосымша бөлімдері келтірілген. Диссертациялық жұмыстың жалпы көлемі 126 беттен тұрады, автордың алған нәтижелері 24 кестелер мен 37 суреттерде көрсетілген.

Диссертациялық жұмыстың ҒЗЖ тақырыптық жоспарларымен байланысы. Диссертациялық жұмыс ҚР БҒМ - нің 2015-2017жж. қаржыланған "Бірлескен химиялық және ферментативті гидролитикалық гидролиз және гидрлеу арқылы ксилит пен сорбитті алу мақсатында көмірсулар бар өсімдік шикізаты мен қалдықтарын терең қайта өндеудің инновациялық технологиясын

жасау" жобасын жүзеге асыру шеңберінде орындалады (03.03.2017 ж. № 203-35 келісім-шарт бойынша).

1 ӘДЕБИ-АНАЛИТИКАЛЫҚ БӨЛІМ

ҚҰРАМЫНДА ЦЕЛЛЮЛОЗА БАР ШИКІЗАТТЫ ФЕРМЕНТАТИВТІ ГИДРОЛИЗДЕУ ПРОЦЕСІНІҢ ТЕХНОЛОГИЯЛЫҚ АСПЕКТІЛЕРІ, РЕАКЦИЯ ӨНІМДЕРІ, САБАН ЦЕЛЛЮЛОЗАСЫНЫҢ КОНВЕРСИЯЛАУ ТӘСІЛДЕРІ

1.1 ҚҰРАМЫНДА ЦЕЛЛЮЛОЗА БАР ШИКІЗАТТЫ ФЕРМЕНТАТИВТІ ГИДРОЛИЗДЕУ ПРОЦЕСІНІҢ ТЕХНОЛОГИЯЛЫҚ АСПЕКТІЛЕРІ

1.1.1 Қазақстанда полисахаридті шикізатты биотехнологиялық қайта өңдеу келешегі

Ауыр және жеңіл индустрияның, өнеркәсіптің әртүрлі салаларының, ауыл шаруашылығының, халық санының және басқа дамудың қарқынды өсуіне байланысты бүкіл әлемде энергия қорының, табиғи ресурстардың (ормандардың, өсімдік әлемінің, жер жамылғысының, топырақ алқаптарының және т.б.), тамақ өнімдерінің (ең алдымен қант, майлар, ет-сүт және т.б.) сарқылуында өткір мәселелер байқалады. Нәтижесінде, техникалық революция, урбанизацияның қарқынды қарқыны және қазіргі заманның пайда болған басқа аспектілері энергияның, азық-түлік өнімдерінің және басқалардың балама көздерін іздестіруді тез арада шешуді қажет етеді. Осыған байланысты, көмірмен, мұнаймен және газбен қатар өсімдік шикізаты органикалық шикізаттың келешегі бар түрі немесе өсімдік биомассасы көп тоннажды, жыл сайын жаңғыртылатын, құрамында көміртегі бар шикізаттың сарқылмайтын көзі болып табылады.

Қазіргі уақытта ауыл шаруашылығы өнімдерінің көп бөлігі тамақ өнеркәсібі үшін тікелей шикізат болып табылады. Қайта өңдеу өнеркәсібінде шикізаттың бір бөлігі ғана пайдаланылады, ал оның нақты шамадағы үлесі жанама өнімдер түрінде жинақталады, өсімдік шикізатын қайта өңдеуде кездесетін технологиялары қолданудың ұтымды салаларын таппады, бұл ауыл шаруашылығы шикізаты қалдықтарының нақты санына әсер етеді [4].

Қазақстан Республикасында ауыл шаруашылығы дақылдарының өсу және өнімділік көлемі бойынша бидай алдыңғы орында тұрады [1]. 2017 жылы бидайдың жалпы түсімі 14,8 млн. тоннаны құрайды, сонымен қатар, ауыл шаруашылығы кәсіпорындарының егістіктерінде орташа 22,4 млн. тонна бидай сабаны түзіледі [6].

Бидайды өсіру және қайта өңдеу процесінде тек ғана 10% сабан, малды азықтандыруға және жануарларға төсеніш ретінде пайдаланылады, қалған бөлігі жерге тыңайтқыш ретінде жермен тармаланады және егістікте жайылады [7]. Жануарларды азықтандыруда бидай сабаны көбінесе қосымша көлемдік азық ретінде пайдаланылады. Бірақ, сабанды жемдік мақсаттарға пайдаланған кезінде бірінші қиындық мал азығының төмен желінуі, екінші қиындық-сабанның қоректік заттары жануарлардың асқазан-ішек жолында нашар

ыдырайтын берік лигнин-целлюлоза кешеніне айналады, сондықтан сабанның коректік заттарының қорытылуы төмен [8].

Қазіргі уақытта тармаланған топырақтарда органикалық заттардың қорын толықтыру үшін бидай сабанын пайдалану кең қолданылмайды, себебі көміртектің сабандағы азотқа қатынасы өте кең – C:N – 70-90:1, бұл оның ыдырау жылдамдығын баяулатады. Сондықтан, оның деструкциясының бастапқы кезеңдерінде топырақ азотының иммобилизациялануы орын алады, сонымен қатар, өсімдіктер үшін уытты заттар - шірік, сапрофитті, патогенді саңырауқұлақ және бактериялық микрофлоралар жинақталуы мүмкін [9].

Сонымен қатар, астық жинау қалдықтарын өртеу теріс салдарларға әсер етеді, атап айтқанда, сабанды және егін қалдықтарын жоюға, гумусты өртеу және топырақ құрылымының нашарлауы байқалады. Бұл топырақ органикасының және биопроцессорлардың әлеуетті көзін жоюдың айқын залалымен қатар, пестицидтер деформацияланған артық болуы мен топырақ микрофлорасы құрылымы агрохимиясы одан әрі төмендеуі жүреді. Бидай сабанын қолданудың аталған тәсілдері төмен және кері тиімділікке ие.

Сондықтан, полисахаридті шикізатты қайта өңдеудің биотехнологиялық тәсілдерінің ең келешегі бар және тиімді, органикалық болып табылады.

Өткен ғасырдың 40-жылдары фурфурол, ксилоза, азықтық ашытқылары мен гидролиз спиртін алумен ауыл шаруашылығы қалдықтарын қайта өңдеуге зерттеулер жүргізіледі. Қазіргі уақытта Республикада дәнді дақылдарды терең өңдейтін 3 кәсіпорын ғана жұмыс істейді. «Қазақстанда 2017-2021 жылдарға арналған агроөңдеуді индустрияландыру жөніндегі шаралар жүйесі» бағдарламасы (агроөңдеу картасы) бойынша жаңа қуаттарды жаңғырту және салу есебінен терең өңдеуге астық көлемі 1 млн. тоннаға дейін жеткізіледі, оның ішінде биоэтанол өндірісі - 28%, сірне - 19%, крахмал - 12%, глюкозалы-фруктозалы шәрбаты - 10%, құрама жем - 10%, глютен - 9% және басқалары - 12% (органикалық қышқылдар, ұрық пен мезга), бұл жаңа қуаттарды жаңғырту және салу есебінен 2021 жылы терең қайта өңдеуге арналған астық көлемі 9 есе және өнімдер экспорты көлемі 400 млн. АҚШ долларын құрайды [10].

Қазақ ауыл шаруашылығы өнімдерін қайта өңдеу ғылыми-зерттеу институтымен дәнді дақылдарды және май шығаратын дақылдарды терең қайта өңдеудің 25-тен астам технологиясы жасалған және мынадай өнімдер алынады: крахмалды сірне [11], глюкозалы-фруктозалы шәрбаттар [12], этиллактат [13], карбоксиметилкрахмал [14], карбоксиметилцеллюлоза [15], сорбит [16], сорго шәрбаты [17], целлюлоза [18]. Ауыл шаруашылығы өндірісінің қалдықтарынан кристалды глюкоза [19], ксилоза [20], ксилит [21], түрлендірілген крахмалдар [22], перезетифицированные майлар [23] және басқалары.

Ескеретін нәрсе, бидай аурулары мен олардың қоздырғыштары, оның ішінде уыттар түзетін фитопатогендер бидайды, егістіктерді ғана емес, сонымен қатар, бидай кебегі мен сабандарына жұғады. Бұл қоздырғыштар адамдардың, жануарлардың денсаулығына және қоршаған ортаға қауіпті агенттер болып табылады. Бидай тұқымдарын егу алдында және өсіп-өну кезінде пайдаланылатын пестицидтер өсімдіктерде қалады, оның мүшелерінде

аккумуляцияланады және адамдар мен биологиялық дарактардың өміріне қауіпті болады.

Сондықтан, соңғы уақытта әлемнің дамыған елдерінде экологиялық таза ауыл шаруашылығы өнімдерін өндірудің технологиясы жасалуда, атап айтқанда ауыл шаруашылығы жерлерін егіншіліктің органикалық жүйелеріне пайдалану, олар қалдықтардың, минералды тыңайтқыштар мен пестицидтер, улы химикаттардың аз үлесі, үлкен түсім және органикалық егіншілік өнімдерінің жоғары бағасы есебінен табысты болуы мүмкін [24]. Сонымен қатар, астық өнімдері ғана емес, онда олардың қалдықтары қауіпсіз және жоғары сапалы, бірақ топырақтағы пестицидтердің, ауыр металл иондарының және т.б. қалдық үлесін өңдеу кезеңмен және ретпен шешілетін ұзақ процесс болып табылады.

Осылайша, ауыл шаруашылығының экологиялық қауіпсіз бағдарланған жүйелерін дамыту және енгізу, тамақ өнімдерінің экологиялық таза түрлерін алу, бүкіл әлемде қазіргі заманғы ауыл шаруашылығын дамытудың ең келешегі бар бағыттарының бірі болып табылады. Қазіргі заманғы агробиотехнологияларды пайдаланумен, қысқа мерзім ішінде ұзақ химияландырудан бұзылған топырақтың құнарлылығын қалпына келтіруге, негізгі ауыл шаруашылығы дақылдарының өнімділігін арттыруға, өнім мен оның қалдықтарының, қоршаған ортаның, сапасын және қауіпсіздігін, сақталуын, оларды сақтау мерзімін және дақылдар мен оның өнімдерінің басқа қасиеттерін қамтамасыз етеді [13,25].

Мұндай технология кезінде өнімнің барлық түрлерін, фитомассаны, тамырын, сонымен қатар, олардың қалдықтарын қоса алғанда, толық пайдалануға болады.

1.1.2 Өсімдік шикізатының полисахаридтерін қайта өңдеуге байланысты технологиялық мәселелер

Өсімдік шикізатының полисахаридтерін қайта өңдеу олардың ерімеуі, табиғи целлюлоза кристалдылығының жоғары дәрежесі, лигнин және гемицеллюлозамен түзілген, целлюлоза талшықтары тиелген қорғаныш матрицасының болуымен байланысты бірқатар қиындықтармен шектеледі [26, 27].

Жасушалық қабырғаның целлюлозды полисахариді β -1,4-глюкозидті байланыстарға байланысты D-глюкозадан тұрады. Целлюлозаның сызықтық құрылымы бір-бірімен сутекті байланыстармен байланысты микрофибриллаларға целлюлоза тізбектерінің агрегациясына әсер ететін ішкі және молекулааралық сутегі байланыстарының пайда болу мүмкіндігін қамтамасыз етеді [28]. Сутегі байланыстары целлюлозаның физикалық және химиялық қасиеттерін, оның ішінде целлюлоза молекулаларының кристалдылығының әртүрлі деңгейіндегі молекулалардың бумаларынан молекулалық құрылымның пайда болуына қабілетін анықтайды.

Өз кезегінде, жасушалық қабырға биополимері - лигнин құрамында хош иісті спирттер (синап, кумарил, кониферил) бар органикалық гетерополимер, гидроксильді және басқа полярлы топтардың үлкен саны бар, бұл ішкі және молекулааралық күшті сутегі, иондық, арильдік, эфирлік және көптеген басқа байланыс түрлерінің пайда болуын қамтамасыз етеді [29]. Өсімдік биомассасында лигниннің болуы лигниноцеллюлоза матрицасының қаттылығы мен беріктігін қосымша арттырады. Гидрофобты аморфты лигнин өсімдіктердің химиялық төзімділігіне, атап айтқанда, судан және патогенді инфекциялардан қорғауға жауап береді. Целлюлоза мен лигнин арасындағы көлденең тігістердің болуы дәнді дақылдардың азып-тозуына және қантталуына төзімді етеді [30].

Гликандардың болуы ферменттердің белсенділігін және лигниноцеллюлозды кешеннің тозуын азайтады. Әдеби мәліметтерде талдап көрсеткендей, байланыстырушы гликандарды алып тастау саңылаулар көлемін ұлғайтады, бұл ферментативті гидролиз үшін белсенді негіз болатын аморфты, кристалды целлюлозаның жеткілікті ауданын арттырады [31, 32].

Осылайша, целлюлоза және гемицеллюлоза тәріздес полисахаридтердің құрамы өсімдік тінінің ортаңғы пластинасының құрамында оқшауланған, жасушаларды байланыстыратын және өсімдік тінін құрылымдайтын қатты тірек рөлін атқарады [27]. Бір полимерлік тізбектің ішінде, жекелеген целлюлоза тізбектерінің арасында сутегі байланыстарының өте үлкен санының түзілуіне байланысты өте қатты, жартылай кристалды құрылымға ие. Целлюлозаның таза түрінде, лигноцеллюлоза материалдарының құрамында өте берік құрылымы оның бағалы қосылыстарға одан әрі қайта өңдеуді қиындатады [33].

Энергетикалық ресурс ретінде өсімдік биомассасын пайдалану мүмкіндіктері, пайдасы, туындайтын мәселелері мен келешегі [34] 1-кестеде келтірілген.

Кесте 1 – Энергетикалық ресурс ретінде өсімдік биомассасын пайдаланудың кездесетін технологияларын бағалау

Пайда	Мәселелері
Энергияны үнемдеу	Жер және су ресурстары үшін бәсекелестік
Жаңартылу	Жер бөлу қажеттілігі
Технологияның икемділігі және өнімдердің әртүрлілігі, олардың кейбірінде энергияның жоғары үлес құрамы	Бастапқы кезеңде қорларды бағалау қиындықтары;
Жасалған технологияларды енгізу үшін шағын капитал салу қажет, кез - келген табыс деңгейінде тез табылады	Өзіндік құнды бағалаудағы жиі қиындықтар
Жұмыс күші мен ресурстары негізінде енгізілуі мүмкін	Тыңайту, жер алқабы және су қажет
Биологиялық және инженерлік негіздерді дамытудың жақсы болашағы	Қолданыстағы ауылшаруашылық практикасына, өндірістік циклге, әлеуметтік факторға тәуелділік

Жұмыспен қамту және біліктілік өсуде	Шикізатты тасымалдау және сақталуы
Көптеген жағдайларда-орташа құны	Климаттың өзгеруіне тәуелділік
Экологиялық қауіпсіздік	Конверсияның аз тиімділігі
Атмосферада CO ₂ құрамы арттырылмайды	Маусымдылығы және жоғары салмақ құрамының ылғалдылығы

Сұрақтың жағдайын талдау көрсеткендей, өсімдік биомассасын пайдалану үшін ең алдымен оның реакциялық қабілетін арттыру мәселесін сорбциялық сыйымдылықты шешу қажет. Бұл алдын ала өңдеудің тиімді әдістерін таңдауда мүмкін [35, 36], олардың негізгі мақсаты целлюлоза құрылымын ретке келтірудің жоғары дәрежесін бұзудан тұрады, целлюлоза полисахаридтерінің адсорбциялаушы бетінің ұлғаюына әсер етеді, бұл гидролитикалық ферменттердің түрлі формаларының молекулаларына жетуді қамтамасыз етеді. Алдын ала өңдеу [33] целлюлозаның молекулалық құрылымының бұзылуы, оның кристалдылық деңгейінің төмендеуі нәтижесінде шикізаттың физикалық-химиялық қасиеттерін нақты шамада өзгертеді, жалпы химиялық, физикалық және ферментативті процестерге реакциялық қабілеттіліктің артуына әсер етеді.

1.1.3 Бидай сабанын қайта өңдеу технологиясының теориялық және практикалық негіздері

Жоғарыда көрсетілгендей, бидай сабаны дәндер мен жыныстарды алып тастағаннан кейін пайда болатын ауыл шаруашылығының жанама өнімі [37]. Әдеби мәліметтерге талдау көрсеткендей, биологиялық тұрғыдан ең құнды химиялық құрамына дәнді дақылдардың сабандары ие болады [2-4, 7]. Сабанның химиялық заттарының мөлшері мен құрамы топырақ-климаттық жағдайларға және бидай сабанының сортына байланысты өзгеруі мүмкін [37]. Бидай сабанын қайта өңдеу негізінде әртүрлі өнімдер алынуы мүмкін: глюкоза [19], ксилоза [38], сорбит [16], фурфурол [39], глицерин [40] және т.б.

Көптеген жұмыстардың авторларымен көрсетілгендей, полисахаридті өсімдік шикізатын қайта өңдеудің технологиялық процестерін қарқындалту міндеттерін табысты шешуге оны алдын ала өңдеу әсер етеді [32, 38, 40]. Өсімдік шикізатын алдын ала өңдеу реакциялық қабілетін, технологиялық процестің тиімділігін және оның экологиялық таза болуын арттыруды қамтамасыз етеді. Одан басқа, алдын ала өңдеу полисахаридті шикізатты кешенді қалдықсыз өңдеуге кететін шығындарды төмендетуді қамтамасыз етеді [41], бұл алдын ала өңдеудің түрлі әдістерін біріктірген кезінде жүзеге асады: механикалық, физикалық, химиялық, биологиялық, вулканды.

Механикалық өңдеу өсімдік субстраттарын құрғақ немесе ылғалды күйінде ұсақтағыштың әртүрлі түрлерінде (шар, коллоидты немесе дірілдегіштерде), дезинтеграторларда ұсақтауға, біліктерде диспергирлеуге, сонымен қатар, арнайы сыйымдылықтарда үлкен қысымда вулканизациялауға (желімдеу) негізделеді [4]. Механикалық өңдеу нәтижесінде өсімдік материалдары бөлшектерінің азаюы, жасушалық қабырғалардың ішінара ыдырауы мен үзілуі, субстраттың меншікті бетінің артуы және оның құрылымының реттілігі

бұзылуы жүреді, нәтижесінде, ферменттер молекулалары үшін тез табылатын субстрат беті көлемінің артуы байқалады.

Шарлы диірмендегі құрғақ ұнтақтауға қарағанда, ылғал күйінде болат шарлары бар диірменде алдын ала өңдеу тиімді екені белгілі [42]. Механикалық әсер ету кезінде реакциялық қабілет 10 есе және одан көп артады. Бұл әдіс өсімдік шикізатын өңдеудің ең әмбебап тәсілі, бұл процесс бір сатыда өтеді және шикізатты қосымша жууды қажет етпейді, бірақ энергияны көп жұмсайды.

Алдын ала өңдеудің физикалық әдістері γ -сәуле, электрондар ағынымен сәулелену, бумен өңдеу, микротолқынды сәуле (2400-2500 МГц), жоғары қысымды, ультрадыбысты әсер ету және салқындатумен өңдеуден тұрады [40]. Алдын ала өңдеудің физикалық әдістерін қолдану субстраттың реакциялық қабілетін 2-5 есе арттыруға мүмкіндік береді.

Жоғары энергия сәулеленуінің әсері целлюлоза деполимерленуде және радикалдар түзілуде, оның үш өлшемді, торлы құрылымдағы микроақаулардың жиналуында байқалады. Пластификатордың рөлін атқаратын судың әсерінен микроақаулар түзіледі, бұл кристалдылығының индексі төмендетеді, сонымен қатар, лигниннің ішінара бұзылуы жүреді. Шикізаттың түріне байланысты қажетті әсерге жету үшін қажет сәулелену мөлшері әртүрлі. Бірақ, бұл әдіс өте қымбат және өнеркәсіптік ауқымда қолдану үшін күрделі [43].

Қыздыру және қысым әсер ету кезінде целлюлоза құрылымының ішінара бұзылуы жүреді. Көрсетілгендей, сәулеленген өсімдік шикізатын термоөңдеу оның ерігіштігін және гидролиз жылдамдығын арттырады. Жұмыста [44] ағынды реакторында 195°C температурасында 6 минут кезінде 250 л/с су ағынының жылдамдығымен ұсақталған бидай сабанын ыстық сумен өңдеу жүргізіледі. Бұл өңдеу арабинандарды жоюға мүмкіндік береді, ал ксиландар саны шикізатта 24,5% - дан 5,2% - ға дейін қысқарады, бұл бағалы затрадың жойылуына байланысты болады.

Су ортасында целлюлозаға ультрадыбыстың әсері дыбыстық толқын күшінің, кавитациялық қуыстарды лақтыру кезінде соққы толқынының әсерімен, тотықтырғыш және термиялық деструкцияның пайда болуымен байланысты. 1-2 см мөлшерге дейін ұсақталған күріш сабанының суспензиясын 6 минут ішінде микротолқынды өңдеу целлюлоза ферментті *Trichoderma viride* дақылдар кешенімен конверсия дәрежесін 15% арттыруға мүмкіндік береді [45].

Целлюлозаны мұздату және еріту кезінде полимерлену деңгейінің азаюы, оның құрылымының біршама бұзылуы, целлюлоза капиллярларында мұз кристалдарының түзілуі және мұз түзілуде судың кеңеюі есебінен болатын беттің артуы байқалады [4].

Химиялық алдын ала өңдеу лигнинді алып тастау және лигноцеллюлозаның құрылымдық модификациясы үшін қолданылады. Әрі қарай биохимиялық немесе микробиологиялық трансформациясына жарамды түрде целлюлозаны және лигнин мен гемицеллюлоз өнімдерін алуға бағытталған химиялық делигнификация процестері бірқатар химиялық қосылыстардың целлюлозаны немесе лигнинді еріту қабілетіне негізделген.

Катализденетін бу-жару гидролизі органикалық және бейорганикалық қышқылдар мен сілтілермен алдын ала өңдеу есебінен шикізаттың реакциялық қабілетін арттырумен, гемицеллюлозаның көп бөлігін жоюға мүмкіндік береді.

Жарылыс процесі шикізатты сіңдіру, қысымның жоғарылауы, қысымның ұсталуы және қысымның тез төмендеуіне негізделеді, бұл жарылыс декомпрессиясы нәтижесінде шикізаттың үзілуіне әсер етеді. Бұл әдісте жоғары қысым мен 160-260 °C температураны бірнеше секунд (30 C) бірнеше минутқа (20 минут) аралығында ұстау қолданылады [46].

Күкірт қышқылымен сіңірілген бидай сабанын бумен алдын ала өңделуі 10 минут ішінде 190°C температура кезінде 39,6 г/100 г құрғақ салмақтағы қанттардың шығымына мүмкіндік береді[47]. Баламалы бу жарылысы сұйық азот көмегімен мұздатумен жарылыс әдісі, онда төмен температурада және жоғары қысымда сұйық азот шикізатқа құйылады. 10-15 минуттан кейін қысымды төмендетеді және кеңейтуде сұйықтықтың тез булануы жасушалар жарылысының пайда болуына әсер етеді.

Аммиак целлюлозаның кристалданбауына әсер етеді. Нәтижесінде мұндай өңдеуден кейін ферментативті гидролизде теориялық шығымнан қанттардың 95% алынады [48]. Бірақ, сұйық аммиактың қымбат және оны қалпына келтіру қажеттілігі тәріздес әдістің кемшіліктері оны қолдануды шектейді.

Лигнин целлюлозаға қарағанда, 1-2%-дық сілті ерітіндісінде еруге қабілетті. Сондықтан, өсімдік субстраттарының делигнификациясы сұйылтылған сілтілер ерітіндісімен (NaOH немесе аммиакпен) қайнату, автоклавтау, сонымен қатар, қыздырылған булы сумен өңдеу арқылы жүзеге асырылады. Сілтілі өңдеудің мәні лигнинде және гемицеллюлоздарда карбоксильді топтардың бейтараптануына, лигнин және гемицеллюлоздар арасындағы күрделі эфир байланыстарының сабындану реакциясына, жасушалық қабықшалар құраушыларының химиялық ісінуінің ұлғаюына және механикалық беріктіктің тез төмендеуіне негізделеді [49]. Құрамында H₂O₂ бар, рН = 11-12 кезінде 6-24 сағат бойы [50], натрий гидроксидінің ерітіндісінде бөлме температурасында бидай сабанын суландыру, целлюлозаның ферментативті конверсиясының деңгейін 97% - ға дейін арттыруға мүмкіндік береді. [51] жұмыста бидай сабаны 200-220°C және 15-22 бар қысымда бумен өңделеді. Содан кейін жуылған талшық 2% H₂O₂ көмегімен 50°C, рН=11,5 кезінде 5 сағат ішінде делигнифицирленеді. Субстратты өңдеудің толық сызбасы бастапқы шикізаттан 11-12 % лигнинді алып тастауға мүмкіндік береді.

Өсімдік шикізатын алдын ала өңдеудің биологиялық әдістері лигноцеллюлоза субстраттарын ыдыратуға қабілетті, микроағзаларды қолдануға негізделген [52]. Көптеген микроағзалар өсімдік шикізатының полисахаридтеріне әсер етуге қабілетті, олардың арасында базидиомицеттер, аскомицеттер, микроскопиялық саңырауқұлақтар, бактериялар, ашытқылар бар, олар *Paecilomyces* [53], *Chaetomium* [54], *Stachybotrys* [55], *Poria* [56], *Polyporus* [57], *Sporotrichum* [58], *Nocarolia* [59], *Coriolus* [60], *Pleurotus* [61], *Streptomyces* [62], *Pseudomonas* [63], *Aeromonas* [59], *Agrobacterium* [64], *Xanthomonas* [65]

және басқа топтар мен тектерден тұрады. Микроағзалардың лигнинцеллюлозды материалдар мен фенолдарды ыдырату қасиеті оларды келешекте қолданылатын делигнификаторлар қатарына қояды және жаңа экологиялық қауіпсіз технологияларды дамыту үшін негіз болады.

Жұмыста [56] көрсетілгендей, бидай сабанын *Poria subvermispora* және *Irpex lacteus* культураларымен 21 күн аралығында алдын ала өңдеу, шикізатты кезектегі ферментативті конверсиялау дәрежесіне сәйкес 69% және 66% - ға дейін арттырады. Бидай және күріш сабанын *Aspergillus niger*, *A. awamori*, *Trichoderma reesei*, *Phenerochaete chrysosporium*, *Pleurotus sajorajii* культуралармен алдын ала өңдеуді зерттеу көрсеткендей, *A. niger* және *A. awamori* саңырауқұлақтармен өңдеу кезінде ең жақсы нәтижелер алынады [66].

Жоғарыда аталған өсімдік шикізатының биомассасын алдын ала өңдеу әдістері бірқатар артықшылықтар мен кемшіліктерге ие, олар 2-кестеде келтірілген (2-кесте).

Кесте 2 – Өсімдік биомассасының полисахаридтерін алдын ала өңдеудің әртүрлі әдістерінің салыстырмалы талдауы [41, 59]

Алдын ала өңдеу әдістері	Артықшылықтары	Кемшіліктер
Физикалық әдістер		
Термоөңдеу	Төмен құн, қоршаған ортаны ластамайды	Шағын тиімділік, арнайы жабдықтың қажеттілігі
γ-сәулелендіру	Төмен құн, қоршаған ортаны ластамайды	Тиімділігі аз
Механикалық әдістер		
Өр түрлі тәсілдері Ұнтақтау	Жоғары тиімділік, өңделген целлюлоза тығыздығы жоғары	Жоғары энергия сыйымдылығы, ылғалдау кезінде целлюлозаның рекристалдануы, өнімділігі жеткіліксіз жоғары
Химиялық әдістер		
Концентрацияланған минералды қышқылдар	Жоғары тиімділік	Ортаның ластануы, өңделген целлюлоза тығыздығының төмендігі, целлюлозаның деструкциясы, қышқылды бейтараптандыру және регенерациялау қажеттілігі, жабдықтың коррозиясы
Бу жарылысы, автогидролиз	Жоғары тиімділігі мен өнімділік, арзан, үздіксіз процесс	гемицеллюлоза деструкциясы, коррозия, мақта және зығыр целлюлозасына тиімсіз
Биологиялық әдістер		
Микробиологиялық делигнификация	Әлеуетті жоғары тиімділігі	Процестің ұзақтығы, целлюлозаны ішінара пайдалану
Агрохимиялық әдістер	Әлеуетті жоғары тиімділігі	Процестің ұзақтығы

Осылайша, қазіргі заманғы өнеркәсіп пен ауылшаруашылығының «жасыл биотехнологияға», «биологиялық жер өңдеуге» өтуіне байланысты биологиялық алдын ала өңдеу мен кез-келген биологиялық әдістер агроөнеркәсіптік сектордың қалдықтарын қайта өңдеу тәріздес

лигноцеллюлозалық материалды тез бұзуға және биологиялық бағалы өнімдерді алу мақсатында өндірістердің қалдықтары ретінде қайта қолдану мәселелері мен қазбалы энергетикалық шикізаттың шектеулігіне байланысты экономикалық мәселелерді шешуде бағалы құрал болуы мүмкін.

1.2 Өсімдік шикізаты құраушыларын ферментативті гидролиздеу негіздері және глюкоза мен сорбит алу

1.2.1 Бидай сабанының құрылымдық сипаттамалары

Өсімдік жасушасы мен шикізатының күрделі анатомиялық құрылымы және химиялық құрамы бар. Онда өсімдік массасының 95% - ы фотосинтез процесінде пайда болады, олардың басты құраушылары органикалық заттар және тек ғана аз бөлігін минералды заттар құрайды, оларды жағу кезінде күл түзіледі [67]. Органикалық заттардың үш негізгі топтарын бөледі: көмірсулар, хош иісті (ароматты) және экстрактивті заттар.

Бидай сабанының көмірсулар бөлігінде полисахаридтердің жоғары деңгейі бар: целлюлоза және гемицеллюлоза, олар жеңіл гидролизденетін және қиын гидролизденетін полисахаридтерге бөлінеді. Жеңіл гидролизденетін полисахаридтерге гемицеллюлоздар мен целлюлозаның аморфты бөлігі, қиын гидролизденетін полисахаридтерге - целлюлоза (кристалды бөлігі) және целлюлозамен бірге кристалданған гемицеллюлоздың шамалы бөлігінен тұрады [68].

Целлюлоза глюкозаның гомополимері, β -1,4-глюкозидті байланыстармен біріктірілген, полимерлеу дәрежесі 500-15000. Өсімдіктің жасушалық қабырғаларының ұлпаларында целлюлозды тізбектер - бір-бірімен бойлық бағытта ішкі және молекулааралық сутегі, сонымен қатар, кристалдық аймақтар түзетін гидрофобты байланыстармен байланысқан микрофибриллалар, ал кездейсоқ ретпен орналасқан микрофибриллалар целлюлозды молекуланың аморфтық бөлігін құрайды [69]. Бидай сабанының құрамында 40% кристалдылық дәрежесі бар целлюлоза бар [70], бұл химиялық және ферментативті гидролизді жүзеге асыруға мүмкіндік береді.

Гемицеллюлоздар-көмірсулардың полимерлі қосылыстар тобы, әртүрлі құрамда бидай сабанының тіндерінде болады. Бидай сабанындағы гемицеллюлоз құрамы (%- бен құрғақ заттар массасы): 0,7 – галактан; 0,2 – маннан; 2,3 – арабинан және 17,0 – ксилан [68]. Гемицеллюлоз құрылымы жоғары тармақталған және аморфты болғандықтан, оларды термохимиялық өңдеу кезінде гидролиздеу оңай. Сондықтан, гемицеллюлоз су ортасында еруі 150 °C кезінде және 120 °C сұйылтылған қышқыл ерітінділерінде басталады [71]. Бидай сабаны 70-90% ксилоза және 10-30% аз ғана манноза, галактоза және глюкоза (<0,6%) бар арабинозаның негізгі гемицеллюлоз қаңқасы ретінде арабиноксиланды кешеннің болуымен сипатталады [72]. Ксилоза полимері-ксилан-арабинан, урон қышқылдары, сонымен қатар, ацетильді топтары бар [70].

Бидай сабанының сығынды бөлігі аз ғана пектинді полисахаридтер, крахмал, пигменттер, шайырлар, таниндер және органикалық қышқылдар түрінде болады. Сығынды заттар жасушалар қуысында жиналады, бірақ ішінара жасушалық қабырғаларда сіңеді. Бидай сабанындағы пектиннің құрамы 5% құрайды және биомассаның кеуектілігіне және буферлік сыйымдылыққа әсер етеді.

Хош иісті немесе ароматты бөлігін лигнин құрайды, ол көптеген органикалық еріткіштерде іс жүзінде ерімейді. Астық тұқымдастар сабанының лигнині мономерлерге дейін гидролизденбейді және жүйелі тұрақты құрылымы жоқ. Ол негізінен гваяцильді және сиригильді типті құрылымдармен ұсынылған, олар сәйкес 49 және 46 % құрайды, сонымен қатар, гидроксифенильді типті (5%) құрылымдардың аз мөлшерінен тұрады [68].

Целлюлоза, гемицеллюлоза және лигнин өсімдіктердің жасушалық қабырғаларында күрделі лигноцеллюлоза кешенін құрайды, бұл ыдырауға және қантталуға төзімділікті қамтамасыз етеді. Целлюлоза микрофибриллаларына сутекті және ковалентті байланыстардың көмегімен гемицеллюлозды тізбектер алынған. Лигнин полисахаридтермен құрылымы бойынша байланысқан, целлюлозды микрофибриллдерді орап, кристалды мицелдер арасына [37]өтеді.

Сонымен қатар, бидай сабанында аз мөлшерде минералды заттар бар. Сабанда құрғақ заттардың орташа 0,5% азот, 0,25% фосфор, 0,8% калий болады. Макроэлементтер (кальций, магний, күкірт) және микроэлементтер (бор, мыс, молибден, мырыш, кобальт) бар. Бірақ, химиялық құрамы топырақ ерекшеліктеріне, жылына, егін жинау уақытына және бидайдың әр түрлі сорттарының арасында кең көлемде ауытқиды [73].

1.2.2 Бидай сабанының полисахаридтерін қайта өңдеу кезінде ферментті препараттарды қолдану

Өсімдік шикізатының целлюлоза, гемицеллюлоза және лигнинді гидролиздеуді гидролизденетін биополимер құрылымының ерекшеліктеріне және ыдыраудың берілген міндеттері мен дәрежесіне байланысты бір немесе бірнеше ферменттерді пайдаланумен жүзеге асыруға болады. Өнімдері нативті субстраттың үзінділері болатын ішінара гидролиздеуге, ереже бойынша эндо-деполимеразды түрдегі ферменттерді пайдаланады, толық гидролизді ферменттер мен биокатализ өнімдерінің белсенділігіне байланысты бір мезгілде немесе кезектескен түрде гидролизденетін шикізаттың массасына қосып, эндо - және экзо-деполимераз кешенінің көмегімен жүргізеді [74].

Табиғатта осы полимерлердің кезектегі ыдырауымен гидролиз негізінен химиялық, физикалық факторлардың, микроағзалардың, арнайы және субстраттардың құрамына сәйкес олардың ферменттерінің әсері бойынша жүзеге асырылады. Полисахаридтер мен хош иісті немесе ароматты биополимер - өсімдік субстраттарының лигнинді деполимерлеуге қатысатын ферменттердің түзілу қабілеті әртүрлі микроағзаларда кездеседі. Сонымен қатар, өсімдік биомассасының сол немесе басқа құраушыларын бұзатын

ферменттер сәйкес ферменттік кешендерге біріктірілген: целлюлазды-гемицеллюлазды, пектиназды, лигниназды [75].

Осы кешендердің құрамындағы микробтық ферменттердің көпшілігі молекулалық формалардың тұтас қатары, изоферменттер, субстраттық ерекшелікке ие изозимдер, егілу, ерімейтін субстраттың әртүрлі формаларына және оның деструкциядағы рөліне ұқсастық түрінде барлық ағзалармен синтезделеді. Өте жиі, кешен ішіндегі ферменттер арасындағы қатынас синергиялық [76] болып табылады, жүйенің екі немесе бірнеше құраушыларының өзара әрекеттесуі олардың бірге қатысуымен осы ферменттердің жеке әсерінің жиынтық көрінісімен салыстырғанда әсерін күшейтеді. Барлық кластағы ферменттер, олардың түрлері мен ақуыз факторлары, лигноцеллюлоза субстраттарының ыдырау процесіндегі белсенді орталықтар параллельді-кезекті, кейде гидролиз өнімдерінің жиналуына және олардың энзиматикалық реакцияның кинетикалық катализіне әсеріне байланысты кері әсер етеді.

Халықаралық биохимиялық одақ ферменттерінің номенклатурасына сәйкес бидай сабанының полисахаридтерін тиімді деполимерлеу үшін негізінен полисахаридтердің гликозидті байланыстарын ыдырататын гликозилгидролаздардан тұрады. Төменде өсімдік шикізатының полимерлерін тиімді биоконверсиялау үшін қажетті ферменттер, олардың қысқаша сипаттамалары келтірілген. Целлюлолитикалық кешен ферменттерінің әсеріне және олардың сипаттамасына ерекше назар аударылады олар әсер ететін субстрат микробтық синтез өнімдерін алу үдерістерінде бірқатар технологиялық кезеңдерді баяу жүргізу мен қиындықтарға қатты әсер етеді [77].

Целлюлолитикалық ферменттер-бұл кешенді ферменттер, олар *D-глюкоза* қалдықтары арасындағы *1,4-β-гликозидті* байланысты ыдырату жолымен оның мономерге дейін целлюлоза гидролизін жүзеге асыратын ферменттер, сонымен қатар, целлюлоза жоғарғы бетінде әсер ететін өзге ерекшеліктегі ферменттер немесе каталитикалық емес ақуыздар [78].

Целлюлазалар көптеген ферменттерден ерекшеленеді, олар ерімейтін, қиын метаболизденетін субстраттарды ыдыратады. Бұл субстрат жоғарғы бетінде ферменттің тікелей диффузиясын, сонымен қатар, целлюлоза молекуласының сегменті өзінің белсенді орталығына ығысуын қажет етеді, ал еритін субстраттар ферментке диффундирленеді және оның белсенді орталығымен өздері байланысады. Ерімейтін субстраттарды ыдырататын барлық ферменттер, каталитикалық домен және иілімді пептидті линкермен қосылған, субстратты байланыстыратын доменнен тұрады [79].

Бүкіл әлем ғалымдарымен көптеген классикалық және қазіргі заманғы зерттеулер және осы саладағы жеткен жетістіктеріне қарамастан, целлюлазалар әлі сипаттамасы бойынша толық зерттелмеген және анықталмаған, сонымен қатар, гидролаздың осы класына ерекше назар аударуды қажет етеді.

Осы күнге дейін зерттелген целлюлолитикалық ферменттер *эндо-1,4-β-глюканаза*, *1,4-β-глюкан-целлобиогидролаза*, *целлобиогидролаза*, *β-*

глюкозидазалар (целлобиазалар) және 1,4- β -глюкогидролаза болып бөлінеді. Фермент пен олардың өкілдерінің басқа түрлері анықталған және зерттелуде.

Эндо-1,4- β -глюканаза әсерінің ерекшелігі бойынша целлюлозаның β -1,4-глюкозидті байланыстарды гидролиздейді, ірі олигосахаридтер түзіп, полимерлік тізбектің аморфтық аймақтарына әсер етеді, онда субстраттың полимерлену дәрежесінің тез төмендеуі байқалады [80]. Олар жиі ашытатын ферменттер деп аталады. Моно - және дисахаридтер тізбегінен бір мезгілде ыдыраумен целлюлозаны деполимерлейтін эндоглюканаза кездеседі. Эндо-1,4- β -глюканазалар целлюлоза туындысы - карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) ерітіндісінің тұтқырлығын, КМЦ ыдырауын қантқа дейін тотықсыздандырумен төмендетеді. Эндоглюканаздың көп бөлігі-гликопротеиндер, ақуыз молекуласына ковалентті байланысқан көмірсулардан тұрады. Саңырауқұлақтардың эндо-1,4- β -глюканазаларының аминқышқыл құрамын зерттеу, құрамында дикарбон және оксиаминқышқылдарының көп мөлшері бар қышқыл ақуыздар екенін дәлелдейді [81].

Эндоглюканаздарды саңырауқұлақтар, бактериялар және жоғары өсімдіктер шығарады. *Trichoderma reesei* целлюлазды кешенінің құрамында молекулалық массамен, изоэлектрлік нүктелермен, субстратқа әсер ету сипатымен ерекшеленетін эндоглюканаздар анықталады. Осының салдарынан целлюлозаның ферментативті ыдырауы кезінде түрлі қызметтерді атқарады [82]. *Geotrichum candidum* культурасы өсу процесіне эндоглюканаздың көптеген түрлерінің құрамын зерттеу көрсеткендей, бұл 48, 72 және 96 сағаттық культурасында эндоглюканаза құрамына және түріне қатысты әртүрлі болады [77]. Бөлінген эндоглюканаздар КМЦ субстратын қантқа дейін ыдыратудың әртүрлі қабілеттілігімен сипатталады, ал микрокристалды целлюлоза (МКЦ) авицел қантқа дейін ыдырамайды.

Trichoderma viride микромицеттерін өндіретін, зерттелген целлюлоза кешендерінің бірінде бес эндоглюканаз және екі целлюлобигидролаз анықталады. Шамамен 30 көптеген нысандары *Trichoderma reesei* штаммынан табылады [14, 20 б.]. Көптеген түрлер басқа микроағзалардың целлюлазасында, сонымен қатар, жоғары өсімдіктердегі целлюлазда байқалады [15, 16]. Целлюлолитикалық ферменттердің көптеген түрлерінің биологиялық рөлі мен себептері толық анықталмаған. Әдеби мәліметтерден белгілі болғандай, эндоглюканазға полиферментті жүйелердің әрекеттеріндегі маңызды рөлге ие, себебі олар бірінші болып целлюлозаға шабуыл жасайды. Эндоглюканаздармен гликозидтік байланыстардың гидролизі ыдырайтын байланыс конфигурациясын сақтау және трансгликозилирлеумен қатар жүруі мүмкін [17]. Эндоглюканаз әсері полисахаридті субстраттардың (целлюлозаның еритін туындылары тұтқырлығының азаюы) полимерлену (ПД) деңгейінің тез азаюымен сипатталады, нәтижесінде моно -, ди-және трисахаридтер төмен молекулалық өнімдер түзілуі мүмкін [18].

Экзоцеллюлобигидролаза немесе 1,4- β -глюкан-целлобигидролаза-целлюлоза молекуласының соңынан екінші целлюлоза молекуласының гликозидті байланысқа целлюлобиоза түзумен әсер етеді. Ферменттер жоғары ерекшелікке

ие - β -1,4-глюкандарды гидролиздейді, бірақ β -1,3 - және β -1,6-глюкандарға әсер етпейді. Экзоцеллюлаздар «туннель» деп аталатын ішкі белсенді орталықты тасымалдайды және тек ғана тізбектің ұшында субстрат молекулаларымен байланысуы мүмкін, молекуланы үдемелі гидролиздеумен, тізбектің бір шетінен екіншісіне өтеді. Осылайша, экзоцеллюлаздардың КМЦ-де белсенділігі төмен және оның тұтқырлығын азайтпайды. Экзоцеллюлаздың екі түрі бар: біріншісі целлюлоза молекуласының тотықсыздандырушы соңын "шабуылдайды", екіншісі субстраттың тотықсыздандырмайтын соңымен байланысады [83].

Целлюлобιοгидролаздар, өз кезегінде, аморфты және кристалды целлюлозаны гидролиздеу қабілетіне ие, полимерлі молекулалардың соңынан бастап целлюлобиозаның қалдықтарын ыдыратып, жартылай гидролизденген субстратқа әсер етеді [31]. Көптеген целлюлобιοгидролаз-гликопротеиндер, құрамында 9% - ға дейін бейтарап көмірсулар қоспасы бар, негізінен манноза, глюкоза, галактоза және глюкозамин аз мөлшерінен тұрады [83].

Целлюлобиаза немесе β -глюкозидазалар - целлюлозаның полимерлік молекулаларына іс жүзінде әсер етпейді, бірақ құрамына 6 глюкозалық бірлікке дейінгі құрамды қысқа целлюлоолигосахаридтерді ыдыратуы мүмкін. β -глюкозидазаның құрамы мен қасиеттеріне целлюлозаның ыдырау тереңдігі байланысты, β -глюкозидазаларды микроағзалар, өсімдіктер мен жануарлар шығарады. Целлюлобиаз β -глюкозидтер және олигосахаридтер көмегімен ыдырауда, микроағзалар глюкозаны көміртегі мен энергияның көзі ретінде өзінің өсуі мен дамуы және метаболизмі үшін қолданады [77].

Экзоглюкогидролаза немесе 1,4- β -глюкан-глюкогидролаза целлюлоза молекуласының тотықсыздандырмайтын ұшынан глюкозаны ыдыратады. Целлюлобιοзды өте баяу гидролиздейді [84].

Гемицеллюлаз ферменттері - бұл гидролаз класындағы гемицеллюлоз (глюкандар, пентозандар, ксиландар) деполимеризациясын жүзеге асыратын ферменттер. Оларды үш топқа бөледі: β -глюканаза, β -ксилаза, β -гликозидазалар. β - глюканаз тобындағы ферменттер β -1,2-, β -1,3- β -1,4- β -1,6-байланыстармен β -глюкандарды ыдыратумен катализдейді [69]. Бұл құрамында көмірсулар үзінділері (манноза, галактоза, глюкоза қалдықтары) бар қышқыл ақуыздар. β -ксилазалар β -гликозидті байланыстарға эндо-және экзо - деполимеразды механизмдер бойынша әсер етеді. β -гликозидазалар экзо-деполимеразды әсер ететін ферменттер, β -1,4-байланысты β -D-гликозидтердің полимерлік тізбегінің түзбейтін шетімен (реакцияның өнімі – β -D-глюкоза) шабуыл жасайды [68]. Ферменттердің бұл тобы үшін кең субстраттық ерекшелік тән, олар β -D-галактозидтер, β -L-арабинозидтер, β -D-ксилозидтерге әсер етеді [70].

Гемицеллюлаздар гемицеллюлозды кешенді қанттандыру үшін өсімдік шикізатын қайта өңдеу кезінде кеңінен қолданылады. Олардың көмегімен глюкоза және пентоза алынады [85], олар азықтық ақуыз препараттарының өндірісінде [86], азықтық жемдер өндіруде [87], фурфуролды [39], этанолды

[35], ксилитті [16], биогазды алуға [7] және микробтық синтез бен ресинтез арқылы басқа өнімдерді алуда қолданылады.

Энзимдердің гемицеллюлазды кешендері микроағзалардың әртүрлі түрлерін өсіру жолымен алынады, мақсатты ферменттердің продуценттері көбінесе *Trichoderma viride* [88], *A. awamory* [89], *A. foetidus* [90], *Trichothecium goseum* [91] түрлерін пайдаланады.

Пектолитикалық ферменттер (пектиназа) - өсімдік жасушасында және басқа биологиялық нысандарда болатын пектинді заттардың ыдырау реакцияларын катализдейтін ферменттер. Пектиназаларды шартты түрде бөлуге болады: ферменттер, судың (гидролазаның) қатысуымен гидролиздейтін пектинді заттар және ыдырату өнімдерінде (лиазалар) екі есе байланыс түзетін пектинді заттарды ыдыратуды жүзеге асыратын гидролитикалық емес ферменттер. Бұл класс пектинэстераза және полигидролазадан тұрады [92]. Пектолитикалық ферменттер реттелмеген тәсілмен α -D-галактуронандарда галактопиранозилурон қышқылы қалдықтарының арасындағы ішкі α -1,4 байланыстарын ыдыратады. Пектиназдар өсімдіктердің жасушалық қабырғасын түрлендіретін ферменттер ретінде қарастырылады. Олардың әсерінен жасушалық қабырғаның басқа полисахаридтері оларды ыдырататын ферменттермен шабуыл жасауы мүмкін [93].

Пектолитикалық ферменттердің продуценті негізінен *Aspergillus* тектес микроскопиялық саңырауқұлақтар, сонымен қатар, *Penicillium* [94], *Botrytis* [95], *Trichoderma* [96], *Fusarium* [97], *Sclerotinia* [98] тектері саңырауқұлақтарының әртүрлі түрлері болып табылады. Сонымен қатар, пектиназ биосинтезіне қабілеті, *Clostridium* [99], *Bacillus* [100], *Pseudomonas* [101], *Erwinia* [102], *Xanthomonas* [103] тегінің әр түрлі бактерияларында байқалады.

Лигнинолитикалық кешеннің ферменттері номенклатураға сәйкес негізінен оксиредуктазалардан тұрады, лигниннің ыдырауы тотығу процесінде жүзеге асырылады, онда осы жүйенің бірқатар тотықтырғыш ферменттері қатысады: лигнинпероксидаза, марганец-тәуелді пероксидаза, лакказа, пероксидаза, полифенолоксидаза, монофенолоксидаза, тирозиназа және т.б. [7]. Субстраттың тотығу реакциялары лигнинпероксидазаны белсенді күйге айналдыру үшін қажетті оттегі мен сутегі пероксидінің қатысуымен өтеді [87]. Лигниназды кешеннің ферменттері *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete sanguinea*, *Panus tigrinus*, *Bjerkandera adjusta*, *Phlebia radiata*, *Trametes versicolor*, *Lentinula edodes*, *Coriolopsis occidentalis*, *Trametes hirsuta*, *Merulius tramellosus*, *Trametes gibbosa* және басқа жоғарғы саңырауқұлақтарда анықталады [104 - 106].

Осылайша, целлюлазды, гемицеллюлазды, пектиназды және лигнинолитикалық кешендер ферменттерінің гидролизіне сәйкес субстраттардың құраушылар құрамын талдаумен, өсімдік шикізатының жоғары молекулалы биополимерлерін құраушы мономерлер түзумен, ыдыратуды жүзеге асыруға болады. Әр түрлі таксономиялық топтағы микроағзалар арнайы жағдайларда өсімдік полимерлерінің ыдырауын жүзеге асыратын ферменттердің нақты шамадағы санын түзеді [106]. Бірақ, қазіргі белгілі

продуценттердің бірде-бірі, ферменттер көздері, олардың әртүрлілігіне, қасиеттеріне қарамастан, толық, сәйкес жиынтыққа, теңдестірілген ферменттердің санына ие емес, бұл оларды өнеркәсіптік жағдайларда және ірі көлемде пайдалануды шектейді [107].

Сондықтан, гидролиздің тиімділігін арттыру және полисахаридтерді, өсімдік биомассасының биополимерлерін конверсиялау үшін белгілі продуценттермен салыстырғанда жетілдірілген, белсенді ферменттік жүйелері бар микроағзалардың жаңа, жоғары белсенді культураларын іздестіруді жүзеге асыру [108], сонымен қатар, белсенді микроағзалар – ферменттердің продуценттері негізінде алынған мультиэнзимдік композицияларды жасау және пайдалану қажет [109].

Бұл жағдайда әртүрлі көздерден алынған ферменттер бір-бірін кооперативтік түрде толықтырып, жоғары синергиялық және тиімді кешен құруы керек деген фактіге назар аудару керек [110]. Сондықтан, осы саладағы маңызды міндеттер микроағзалардың жаңа культураларын анықтау [111]; өсімдік биополимерлерінің ыдырауына қатысатын ферменттерді синтездеу шарттарын оңтайландыру; аралас культураларды қолдану мүмкіндігі; ферменттер мен субстраттардың қасиеттерін, ферментативті өңдеу алдында әдістерін зерттеу [106]; субстраттың ферментативті гидролизінің жағдайлары, соңында, осы негізде ауыл шаруашылығы қалдықтарын химиялық жолмен, синтез, пиролиз және басқалармен алу мүмкін емес биологиялық құнды өнімдердің тұтас қатарына және жиынтығына тиімді айналдыруға бағытталған нақты, экологиялық қауіпсіз технологиялық процестерді жасаудан тұрады [4].

1.2.3 Бидай сабанындағы полисахаридтерінің деполимеризациясында мультиэнзимді композицияларын қолданудың артықшылықтары

Авторлар тобының зерттеулері көрсеткендей, мультиэнзимдік композицияларды (МЭК) қолдану негізгі және 4 қайталама шикізатты, сонымен қатар, тағамдық емес, өнеркәсіптік, ауыл шаруашылығының қалдықтарын терең және кешенді қайта өңдеудің принципті жаңа технологияларын жүзеге асыруға мүмкіндік береді [112]. МЭК қолдану қажеттілігі өнеркәсіп, көптеген отандық, шетелдік фирмалар мен компаниялар шығаратын техникалық ферменттік препараттар соңғы уақытта субстраттардың аз шеңберіне қатысты ферменттік кешеннің құрамы бойынша теңдестірілген [113]. Өсімдік биомасса құрамында целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин және басқа бірқатар қосылыстар бар болғандықтан, гетерогенді құрамды көп құраушымен өсімдік шикізатының терең гидролизі әртүрлі ферменттері бар құрама препараттарды қолданғанда ғана мүмкін, олар кең, кейде аз субстраттық ерекшелігі мен қасиеттерге ие [114]. МЭК сапалық және сандық құрамдарын моделдеу мен құру субстратқа әсер ету кезінде олардың ең көп белсенділігіне жету үшін қажет, нәтижесінде, экрандаушы агенттерді, аралық катализ өнімдерін және реакциялық қоспадағы төмен молекулалық заттарды ұстаумен, өсімдік биополимерлері ыдырауының ең үлкен жылдамдығы байқалады [115].

Алға қойылған мақсатқа жету және ферментті препараттармен өңдеудің жетілдірілген әсерін арттыру мен олардың өсімдік биомассасының гетерополимерлік жүйесінің белгілі бір құрылымдық құраушыларына әсерін реттеу үшін маңызды технологиялық міндет МЭК құрамындағы барлық ферменттердің, оның ішінде ықтимал жанама биокатализаторлардың каталитикалық қабілетін жүйелі бақылау болып табылады. Сонымен қатар, биопрепараттардың әсерін реттеу және алынатын нәтижелердің тұрақтылығын қамтамасыз ету негізінде жалпы, жедел, меншікті белсенділікті ескеріп, ферменттердің белсенділік көрсеткіштеріне талдау қарастырылады. Энзимдердің каталитикалық қасиеттері мен белсенділіктерін мұндай бағалау биомодификация, биодеструкция тиімділігін қамтамасыз ету үшін ферменттердің белгілі бір нысандары мен олардың комбинацияларын мақсатты түрде іріктеуді, көп құраушымен полимерлік жүйелерді ыдыратуды, соңғы өнімнің сапалық, сандық көрсеткіштері келтірілген өсімдік шикізатын өңдеудің технологиялық процесінің міндеттеріне сәйкес күрделі гетерогенді құраммен қамтамасыз етуге мүмкіндік береді. Сонымен қатар, МЭК оңтайлы құрамын зерттеу және жасау олардың ыдырау процестерін толық бақылау кезінде өсімдік биополимерлерінің гидролизімен байланысты аз шығынды технологияларды жасауға, дәнді дақылдар сабағын қайта өңдеудің технологиялық сатыларының уақыт аралығын азайту мүмкін болады [109].

Сонымен, МЭК пайдалану ферменттердің теңдестірілген кешендерін және отандық шикізатқа, өнеркәсіптің түрлі салаларына арналған шарттар мен технологиялық процестерге бейімделген препараттарды алуға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, кейбір аэробты саңырауқұлақтар, лигнинді емес, целлюлозаны ыдыратуға қабілетті, мысалы, белгілі *Trichoderma reesei* целлюлозаны ыдыратады, ол коммерциялық целлюлазды алу көзі болып табылады, оны бос целлюлазаның әсер ету механизмін анықтау үшін пайдаланады, ал патогенді саңырауқұлақтар (мысалы, қоңыр шірік қоздырғыштар) пероксидаздармен бірге целлюлаздарды секретирлейді, кейде үдемелі белсенділікті білдіреді [104].

Целлюлазды МЭК құраушылары целлюлозды субстратқа қатысты ғана емес, сонымен қатар талшықты материалдардан гемицеллюлозды қосылыстардың құрамындағы β -глюкандар мен ксилоглюкандарға белсенділік көрсетеді. Атап айтқанда, эндоглюканаздың әсерінен дәnnің β -глюкандардың және лихетин гидролизі белгілі, сонымен қатар, авторлар [41] субстратта β -1,3-байланыстардың болуы гемицеллюлазды субстраттың макромолекуласы бар ферменттің каталитикалық актісін жүзеге асыруға кедергі болмайды.

Целлюлолигнолизис кезінде пероксидтермен түзілетін пероксидтер мен ОН-радикал целлюлозаның ыдырауын, ферменттің белсенді орталығының якорлы аймақтарын гетерогенді қоспалардан босатып, биополимерлердің алифатикалық гидроксилді радикалдарын тотықтыру жолымен, субстраттарды тотықтыру және тотықсыздандыру электрондарын босатумен жеңілдетеді. Осылайша, патогенді саңырауқұлақтар модификацияланбаған кристалды целлюлозаны ыдыратын целлюлаз жиынтығын пайдаланады. Мысалы, *Postia placenta* қоңыр шірік қоздырғышы тек бір эндоглюканазды секретирлейді, ал

бос өмір сүретін целлюлолитикалық бактериялардың көпшілігі целлюлаздың алты және одан көп молекулалық түрлерін шығарады, сонымен қатар, жасушаның ішінде арнайы органелл-целлюлосомалар құрып, оларды оқшаулау микробты жасушамен синтездеу кезінде жүзеге асырылатын целлюлаздың тағы үлкен жиынтығымен жинайды [116]. Көптеген ферменттер, әсіресе ағаш бұзатын пероксисомалар түзе алады, онда микробтық синтездің оксилитальды ферменттері оқшауланады.

Осылайша, мультиферментті кешен, гидролитикалық ферменттердің теңестірілген кешені (пектиназ, целлюлаз, гемицеллюлаз және β -глюканаз және олардың түрлері) полисахаридтердің түрлі топтарының тиімді ыдырауын қамтамасыз етеді. Мысалы, жүзім сүйегі, еті, шырынының қатты бөліктерінен және құраушыларын тұндырумен алынған, тұнатын заттардың жоғары құрамы бар полисахаридтердің гидролизінде, антиоксиданттық және емдік қасиеттермен, фенолды қосылыстардың оңтайлы құрамы бар жоғары сапалы шараптар алынады [117].

Қазіргі уақытта Ресей, Украина, Белоруссияның ферменттік өнеркәсібі шығаратын МЭК "Целловиридин Г20Х" кешенді ферменттік препаратында негізінен целлюлазды мультиэнзимді кешен ферменттерінің екі құраушысы бар: экзо-1,4- β -глюкозидаз және целлюлобιοгидролаз, сонымен қатар, МЭК пектиназды кешенінің құрамындағы пектинэстераз және экзогенді полигалактуроназалар.

Өсімдік субстраттарын қайта өңдеудің жаңа технологиялық процестерін жүзеге асыру өсімдік шикізатын алдын ала өңдеуді ғана емес, оны оптималды ферментативті гидролиздеу мәселелерін шешуді қажет етеді [118]. Ферментативті гидролизді пайдалану қанттардың, сонымен қатар, басқа бағалы биотехнологиялық өнімдердің нақты шамадағы мөлшерін алуға әсер етеді [4]. Целлюлозолитикалық микроағзалардың көмегімен целлюлозаның ферментативті гидролизі, табиғи жағдайларда және бүтін экожүйелердің әртүрлі аралықтарында жүретін, жер бетінде жаһандық көміртегі айналымының негізгі буындарының бірі болып табылады. Топырақтағы микроағзалардың көптігіне қарамастан, олардың аз ғана пайызы және тұрақтылары, бейімделгендер целлюлозаны ыдыратуға қабілетті болады [119]. Биосинтез, целлюлолитикалық ферменттердің бүтін жиынтығы секрециясына тікелей байланысты, целлюлозаны ыдырату үшін микроағзалармен пайдаланылатын бес түрлі механизмдер бар.

Нәтижесінде, целлюлозолитикалық микроағзаларды және олардың ферменттерін іздеу, бөлу, зерттеу және пайдалану өсімдік қалдықтарының түрлері ыдырауының жоғары тиімді технологиясын жасау үшін әртүрлі, кейде бірегей мүмкіндіктерді көрсетеді. Өкінішке орай, осы тұрғыдан біздің мүмкіндіктерімізді шектейтін екі негізгі мәселелер бар: біріншіден-бұл ыдырайтын субстраттарға қатысушы және түзетін микроағзалардың әртүрлілігі, екіншіден-бастапқы белсенді күйдегі таза культураларға оларды бөлу қиындықтары және табиғи жағдайларға жақын тіршілік ету орындарына ең жуық жағдайлардың болмауы [120].

Лигноцеллюлозды қалдықтардың үлкен қоры көрсеткендей, микробтық синтез және ыдырау жолымен оларды пайдалы өнімдерге айналдыру мүмкіндігі, терең ыдырау және биоконверсия процестері-бұл целлюлозолитикалық микроағзалар мен өсімдік қалдықтарын пайдалануға негізделген биотехнологияның аса маңызды және келешегі бар бағыттары. Ауыл шаруашылығы мен өнеркәсіптің қалдықтары мен жанама өнімдерін қайта өңдеу (биodeградация) бір мезгілде екі негізгі маңызды мәселені шешуге мүмкіндік береді: өндірістік және табиғатты қорғау міндеттері. Сонымен қатар, бұл екі бағытта жетістікке жету үшін, сызбалық түрде бір бүтін, бұл қайта өңдеу (биodeградация) және қажетсіз (көбінесе, экологиялық зиянды) шикізаттың биоконверсиясы, пайдалы өнімдерге қалдықтарды өңдеуден тұрады [89].

Биоконверсия процесінің маңызды ерекшелігі өсімдік субстраттарының мономерлерге дейінгі ыдырау реакциялары және аралық өнімдердің түзілуі биологиялық жолмен, микроағзалар ферменттерінің көмегімен жүзеге асырылады, бұл технологияны арзан, жеңіл, тез табылатын және үнемді етеді. Мұндай технологиялар қажетті микроағзалармен энзимдерді синтездеу үшін оңтайлы жағдайлар жасауды және оларды ең аз өндірістік шығындар, мақсатты өнімнің ең көп шығымы кезінде үнемді жүйеде алуды ұйымдастыруды қажет етеді.

Бірқатар жұмыстардың авторлары [121] көрсеткендей, аграрлық сектор қалдықтарын қайта өңдеудің технологиялық процестерін сәтті қарқындату ферментативті гидролизді жоғары қарқынмен жүргізуге әсер етеді.

Целлюлаз кешенінің биосинтезі бойынша ең танымал және өнімді микроағзалардың бірі *Trichoderma viride (reesei)* саңырауқұлағы қарастырылады, ол сыртқы ортаға целлюлолитикалық ферменттердің толық жинағын, сонымен қатар, гемицеллюлаздарды, бірақ пектиназалардың аз мөлшерін, жанама амилазалар, липазалар және ротеиназалар аз мөлшерін секретирлейді. Эндоглюканаза осы культурамен синтезделеді, нативті целлюлозаға қатысты жоғары адсорбциялық қабілетке ие, бұл ағзаның целлюлолитикалық ферменттік препараттарын іс-тәжірибелік қолдану үшін өте маңызды [121-124].

Сулы-бутанолды және азот қышқылды делигнификация нәтижесінде алынған целлюлоза *Trichoderma viride* және *Aspergillus foetidus* саңырауқұлақтары ферменттерінің жиынтық препаратымен тиімді гидролизденеді, іс-тәжірибеде моноқанттарға толық айналады (глюкозаның реакциялық қоспадағы мөлшері 86% - ға жуықты құрайды). Тотықсыздандыру нәтижесінде, глюкоза мен ксилозды қыздыру кезінде катализатордың қатысуымен көпәтомды спирттерге айналады. Осы әдістермен глюкоза мен фруктозаны тотықсыздандыруда сорбит, ал ксилозадан – ксилит [122] түзіледі. Бұл қанттар қант диабеті, холецистит және т.б. асқазан-ішек ауруларымен ауыратын науқастарды емдеу үшін фармацевтикалық іс-тәжірибеде сәтті қолданылады.

Trichoderma viride 44 және *Aspergillus foetidus* D-73 саңырауқұлақтарының штаммдарын бірігіп өсіру кезінде әртүрлі процестерде целлюлозаның конверсиясын нақты шамада қарқындылауға және гидролиз өнімдерінің концентрациясын 15% арттыруға мүмкіндік беретін МЭК алынады [123].

Penicillium verruculosum ВКМ F-3972D штаммын өсіруден алынған целлюлоза, ксиланаза және ксилоглюканаза кешенінің ферменттік препараты целлюлоза және гемицеллюлоза бар өсімдік субстраттарының, соның ішінде өнеркәсіп және ауыл шаруашылығы қалдықтарының биобидеруын жүзеге асырады. Бұл процесс қанттар, биоэтанол және микробтық синтездің басқа өнімдерін тамақ және спирт өнеркәсібінде, сыра қайнатуда, жемге қосымша ретінде, ауыл шаруашылығында жемді сүрлемдеу үшін және т.б. алуды қамтамасыз етеді [124].

Осылайша, лигноцеллюлоза қалдықтарының ферментативті гидролизі саласында жүргізілген зерттеулер мен жеткен жетістіктер, атап айтқанда, целлюлоза және өсімдік биомассасының ферментативті қанталуының өнеркәсіптік технологиясы, қалдықтарды алдын ала өңдеуден, ферменттерді дайындаудан, процестің барлық кезеңдерін оңтайландырудан және оларды енгізуден бастап барлық кезеңдерді қосып, оны кешенді қайта өңдеу сызбаларын жасауды қажет етеді [125].

Целлюлолитикалық ферменттердің жоғары құны, субстраттар гидролизінде олардың белсенділігінің нақты шамада жоғалуы, алдын ала өңдеу қажеттілігі, ферментативті конверсия кезеңдері, өсімдік шикізатының химиялық құрамы сәйкес тәсілді және тиісті ферменттер мен олардың кешендерін қажет етеді. Ферментациялау үшін сәйкес технологиялық торапты құру, қалдықтарды әртүрлі тәсілдермен ферментациялау, өнімді реакциялық қоспадан шығару, культураларды гендік-инженерлік құрастыру, өсімдік субстраттары биоконверсиясының тікелей белсенділігі бар табиғи текті бағалы өсімдік шикізатының биополимерлерін өңдеудің кешенді тәсілін жасаудың басты міндеті болып табылады.

1.2.4 Глюкоза және сорбит алу үшін бидай сабаныны полисахаридтерінің ферментативті гидролизі

Қазіргі уақытта ферментативті гидролиз косметикалық, химиялық және медициналық өнімдерді өндіру үшін шикізат алудың ең танымал тәсілі болып табылады. Мұндай процесс ферменттерді қолдану арқылы крахмалы бар материалдарды гидролиздеу негізінде жүзеге асырылады. Ереже бойынша, шикізат ретінде крахмал бар тағамдық биомассаны пайдаланады, бұл осы процестің құнын арттырады. Осындай құнды шикізатты пайдалануды болдырмау үшін, нәтижесінде глюкоза түзетін целлюлоза материалдарының ферментативті гидролизіне зерттеу жүргізіледі.

D-сорбитті алу негізінен D-глюкозаның гидрогенизациясы және құрамында глюкоза бар шикізаттың гидрогенолизімен байланысты [62, 63]. Гидрогенизация процесін әртүрлі тәсілдермен жүзеге асырады: биотехнологиялық, электрохимиялық, гомогенді және гетерогенді каталитикалық жүйелерді пайдалану. Аталған тәсілдердің ішінен бірқатар талаптарға жауап беретін тәсіл қолайлы: жоғары тиімділік, сапа, қауіпсіздік, технологиялық қамтамасыз етудің қарапайымдылығы, жұмыс жасау қолайлылығы, ресурстық, энергетикалық және күш шығындарын азайту, экономикалық пайда, сонымен қатар, адамдар мен қоршаған ортаның экологиялық қауіпсіздігі. Әдебиет пен әлемдік зерттеулерді талдау және біздің аналитикалық ой көрсеткендей, жоғарыда көрсетілген талаптарға ең көп заманауи, D-сорбитті өндірудің каталитикалық, энзиматикалық тәсілі сәйкес келеді. Қазіргі уақытта каталитикалық жүйелерді пайдалану химия өнеркәсібінде жүзеге асырылады.

1.2.5 D - сорбитті алудың биотехнологиялық тәсілдері

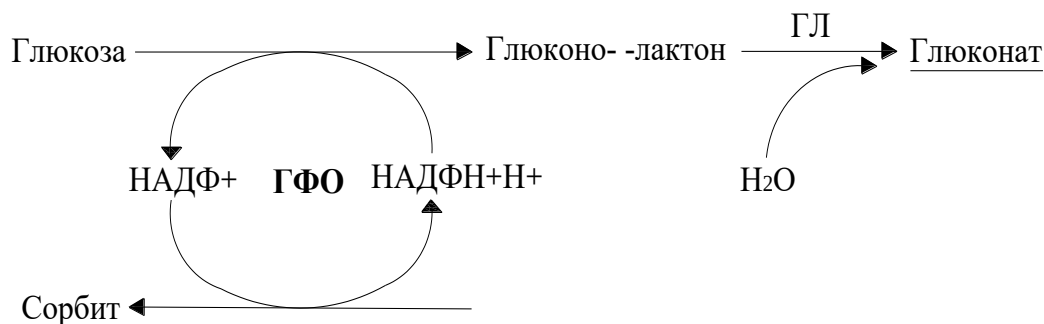
Көптеген биотехнологиялық процестер жасушаның өзінде өтетін биохимиялық, метаболикалық жолдарға немесе олардан оқшауланған биологиялық құрылымдарға, физиологиялық және биологиялық белсенді заттарға, көбінесе ферменттерге негізделеді. Мысалы, наубайхана, нан пісіретін ашытқылар мен сусындар, ашыту өнімдері, этанол, көптеген органикалық (лимон) қышқылдары мен амин қышқылдары, полисахаридтер өндірісі тәріздес ірі тоннажды өндірістерде ферментациялық процестерде, микроағзалардың белсенді, арнайы селекцияланған культуралары пайдаланылады. Микроағзалар штаммдары антибиотиктер, дәрумендер, гормондар, биостимуляторлар жұқа биосинтезінде, соңғы уақытта биопестицидтер мен өнеркәсіптік және фармацевтиканың түрлі салалары үшін микробтық синтездің басқа құнды заттарында қолданылады [64]. Мысалы, *Zyotomonas mobilis* микроағзаларының ферменттік жүйелерінің қатысуымен ферменттік ақуыздардың тотығу-тотықсыздану реакциясының нәтижесінде глюкозадан сорбит алынады [65-67].

1984 жылы Viikari мен Barrow және басқалар [68], алғаш рет *Zyotomonasmobilis* (*Z.mobilis*) анаэробты бактерияның сахарозадан немесе глюкоза мен фруктозадан сорбит синтездеу қабілетін анықтайды.

Zachariou және Scopes [69] қызметкерлермен бірге *Z. mobilis* бактериямен сорбит синтезінің биохимиялық механизмін зерттейді. Көрсетілгендей, олар 40000 дальтон молекулалық салмағы бар глюкозо-фруктозды- оксиредуктаза (ГФО) тетромер энзим, бұл фермент фруктозаны сорбитке дейін тотықсыздандыру және глюкозаны дегидрлеу процестеріне жауапты, никотинамид-аденин-динуклеотид (НАД) фосфатпен (НАДО) тығыз байлнысқан. Одан басқа, олар глюконо-5-лактоназа (ГЛК) болуын анықтайды, ол глюконо-8-лактонды глюкон қышқылына дейін гидролиздейді (1-сурет).

Глюкоза мен фруктоза эквимоллярлы ерітіндісінің биоконверсиясын жүргізу үшін *Z.mobilisatcc-29191* жасушаларының штаммын [70] пайдалану 600

г/л дейін концентрациясы бар D-сорбит пен глюконо қышқылын сәйкес 240 және 210 г/л концентрацияларын алуға мүмкіндік береді. Одан әрі, авторлармен тәжірибелерде оңтайлы эмульгатор ретінде цетилтриметиламмоний бромиді қолданылады. Цетилтриметиламмоний бромидімен өңделген бос жасушалар D - сорбит және глюконо қышқылы бойынша өнімділіктің түзілуі 1,8 -2,1 г/(г жасуша-сағ) 98-99% селективтілікке жетуге мүмкіндік береді. Сонымен қатар, К-каррагинан тасымалдаушыларда жасушаларды иммобилизациялау, олардың белсенділігінің жоғалуына әсер етеді, бұл каррагинан полисахаридіне жасушаларды иммобилизация процесінде диффузияның немесе ГФО-ның инактивациясының қиын нәтижесі болып табылады.



Сурет 1 – Глюкоза мен фруктозаны сорбитке дейін айналдыру және глюконат ГФО мен ГЛК ферменттер әсері

Жұмыста автормен [71] гендік инженериядағы әдіс ұсынылады және микробиологиялық өнеркәсіпте қолданылуы мүмкін. Арабит өндіретін ашытқылар немесе саңырауқұлақтар D-ксилоза синтезіне жауапты кодтаушы ген, ДНК тасымалдайды, ол D-арабитолдегидрогеназа мен ДНК, ксилитолдегидрогеназа түзуге кодталады.

Содан кейін, ксилиттің белсенді синтезін қамтамасыз ететін жағдайларда өзгеріске түскен ашытқы немесе саңырауқұлақтар өсіріледі, олар реакциялық ортадан бөлінеді. Ашытқылар ағзалары ретінде *Lugosaccharomuces rouxii*, *Candida polymorpha*, *Torulopsis candida*, *Pichia farinosa*, *Torulaspora hansenii*, саңырауқұлақтар жасушалары *Dendruphiellasalina* және *Schizophulum commune* алынады. Таңдап алынған микроағзалар мен қолданылатын әдіс көміртегі көздерін оңай тез алуға, мысалы D-глюкоза ксилитке айналдыруға мүмкіндік береді.

Жұмыста [72] биомассадағы целлюлоза мен гемицеллюлоза алдымен концентрациялы күкірт қышқылымен кристаллизациялайды (бірінші кезең) және қышқылмен гидролиздейді, нәтижесінде қант және қышқыл субстратынан ыдыраған қаныққан гидролизат алынады. Осыдан кейін биомассадағы кремний тотығын алып тастайды және оларды қайта өңдеуге жібереді. Содан кейін реакциялық қоспаның қалған қатты қалдықтарын қайта кристалдануға және қайта гидролиздейді. Нәтижесінде алынған қанттар ерітіндісі осыдан кейін гексоздар мен пентоздарды бір мезгілде ферментациялауды қамтамасыз етумен, осы микроағзаларды, негізінен ашытқылар мен бактерияларды пайдаланып, ферментацияға жібереді. Бұл әдіс

құрамында целлюлоза мен гемицеллюлоза бар, субстраттар биомассасынан қанттар ерітіндісін алуға мүмкіндік береді. Мұндай әдіс экономикалық тиімді, қажетті, теріс әсер етпейді және қоршаған ортаны ластамайды.

Жұмыста [73] авторлармен құрамында целлюлоза бар шикізатты ферментативті гидролиз үшін алдын ала өңдеу тәсілі сипатталған, онда шикізаттың суспензиясын дайындау және қышқыл ерітіндісімен өңдеу, бастапқы шикізат көзінің қышқыл ерітіндісі ретінде 2,8-6,5% концентрациясы бар азот қышқылы ерітіндісін пайдаланады. Одан кейін, ерітіндіні 98-100°C температураға дейін қыздырады және 1-5 сағат бойы ұстайды, алынған өнім сүзіледі және бейтарап реакцияға дейін мұқият жуылады. Мұнда авторлар құрамында целлюлоза бар шикізат ретінде мискантус немесе астық дәндердің жеміс қабықтары қолданылады. Өңдеу аяқтағаннан кейін, өңделген қышқыл ерітіндісін концентрацияланған азот қышқылының 2,8-6,5% ерітіндінің концентрациясына дейін келтіреді және бұл қышқылдарды бірнеше рет қайтадан пайдалануға мүмкіндік береді. Осылайша, өңделген минералды тыңайтқыштар түрінде ауылшаруашылығында пайдалану үшін аммоний нитраты алумен 18-25 циклды ерітіндісін аммиакпен бейтараптайды.

Жұмыста [74] микробиологиялық, тамақ өнеркәсібіндегі, сонымен қатар, субстраттардың меншікті жоғарғы бетін арттыру мақсатында кристалдық құрылымын ыдырату үшін құрамында целлюлоза бар шикізатты (арпа немесе күріш бөліндісі, немесе мақта линт немесе қоза-пая) қайта өңдеуді қарастыратын, целлюлоза бар, қалдықтарды қайта өңдеуге арналған әдіс сипатталған.

Бұл өңдеу экструзия жолымен жүреді, *Aspergillus mix* В 2000 немесе *Bacillus- 1mix* не Целловиридин Г20х, фермент: экструдат қатынасында = 1-3:1-9 сәйкес саңырауқұлақтарынан алынған, препараттармен экструдатты ферментативті гидролиздеу жүргізіледі. Ұсынылатын әдіс қалдықсыз, экологиялық және арзан, қолданылатын субстраттың биоконверсиясы үшін қажетті уақыттың нақты шамада қысқаруы кезінде бастапқы шикізат биоконверсиясының жоғары дәрежесімен сипатталады.

Алдымен сулы қант ерітіндісін алу үшін құрамында целлюлоза бар шикізатты гидролиздеуді қарастыратын әдіс [75] жасалған, содан кейін алынған сулы қант ерітіндісін нанофльтрациялық мембрана және/немесе кері осмотикалық мембрана арқылы сүзеді. Тазартылған қант ерітіндісін енгізу жағынан жинайды және сүзгі жағындағы сол заттың ингибирленген ферменттер белсенділігін алып тастайды. Көрсетілген ингибирлеуші заттар ферментацияда органикалық қышқылдар фуран қосылыстары және фенол қосылыстарынан бір немесе одан көп қосылыстар түрінде кездеседі. Өнертабыс ингибирлеуші ферментациядан тазартылған қант шәрбатын алуға мүмкіндік береді. Қолданылатын әдіс қарапайым, ол энзиматикалық катализдің әртүрлі өнімдерін алудың ферментативті әдісінің тиімділігін жоғарлатады.

Silveira және басқалар [76] D-сорбит пен глюкон қышқылын алуға *Zutomonas Mobilis* тегіне және түріне қатысты 6 штаммдарының белсенділігін салыстырады.

Zumomonas mobilis ATC-29191 штаммасы басқалармен салыстырғанда жақсы өсу мен өнімдердің жоғары шығымын көрсетеді. Бұл штаммды қолдануда анықталғандай, культивирлеудің кезеңдік жүйесінде және өсу процесінде D-сорбит пен глюкон қышқылының шығымына субстраттардың бастапқы концентрациясы әсер етеді [77]. Глюкоза мен фруктозаның эквимолярлы концентрациялары 100-ден 750 г/л-ге дейін өзгереді, онда субстраттың бастапқы концентрациясы 650 г/л-ге дейін жоғарлауында өнімділіктің артуы, ал концентрация 750 г / л жеткенде өнімділіктің төмендеуі байқалады.

Сонымен қатар, 100 г/л бастапқы концентрациясы кезінде глюкоза мен фруктоза сорбит пен глюкон қышқылына, әсіресе реакцияның бастапқы кезеңінде бірдей айналғаны анықталады. Бірақ, 20 минуттан кейін қанттың метаболизмінде өзгерістер байқалады, сипаттамасы: глюкозаны тұтынудың жоғарылауы, фруктозаны тұтынудың тез төмендеуі, сорбит шығымының төмендеуі және глюкон қышқылы концентрациясының азаюымен сипатталады. Субстраттар концентрациясын 600 г/л дейін арттыру қанттардың сорбитке және глюкон қышқылына дейін толық конверсиясына әсер етеді. Екі қанттың бастапқы концентрациясын арттырумен өнімдер шығымының жоғарлауы екі әсердің салдары, олар жасушаның өткізгіштігін жоғалту және қант метаболизмін тежеуден тұрады. Субстраттардың жоғары бастапқы концентрациялары әсері биоконверсия процесі басталғанға дейін және процесс аяқталғаннан кейін жасушалар санын есептеу жолымен анықталады. Анықталғандай, субстраттар концентрациясы 400 г/л кезінде жасушалардың бастапқы концентрациясы 2×10^9 жасушаны/мл және инкубациялаудың 3 сағатында 2×10^4 жасушаға/мл дейін төмендейді, субстраттың бастапқы концентрациясы 650 г/л және жасушаларды соңғы есептеу кезінде сағаттан кейін олардың концентрациясы 8×10 жасуша/мл құрайды. Бұл субстраттар концентрациясының артуы өсетін жасушалар түзілуін төмендетуге әсерін айқындайды. Сонымен қатар, тәжірибелер нәтижелері көрсеткендей, алынатын өнімдер бактерия жасушаларымен глюкоза тұтынуды тежейді. Осылайша, жасушалар ерітіндісіне сорбит пен глюкон қышқылының эквимолярлы концентрациясын қосу, глюкозаны тұтынудың және глюкон қышқылы түзілуі төмендеуіне әсер етеді [77].

Ксилозаның су ерітіндісінен ксилит алу әдісі [78] сипатталған, онда биоэтанол реакциялық қоспасында болатын, бос ксилозды ксилитке және бос гексоздарды айналдыруға қабілетті, ашытқы штаммының көмегімен көрсетілген ксилоздың су ерітіндісін ферментациялау сатысы қарастырылады

Хроматографиялық бөлу әдісімен көрсетілген ферментациялық ерітіндіден ксилитпен байытылған бір немесе бірнеше фракцияларды бөлу және құрамында ксилит бар ферментациялық ерітіндіні алудың оптималды уақыты анықталады.

Жұмыс авторлары [78] ксилит алу мақсатында «*MultitfectXylanase*» препаратымен субстратты ферментативтік гидролиздеуді жүргізеді.

Лигноцеллюлозды шикізатты қанттандыру тәсілі бастапқы шикізат дайындауды (ірі, кесекті майда ұнтақтау) қарастырады, бұл осы жұмыста [79]

жасалған. Дайындалған шикізат *Penicillium verruculosum* BKM F-3972D штаммының өсірумен алынған культуралды сұйықтықпен өңделеді. Әдіс ашытылатын қанттың шығымын арттыруға мүмкіндік береді, ерітіндідегі қанттың жалпы саны 6,12-8 кг құрайды, глюкозаның шығымы 5,75 кг немесе жалпы қанттың құрамы 94%.

Этанолды [80] ферментативті өндіру тәсілі, қалдықтарды сұрыптауды, целлюлоза құраушыларын ұсақтауды, қайнатуды, ферментация алдында ашытылатын массаның рН түзетуді, этанол бөлінетін ферментацияны қарастырады. Нұсқалардың бірі бойынша ұсақталған целлюлозды құраушы (ҰЦҚ) концентрацияланған күкірт қышқылымен ҰЦҚ:қышқыл-1:1 қатынасында өңделеді. Алынған қоспаны 80-100°C температурада сумен араластырады, 100°C температурада араластыру арқылы оны қайнатады, қатты фазаны сұйықтықтан сүзеді. Сүзіндіні қышқыл және қант ерітіндісіне бөледі. Қантты 12-14% концентрациялайды, қоспа рН - 6,0 дейін жеткізеді. Қанттың концентрацияланған ерітіндісін ферментациялау *Saccharomyces* тегінің спирттік ашытқылары арқылы жүзеге асады. ИЦК басқа нұсқасы бойынша қышқылдық гидролиз жүреді, одан кейін гидролизат үздіксіз ионды-эксклюзивті хроматографиямен құрамында қышқыл бар ерітіндіге және қант бар ерітіндіге бөлінеді. Кері осмос сүзгісі арқылы қанттар 12-14% дейін концентрациясын жүргізеді. рН мәні 6-ға дейін аммиакпен келтіреді. Концентрацияланған қант ерітіндісін ферментациялауды 25-36°C температурада ашытқылардың көмегімен этанол бөлетін дистилляциямен ашыту массасын түзумен жүзеге асырады. Үшінші нұсқа бойынша ИЦК 40-100°C температурада күкірт қышқылымен гидролизденеді, одан кейін еритін құраушысын ерімейтін құраушыдан бөледі. Ерімейтін құраушыны кептіреді, өлшейді және гидролизденген субстрат пен қант қоспасын алу мақсатында 1:1 қатынасында концентрацияланған күкірт қышқылымен өңделеді. Соңғысын 80°C температурада сумен араластырады және 100°C температурада араластырып қайнатады, одан кейін қатты фазаны фильтраттан бөледі. Сұйық сүзіндінің құрамында қышқыл бар ерітіндіге және құрамында қанттар бар ерітіндіге бөледі. Содан кейін қантты 12-14% - ға дейін концентрациялайды, рН-6,0 мәніне жеткізеді, спирт ашытқыларының көмегімен қант ерітіндісін ферментациялайды. Глюкозаны алу тәсілі алдымен шикізатты ұсақтауды, 30-дан 80°C дейінгі температурада 1:1 қатынасында концентрацияланған күкірт қышқылымен өңдеу, алынған қоспаны 80°C кезінде сумен сұйылтады, 100°C тұрақты араластыру кезінде қайнатады, одан әрі ерімейтін құраушыларды бөледі және глюкоза алынады.

Бұл тәсілдің негізгі кемшілігі мақсатты өнімнің сапасын нашарлататын сорбиттен және глюкон қышқылынан тұратын қоспаның түзілуі. Сонымен қатар, мұндай әдіс ферментациялық-каталитикалық әдістермен салыстырғанда өте көп еңбекті қажет етеді және экономикалық рентабельді емес болып табылады.

Целлюлозаның ферментативті гидролизін зерттеу үшін целлюлозаны тиімді алдын ала өңдеу қажет. Жұмыста [81] ферментализдеу үшін субстраттар

алынады, олар сульфатты ақ целлюлоза бар жапырақты ағаштар, мақтаның микрокристалды целлюлозасы (МКЦ), зығыр талшығы бар жоғары молекулалық массасы және кристалдылыққа ие. Сондықтан, көрсетілген көздердің пайдаланылатын целлюлозасының барлық түрлері алдын ала олардан минералды қосылыстарды алып тастау үшін өңделеді, инкрустирлеуші целлюлоза матрикс. Өңдеу 1,0 н тұз қышқылы ерітіндісімен жүргізіледі.

Сонымен қатар, тиімді ферментативті гидролиз процесін жүргізу үшін «Целловиридин Г20Х» өндірістік препаратын пайдаланады. Жұмыста ферментативті салыстырғанда қышқылдардың әртүрлі түрін (пероксимонокүкіртті, персірке, сонымен қатар, Льюис қышқылын қолданумен) пайдаланып, гидролизді салыстырмалы салыстыру жүргізіледі.

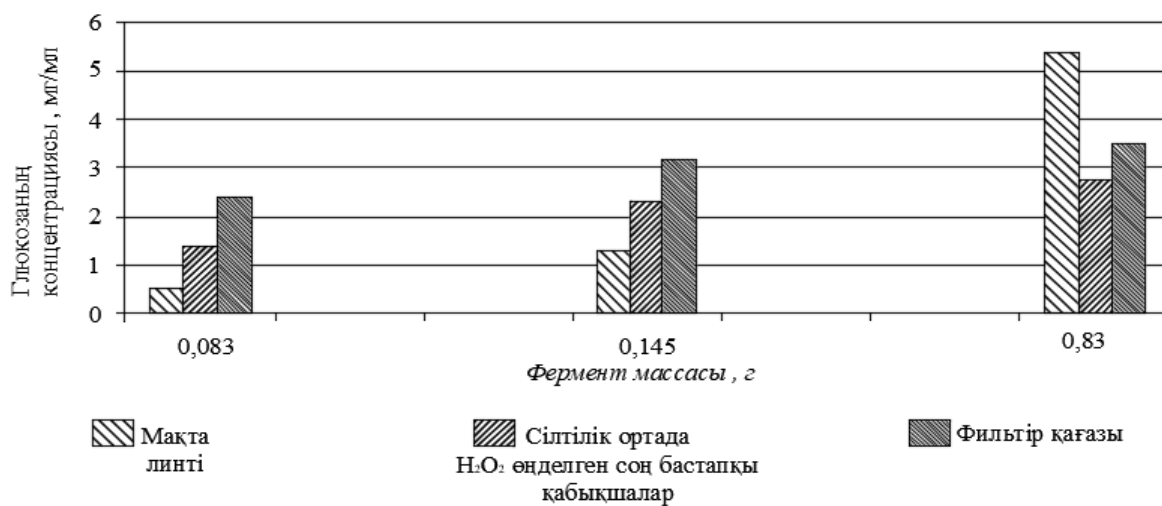
Энзиматикалық гидролиз 55°C температурада герметикалық жабық бюкстерде 150 айналым/минут шайқау кезінде су тербелгіштерде жүреді. Сонымен қатар, зерттелетін целлюлоза үлгісінің бастапқы салмағы 50 мг, реакциялық қоспаның көлемі – 2 см³, зерттелетін препараттың концентрациясын реакциялық ортаға 0,25 мг/мл есебімен алады. Аликвоттың гидролиз процесін мұқият және динамикалық зерттеу үшін реакциялық қоспадан әрбір 3, 6, 15, 24 және 48 сағат инкубация арқылы жүзеге асырады [81].

Осылайша, ферментативті үдерісті тиімді жүргізу үшін құрамында белсенді целлюлазалар бар гидролитикалық препараттарды өндіру қажет, олар өз кезегінде ферменттердің белсенді продуценттерін, энзимология саласындағы ғылыми білім мен тәжірибені, өндірістің барлық кезеңдеріне нақты шамадағы қаржылық және уақытша шығындарды талап етеді [81]. Жұмыс авторлары [82] целлюлозаны алдын ала өңдеу үшін бірнеше реактивтерді, соның ішінде сілтілі ортада кезектегі әсері бар сілтіні, сутегі тотығын пайдаланады. Одан басқа, аталған реактивтермен өңдеу алдында авторлар құрамында бастапқы целлюлоза бар субстратты делигнификациялау үшін тұз қышқылымен алдын ала өңдеуді жүргізеді. Ферментті препарат ретінде *Целлюлюкс-А* коммерциялық препараты қолданылады. Көрсетілгендей, ферменттік препарат мөлшерінің артуымен қатар реакция өнімдерінің шығымы артады, мақта линтінен, қабыршықтан, сүзгі қағаздан целлюлозасын ыдыратудан, реакциялық қоспадағы редуцирленетін қанттардың жалпы санының артуы жүреді (2-сурет).

2 - суреттің мәліметтерінде көрсетілгендей, препараттың жоғары гидролиздеу белсенділігі сүзгіш қағазды пайдаланған жағдайда (5,3 мг/мл ферментация концентрациясы 0,83 г кезінде реакциялық қоспада) байқалады.

Жапондық "Gekeikan Sake" компаниясы микроағзалардың гидролитикалық ферменттерін пайдаланып, целлюлозадан биоэтанолды алу технологиясын құру үшін жүргізілген жұмыстар табысты аяқталғаны туралы жариялайды. Барлық классикалық және қазіргі уақытта зерттеулерде спирт алу үшін, одан әрі ферменттеу үшін, қажетті глюкозаның түзілуі үшін целлюлозаның бірінші ыдырауына арналған технологияларда құрамында бастапқы целлюлоза бар шикізатты, атап айтқанда күріш сабаны мен бидай сабанын алдын ала өңдеу тәсілі пайдаланылады, мысалы, күкірт қышқылымен

немесе жоғары температуралық жағдайларда және қысымда субстраттарды ұстап тұру арқылы химиялық реагенттермен өңделеді. Зерттеушілер мәлімдегендей, энзимнің нақты шамадағы мөлшерін алу әдісін жасау арқылы табысқа жетуге болады, ол құрамында хромосомдық деңгейде модификацияланған *Cojimold* бактериялардан (*Aspergilli* саңырауқұлақтары) тұрады. Қосымша әсерсіз целлюлозаны ыдыратуға қабілетті, алынған микроағзалар супер саңырауқұлақтарды "*super kojimold*" деп атайды. Қызық болғандай, бұл технология «Саке» дәстүрлі өндіріс тәсілінде табысты қолданылатын, бактериялардың кейбір топтары үшін кең таралған. Компанияның мәліметтеріне сәйкес, әзірленген бұл тәсіл целлюлозаны



ыдырату және ферментациядан кейін биоэтанолды дистилляциялау үшін қажетті энергияны үнемдеуге, сонымен қатар, технологиялық циклда пайдаланылатын судың қажетті мөлшерін азайтуға мүмкіндік береді [83].

Сурет 2 – Түзілетін глюкоза концентрациясының пайдаланылатын фермент салмағына тәуелділігі

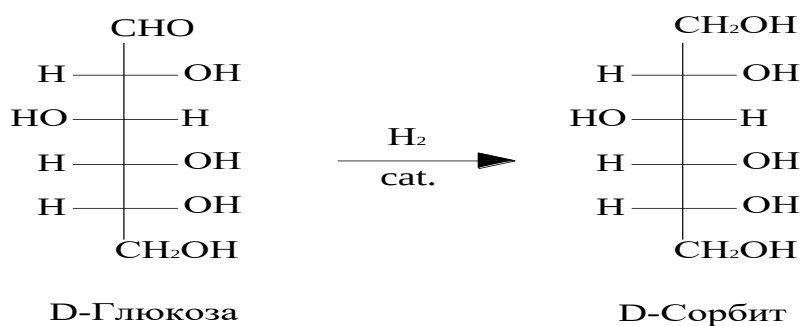
Жоғарыда айтылғандарды талдаумен ескеретін нәрсе, ферментативтік гидролизді өнеркәсіптік ауқымда пайдалану үшін жұмыста пайдаланылатын сілтілер мен қышқылдарды бейтараптандыру және қайта өңдеу мәселесі пайда болады. Бұл мәселені шешу үшін соңғы өнімнің құнына әсер ететін қосымша қаржылық шығындар қажет. Одан басқа, құрамында целлюлоза бар материалды одан лигнинді алу үшін қосымша өңдеу қажет, ол үшін өз кезегінде қайта өңдеуге қажет тұз қышқылын пайдаланады. Қышқылдар мен сілтілерді пайдалану мәселесі жабдықтың тез тозуына әсер етеді. Ферментті препараттарды пайдалану соңғы өнімнің құнын арттырады, бұл препаратты алу үшін қосымша қаржылық шығындар талап етеді. Целлюлозаның ферменттік гидролизін өнеркәсіптік ауқымда пайдалану химиялық реагенттерді, қосымша жабдықтарды және соңғы өнім алу кезеңдерін қысқартуға мүмкіндік беретін, ферменттердің жоғары белсенді продуцентінің болмауына байланысты тиімсіз болады.

1.2.6 Құрамында көмірсулар бар өсімдік шикізаты мен лигноцеллюлозды қалдықтарының химиялық және ферментативті (гидролитикалық) гидрлеу мен гидролизінің катализаторлары

Биологиялық шығу тегі бар гетерогенді катализатор, гомогендермен салыстырғанда іс-тәжірибелік тұрғыдан белгілі бір, ерекше артықшылықтарға ие: ол реакция өнімдерінен оңай бөлінуі, термиялық тұрақты және кейінгі қайта пайдалану үшін қалпына келтіреді.

Қанттарды гидрлеудің практикада кең қолданылатын гетерогенді катализаторлар платиналы металдар мен никель негізіндегі катализаторлар болып табылады [126,127].

D-глюкозаның D-сорбитке дейінгі гидрлеудің каталитикалық реакциясы, термодинамикалық өздігінен және экзотермиялық ($K_{423} K = 473$), келесі теңдеуге сәйкес жүреді:



Осы процестің өнеркәсіптік катализаторы ретінде, ең алдымен, алюминий бөлігін сілтіге еріту арқылы алюминий-никель қорытпасынан алынатын, ең белсенді катализаторлардың бірі Ni-Рения мен қаңқалы никель. Мысалы, никельдің стационарлық катализаторының қатысуымен глюкозаны гидрлеу реакциясы сутегінің қысымы 8 МПа және 140°C температурада жүреді.

D-глюкозаны D-сорбитке дейін Ni/кизельгурдегі катализаторларда гидрирлеу Тукаспен зерттеледі [84]. 0,5 - 10 МПа дейінгі диапазонда сутегінің қысымы кезінде 115-165°C темпереатуралар аралығында 40% глюкозаның су ерітіндісін гидрлеу процесін зерттеу көрсеткендей, автормен 0,65 л/минут құрайтын сутегі бойынша жеке реттілікті анықтайды, онда 23,8-48,5 кДж/моль белсендірудің көрінетін энергиясының мәні есептеледі. Бұл мән реакцияның ең алдымен глюкозаның жоғары бастапқы молярлық концентрациясы мен оның ерітіндісінің тұтқырлығына байланысты сыртқы диффузиялық факторларға байланысты екенін көрсетеді.

Каталитикалық процестердегі никель/кизельгурды тасымалдаушыдан басқа, сонымен қатар, SiC>2, TiO₂, Al₂O₃ [85] және көмір тәріздес басқа төсеніштерді пайдалануға болады. Ni/Al₂O₃ катализаторы металдың әр түрлі пайыздық құрамы бар, арасында 15 және 30%, үш әдістің көмегімен синтезделген, оның ішінде, гомогенді сілтілеу (НА) әдісімен, қос гидроксид (LC) енгізу әдісі және цитраттық әдіспен (CP) [86].

Жұмыс авторлары [85] анықтағандай, коммерциялық Ni/кизельгурмен салыстырғанда ең көп белсенділікке Ni/Al₂O₃ - 2 және Ni/Al₂O₃ - 5 катализаторлары бар. Бұл катализаторлардың белсенділігі жоғары (90 Ммоль/г Ni/сағат) және катализатордың жоғары селективтілігімен (~80%) гидрлеу процесін жүргізуге қабілетті болады.

Никель катализаторларын (тұндыру, сіндіру, золь-гель әдісі, сонымен қатар, матрицалық синтез) және әртүрлі төсеніштерді (SiC>2, TiO₂, Al₂O₃, көмір) дайындау әдістерінің әсерін зерттеуге арналған жұмыстар кездеседі [87]. Авторлар [86] тәжірибемен анықтағандай, төсеніштер белсенділігі төмендейді, онда Al₂O₃>TiO₂>SiO₂> C ретімен төмендейді. Автоклавта 120°C кезінде 50% глюкоза ерітіндісін гидрлеуде және күл-гель әдісімен алынған катализаторды пайдаланып 12 МПа сутегі қысымында, осындай әдіспен синтезделген катализатор глюкозаны гидрлеуде каталитикалық белсенділік көрсетпеуі анықталады.

Металдарды белсендіру үшін әртүрлі төсеніштер пайдалануға қарамастан, тек ғана катализатордың бір түрі үшін осы синтез қолданылады [88, 89]. Катализаторды алу бір сатыда жүзеге асырылады. Ол үшін матрицалық ерітіндіде прекурсор суспензиясы (никель этилацетонаты) қолданылады.

Ni₂OOrg1, Ni₂OOrg2 және Ni₂OOrg3 тәріздес катализаторлардың тұтас сериясы үшін толуол концентрациясының өсуімен саңылаулар диаметрін арттыру керек, бірақ, онда қарама-қарсы әсер анықталады. Бұл мәселе осы катализаторларды дайындау кезінде мицелдегі орын үшін ацетил-ацетонат - никель ерітінділері мен толуол арасындағы бәсекелестікпен байланысты, сонымен қатар, катализаторда никель құрамының төмендеуі толуол концентрациясы артуымен қатар жүреді.

Кинетикалық тестілеу кезінде этилендиамин көмегімен алынған катализаторлардың көпшілігі соңғы өнім-сорбиттің жақсы шығымын қамтамасыз етеді. Мысалы, құрамында металл жоғары және кең саңылаулары бар Ni₂OOrg1с катализаторы сорбиттің (7,7%) ең үлкен шығымын қамтамасыз етеді. Ni₂Osc никельдің аз мөлшері және тар саңылаулар сорбиттің аз шығымымен сипатталады (0,5%). Авторлар болжағандай, төмен конверсия – бұл ұзын және салыстырмалы тар саңылаулар мен дисперстілікке масса-тасымалдау нәтижесі болып табылады. Никельдің жоғары құрамына және кең саңылаулардың болуына қарамастан pi=0Sprl катализаторы жоғары масса алмасуды қамтамасыз ететін жоғары әсерді және каталитикалық белсенді орталықтар үшін субстраттың тез табылуын көрсетеді, бірақ глюкозаны гидрлеу процесінде сорбиттің өте төмен шығымы болады. Бұл құбылыс катализатордың жеткіліксіз қалпына келтіру белсенділігіне байланысты болуы мүмкін.

Сонымен қатар, анықталғандай, әртүрлі катализаторлардың қатысуымен олардың арасында реактивті нысандары бар және олар глюкозаға қатысты жоғары селективті болып келеді. Осылайша, тәжірибелік жолмен іріктелген катализаторлардың белсенді түрінің жоғары концентрациясы глюкозаның жоғары конверсиясына әсер етеді. Ескеретін нәрсе, стационарлық металл

төсеніштерін таңдау глюкозаның (Д және Л түрлері) әртүрлі таутомерлі нысандары арасында, өзара әрекеттесетін молекулалардың тепе-теңдігіне нақты шамада әсері бар.

Өнертабыста қызықты тәжірибелік мәліметтер сипатталған [90], онда целлюлозаны гидролиздеу катализаторы және гидролиз өнімдерін тотықсыздандырумен целлюлоза гидролизі, гидролизденген целлюлозаның көмірсулар қоспасынан қант спиртін алу тәсілі қарастырылады.

Мұнда целлюлоза гидролизінің катализаторы және гидролиз өнімдерін тотықсыздандыру сипатталған, онда Менделеев таблицасының 8-11 топтағы металл өтпелі төсеніштер және қатты табанға орналасады. Сонымен қатар, қант спирттерін алу тәсілі сипатталған, олар мыналар: целлюлозаны ферменттеумен алынған, жоғары қысым және гидролиз өнімін тотықсыздандыруды жоғарлату кезінде жүретін, құрамында сутекті ортада катализатордың қатысуымен целлюлозаны бастапқы гидролиздеу. Әдістің техникалық әсері және үнемділігі, бұл катализаторды өнімнен жеңіл бөлу, рН реттеу қажеттілігінің болмауы, спирт алу кезінде қышқылды немесе сілтіні бейтараптандыру, катализаторды белсендірмей қайта пайдалану мүмкіндігі, осындай катализаторды қолданумен, тікелей целлюлозадан қант спиртін алу.

Авторлар [91] өсімдік талшықты материалдағы целлюлоза гидролизі және глюкоза алу үшін жалған балқытылған күйінде кластерлік қышқылды катализаторды пайдалану кезінде гидролиз процесін қарастыратын әдіс ұсынады. Гидролиз процесінде кластерлік қышқылды катализатор және өсімдік талшықты материалдың бірінші саны кластерлік қышқылды катализатордың тұтқырлығын арттырады. Жалған балқытылған күйінде кластерлік қышқылды катализаторға қосылған кезінде өсімдік талшықты материалының екінші санын қыздырады және араластырады. Кластерлік қышқылды катализатордың ыстық қоспасының тұтқырлығы және өсімдік талшықты материалдың бірінші саны төмендеген кезінде, кластерлік қышқылды катализатор ретінде гомополи қышқылдар немесе гетерополи қышқылдар қолданады. Ұсынылған әдіс өңделетін өсімдік талшықты материалдың санын кластерлік қышқыл катализаторы массасының бірлігінде арттыруға мүмкіндік береді.

N. Dechamp және басқалар [92] зерттеулері көрсеткендей, глюкозаны каталитикалық гидрлеу кинетикасын қарастырады. Каталитикалық жүйе ретінде негізінен 48,4% Ni, 5,15% Al, 8,46% Si, 0,27% Mg, 0,34% Na, 0,47% Fe-дан тұратын кремний-алюминий төсенішіндегі коммерциялық никельді катализатор қолданылады. Авторлар сыртқы және ішкі диффузиялық факторлардың гидрлеу процесіне әсерін толық зерттейді.

Осы катализаторды пайдаланып, гидрлеу кинетикасын зерттеу кезінде 67 кДж/моль белсендірудің көрінетін энергиясының шамасы анықталады. Оның мәні диффузиялық аймақта (12-21 кДж/моль) белсендірудің көрінетін энергиясынан өте көп, онда катализатордың жоғарғы бетіндегі реакция кинетикалық аймақта жүреді.

Тәжірибелік мәліметтер бойынша кинетикалық моделдеу көрсеткендей, катализ реакциясы никель жоғарғы бетінде адсорбцияланған глюкоза және

сутегі арасында жүреді. Мұндай реакция ағымы Ленгмюр - Хиншельвуд моделіне сәйкес реакция механизмін дәлелдейді.

Бұрыннан белгілі болғандай, никель экономикалық арзан металл, ал, оның негізінде жасалған Ni - Ренея тәріздес катализаторлар жоғары белсенді болып келеді [93]. Никель катализаторлардың белсенділігін арттыру үшін оларды өте жиі бейорганикалық элементтерді В[111], Р [94] және әртүрлі металдарды қосу арқылы промотирлейді. Н.Ли және басқалар [111] хром, молибден және вольфраммен промотирленген никель және бордың қорытпасын пайдаланады. Ni-B/SiO₂ катализаторы су ерітіндісінде KBH₄ химиялық тотықсыздандырылған. Оның аморфтық құрылымы келесі әдістердің көмегімен расталады: XRD (рентгендік дифракция әдісі) және EXAFS (рентгендік жұтылу спектріндегі ұзын жұқа құрылымды зерттеу әдісі). Су фазасында глюкозаны гидрирлеу процесінде алдын ала дайындалған аморфты катализаторы Ni - B/SiO₂, сутегімен тотықсыздандырылған (Ni-B/SiO₂ кристалды) басқа никель катализаторларына, сонымен қатар, коммерциялық Ni-Ренейге қарағанда өте үлкен белсенділік көрсетеді.

Бұл катализатор құрылымының және металл мен бор арасындағы электрондық әсердің бірлескен әсерімен байланысты болады. Ni-B/SiO₂ алдын ала дайындау оның белсенділігіне әсер етеді. Катализатордың ең үлкен белсенділігі SiO₂ және 200°C кезінде прекурсорды 2 сағат ішінде кальцийлеу кезінде байқалады. Промоторлардың болуы (Cr, Мо немесе W) белсенді металл бетінде электрондық құрылымға әсерімен катализатордың белсенділігін арттырады, бұл глюкоза молекуласының карбонильді тобының (C=O) адсорбциясы мен поляризациясына оң әсер етеді.

Сонымен қатар, вольфрам ең жақсы промотирлеуші әсерге ие болады. Р. Gallezot және басқалар [95] молибден, хром, темір және қалайымен промотирленген Ni-Re катализаторын зерттейді. Бірақ, никель катализаторлары қанттарды гидрирлеудің басқа катализаторларға қатысты тиімсіз жағдайға ие, онда никелді сілтілеумен байланысудың арқасында катализатор белсенділігінің жоғалуы, сонымен қатар, сорбит ерітіндісіндегі никель концентрациясының артуы байқалады.

Азық-түлік, медициналық және косметикалық өнеркәсіпте сорбитті қолдану үшін ескеретін нәрсе, никель ауыр метал тобында, сондықтан, экономикалық шығындардың артуына байланысты сорбит ерітіндісінен никелді толық жою қажет. Сонымен қатар, кобальт, платина, палладий, родий және рутений тәріздес басқа белсенді металдар негізінде жасалған катализаторлар өте қолайлы және тиімді болады [94, 96, 97].

Жұмыстың авторлары [98] көрсеткендей, полярлық еріткіштерде целлюлоза конверсиясы өте қиын жүреді. Бұл мәселе целлюлоза мен катализатор арасындағы өзара әрекеттесу процесін жеңілдету үшін өз саңылауларын пайдаланатын Pt катализаторын қолдану арқылы шешіледі, бұл целлюлозаны гидрирлеу процесінде оң әсер етеді.

Лигноцеллюлозаның [99] түрленуі, атап айтқанда ферментативті конверсия химия өнеркәсібінде шешілетін, жаңартылатын және тұрақты болып табылады.

Бірақ, целлюлозаны лигноцеллюлозалық субстраттан бөлу полярлық ерітінділерде рұқсат етілмейді. Бұл кемшілікті шешу стратегиясы целлюлоза мен катализатор арасындағы жақындықты оның көп функционалдық топтары мен үлкен біртекті тесіктері арқылы арттыратын Mesoporous көміртегін пайдалану болып табылады. Катализатор мен шешілмейтін реагент арасындағы өзара әрекеттесуді арттыратын Echinometra mathae (Pt/CNE) өңделген, 3D мезо кеуекті көміртегінің түріне өлшенген, Pt катализаторын дайындаудың ерекше маңызы бар. CNE тобының оттегіне мол целлюлозаны гидрирлеу процесінде катализатордың бетіндегі целлюлозаның тез табылуын жеңілдетеді. Саңылаулардың ашық құрылымы мен молекулалық саңылаулар олигомерлердің айналуына және саңылаулардағы белсенді орындарға тиімді таралуына әсер етеді.

Катализатор ретінде пайдаланылған жоғары кеуекті Pt екі қызметті атқарады, біріншіден, судан сутегін құрайтын протондармен гидролиздеу, сонымен қатар, тиімді гидрлеу жүреді. Pt/CNE катализаторын пайдалану шамамен 80% ксилиттің шығымына әсер етеді, бұл көрсеткіш осы уақытқа дейін ең жақсы нәтиже болып табылады. Pt/CNE катализаторда полисахаридті тікелей түрлендіруде қант спиртін өндіруде жақсы әсері байқалады (23% шығым). Авторлар болжағандай, ашық құрылымдалған 3D көміртегі әртүрлі лигноцеллюлоза материалдарын түрлендіруге кеңінен қолданылады.

Жұмыстың [100] авторлары алдымен гидролиз, одан кейін D-сорбитті синтездеу процесін оңтайландыру мақсатында $\text{ZnC}_{124}\text{H}_2\text{O}$ еріткішінде целлюбиозды гидрлеуді жүргізеді. Оңтайлы жағдайлар келесідей: Ru/C-катализатор, температура 125°C , еріткіш $\text{ZnC}_{124}\text{H}_2\text{O}$, нәтижесінде сорбиттің шығымы - 95% тең.

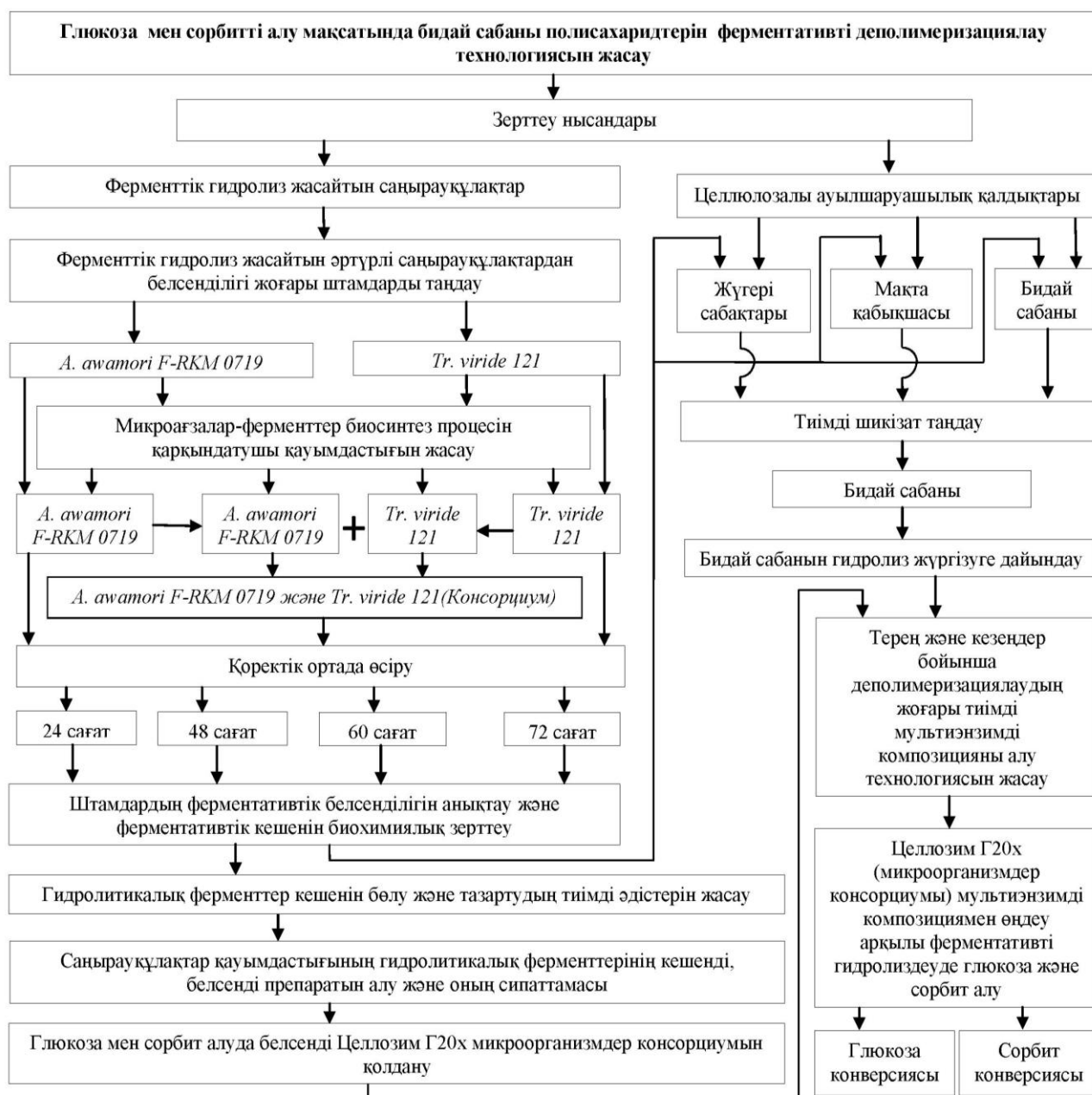
Қарапайым жағдайда, гидрогенизациялық катализаторлар көміртегі рутениді, көміртегі нанотүтікшелердегі рутениді, рутениймен модификацияланған цеолиттер, көміртегі тор талшықтарындағы никель, көміртегі нанотүтікшелердегі вольфрам карбиді, рутений нанобөлшектері мен модификацияланған никель катализаторларында қолданылады. Бұл катализаторлар целлюлозаның полиолдарға айналуына тиімді қолданылады. Зерттеулер нәтижесінде жоғары тиімділігі бар Ru/C катализаторлар таңдап алынады және глюкозаны гидрлеу кезінде Ni катализаторларды сілтілендіру байқалмайды [101-112].

Осылайша, әдеби көздерге талдау жасау көрсеткендей, тасымалдағыш никель катализаторы қатысында гидролитикалық гидрлеу әдісімен бидай сабаны целлюлозасынан сорбит алуға болады. Процестің оңтайлы шарттары анықталады: тәжірибе температурасы -180°C , сутегі қысымы - 6 МПа, реакция ұзақтығы – 60 минут [128].

2-ТАРАУ. НЫСАНДАР, ШИКІЗАТ ПЕН МАТЕРИАЛДАР, ТӘЖІРИБЕЛІК ҚОНДЫРҒЫЛАР МЕН ТӘЖІРИБЕЛЕР ЖҮРГІЗУ ӘДІСТЕРІ

2.1 Зерттеу нысандары мен материалдар

Тәжірибелік зерттеулер 2015 жылдан 2019 жылдар аралығында М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік университетінің «Биотехнология» кафедрасында, Өзбекстан Республикасы Ғылым Академиясы Микробиология институтының «Микроағзалар ферменттері» зертханасында ғылыми-зерттеу жұмысының жалпы сызбасы (сурет-3) жүргізілді.



Сурет 3 – Ғылыми-зерттеу жұмысының жалпы сызбасы

Гидролитикалық ферменттер және олардың препараттар көздері ретінде М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік университетінің, «Биотехнология» кафедрасында көп сатылы селекция және мутагенез нәтижесінде алынған *Trichoderma viride* 121 зең саңырауқұлақтар культурасы қолданылады. Бұл культура ҚР БҒМ ғылым комитетінің «Республикалық микроағзалардың жиынтығы» РММК ШЖҚ депонирленген. Өзбекстан Республикасының Ғылым Академиясының «Микробиология» институтында «Микроағзалар ферменттері» зертханасында көп сатылы селекция және мутагенез нәтижесінде түзілетін *Aspergillus awamori* F-RKM 0719 алынады.

Зерттеу нысандары Түркістан облысының топырағынан қызметкерлермен бөлініп алынған, М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік университетінің, «Биотехнология» кафедрасында сақталған *Aspergillus* тегінің мицелиялық саңырауқұлақтары, сонымен қатар, Өзбекстан Республикасының Ғылым Академиясының «Микробиология» институтында «Микроағзалар ферменттері» зертханасында алынған *Penicillium* және *Trichoderma* тегінің саңырауқұлақтары болып табылады. «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) ферменттік препараты *A. awamori* F-RKM 0719 және *Tr. viride* 121 саңырауқұлақтары штаммдарын бірге түптік культивирлеумен, саңырауқұлақтардың культуралдық сұйықтығынан алынады.

Сонымен қатар, *Novozymes* (Дания) фирмасымен сатып алынған, ақылы ферменттік препараттар *Cellic Ctec*, *Cellic Ctec Accellerase 1000* және *Accellerase DUET* қолданылады.

Зерттеулерде субстраттар ретінде төменгі молекулалық карбоксиметилцеллюлоза (т.м. КМЦ-Na) және жоғарғы полимерлі (ж.п. КМЦ-Na), микрокристалды целлюлоза (МКЦ), β -глюкан «ICN», АҚШ), пектин (қызылша құрамындағы), Спельта сұлы ксиланы, целлобиоза, мақта авицелі (*Serva* фирмасының барлық субстраттары, АҚШ), сонымен қатар, бидай сабанынан химиялық жолмен алынған гемицеллюлоза және целлюлоза.

Ферментативті гидролиз үшін негізгі нысан ретінде Қазақстан Республикасының Түркістан облысында аудандастырылған және өңделетін «Стекловидная-24» және «Алмалы» бидай сорттарының қалдықтары-бидай сабаны алынады.

2.2 Тәжірибелік зерттеулер әдістемесі

Қолданылған тәжірибелік зерттеу әдістері жұмыстың негізгі бағыттары мен тақырыптарына сәйкес келеді, оларды тандау мәселенің қазіргі жағдайымен шарттастырылған және шынайылықты, зерттелетін нысандардың көрінетін сипаттамасы үшін дәлділігін қамтамасыз етеді, валидтілік-зерттеудің мақсаттары мен міндеттерінен шығатын, алынған көрсеткіш белгісі болып табылады.

Микроағзалардың моноспоралы культураларын алу. Микромидеттердің моноспоралық культураларын алу үшін қысық егілген Чапека-агарлы ортасындағы спораларда залалсызданған суда сұйылтады, онда

бір тамшыда орташа бір спорадан болу керек. Әрі қарай, залалсызданған қоректік орта құйылған, петри табақшасындағы агарға 3-4 тамшы споралы суспензияны егеді, оны термостатқа қояды және саңырауқұлақтар өсуі үшін 4-7 тәуліктер аралығында 28-30°C температураларда ұстайды. Пробиркадағы саңырауқұлақтар культуралары бар колонияларды әрі қарай зерттеу үшін тоңазытқышта қояды және 4-10°C температураларда сақтайды

Вегетативтік егу материалын алу (ЕМ). Егістік материалын алу үшін СА (сусло-агар) агарланған қоректік орта қолданылады, оны автоклавта 0,05 МПа 30 минут бойы залалсыздайды және пробиркаларға қысық агар түрінде құяды. Одан кейін, СА 48 сағат аралығында 37°C температура кезінде термостатта өсіру арқылы залалсыздығын тексереді. СА залалсыздығын тексерген соң микромицеттерді егеді және 2-9 тәулік бойы 28-30°C температураларда өсіреді. Өсірілген культураны 2,5-3- ай бойы 20-22°C температуралар кезінде сақтайды және зерттеулерде қажеттілігіне қарай пайдаланады.

Целлюлолитикалық ферменттер продуценттерін таңдау. Агарланған ортадағы спораны шаюдан кейін алынған, 0,4-1,0 г/л концентрациядағы микромицеталар жасушаларының суспензиясын карбоксиметилцеллюлоза натрийлі тұзымен (Na-КМЦ 1,0%), бидай сабаны целлюлозасы және 3 % сахароза орнына, көміртегінің бір ғана көзі ретінде 0,1 % концентрацияда МКЦ қосылған, селективті қиын гидролизденетін агарлы ортаға егеді. Гидролиз өнімі-глюкозаны анықтау үшін индикатор ретінде қызыл конго алынады, оны агарланған ортаға 0,01-0,05% көлемінде қосады. Селективті орталарда микромицеттерді өсіру 28-30°C температуралар кезінде 4-7 тәулік бойы жүзеге асырылады. Целлюлолитикалық ферменттерді (ЦФ) синтездейтін культуралар жоғарыда келтірілген жағдайлар мен уақытта саңырауқұлақтардың өскен колониялар айналасындағы ағарту аймағын көрсету қабілеті бойынша анықталады. Осылайша, таңдап алынған саңырауқұлақтардың штаммдары, целлюлозды субстраттар гидролизінің көп аймағын көрсету қабілеті әрі қарай зерттеулерде қолданылады. Саңырауқұлақтардың целлюлаза продуцирлеу қабілетін сандық анықтау үшін культураларды 96-144 сағаттар аралығында 28-30°C температураларда культивирлеу жағдайында, 200-220 айналым/минут айналу жылдамдығы бар шайқағышта, 250 мл қоректік орта көлемінде 1,0 л Эрленмейер колбасында шайқау жағдайларында түптік әдіспен өсіреді. Қоректік орта құрамы (%): бидай сабаны-2,0; бидай бөліндісі-1,0; (NH₄)₂SO₄ – 0,2; NaNO₃ – 0,3; KH₂PO₄ – 0,3; MgSO₄ – 0,2. Бидай бөліндісі мен сабаны жалпы концентрацияларда 3,0% Чапека қоректік ортасында көміртегінің бір ғана көзі болып табылады.

Егіс материалы қайтымдылығының әсері. Ферменттердің түзілуіне егіс материалы жасының әсері 5-тен 40 тәуліктерге дейін саңырауқұлақтар өсуінің белсенді кезеңінде дайындалған, вегетативті егістік материалының қоректік орта көлеміне 4 % мөлшерде инокуляцияланатын саңырауқұлақтар ферментативті ортасында егілген Эрленмейер колбасында продуцентті культивирлеу кезінде зерттеледі.

Өсіру шарттары. *Tr. viride* 121 микроағзаларына кейіннен *A. awamori* F-RKM 0719 енгізумен бірге өсіру, 24-72 сағаттар аралығында 300 мл көлемді Эрленмейер колбасында жүреді, оларға егу материалының 10 мл мөлшерінде агарланған ортадан спораларды шайғаннан кейін алынған 0,4-1,0 г/л концентрациядағы микромицет жасушаларының суспензиясын енгізеді. Культивирлеу термостатты шайқағышта (200-220 айнал/минут) 28-30°C температурада 72-120 сағат бойы жүргізіледі.

Қоректік орталарды оптимизациялау. Көміртегі көздерінің гидролаз синтезіне әсерін зерттеу үшін жоғарыда сипатталған ҚО пайдаланылады, онда 3,0% концентрациялардағы көміртегінің келесі көздерін алмастырады: бидай сабаны және кебек.

ҚО-да микроэлементтердің оңтайлы концентрациясын анықтау үшін ферменттерді толық синтездеу үшін 0,1-0,8 концентрациялардағы келесі тұздар пайдаланылады: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; NaNO_3 ; KH_2PO_4 ; MgSO_4 .

ПФ биосинтезіне рН мәндерінің әсері NaOH және HCl ерітінділерінің көмегімен рН 3,0-ден 5,0 с аралығында анықталған. Ферменттердің температуралық оптимумы 20-дан 70°C аралығында 10°C диапазонында анықталады. Аэрацияның ЦФ жинақталуына әсерін зерттеу Эрленмейер колбасында (жалпы көлемі 1,0 л) 250 мл қоректік ортамен продуценттерді өсіру кезінде ҚО әртүрлі көлемдерінде 50 мл-ден 250 мл-ге дейін анықталады. Саңырауқұлақтардың өсуіне, дамуына және өнімділігіне өсіру уақытының әсерін зерттеу бұрын оңтайландырылған жүйелер мен орталарда жүргізіледі, жағдай оңтайлы таңдап алынады, бақылау 24-144 сағаттар ішінде жүргізіледі, әр 6 сағат сайын сынама алынады.

Таза дақылдарды күту және сақтау. Егіс материалын күту және сақтау оларды әр 3 ай сайын құрамында 7% уыт ашытқысы, 90% залалсызданған су және 3% агар бар жаңа агарланған ортаның орамаларына пробиркаларға қайта егуді жүзеге асырады. Орта рН 5,0 - 5,5. Культураларды 3-5 тәулік бойы 30°C-та өсіріп, одан кейін культураларды тоңазытқышта 4°C-та сақтайды.

Культураларды лиофилизирленген күйде сақтау үшін 10% сахарозадан және 1% желатиннен тұратын сұйықтықтағы микромицеттер спорасына қалың жүзінді дайындайды. Суспензияны 0,2 мл пастер пипеткасымен шыны ампулаға құяды, оларды қатты көмірқышқылдың қоспасына - 60-тан -68°C дейін этил спиртімен 20 минутқа батырып мұздатады және қалдық қысымы 200-500 мм сынап бағанасына 1-1, 5 сағатқа қояды. Кептірілген материалдың қалдық ылғалдылығы 5% аспауы тиіс.

Саңырауқұлақтардың іріктелген продуценттерін Чапек-агар қисық егілген ортада ұстау және сақтау, жақсы жуылған, кептірілген, қанттың орнына 2% концентрациядағы бидайдың ұсақталған сабанын қосу, рН-ортасы бейтарап кезінде жүзеге асады, ал залалсызданған ортасы бар пробиркалар саңырауқұлақтардың спораларын егу үшін қызмет қолданылады. Одан кейін, культуралар бар пробиркаларды термостатқа орналастырады, 72 сағат бойы 28-30°C температурада ұстайды, өсуі байқалғаннан кейін өсірілген культуралар 4°C температурада тоңазытқышта сақталады. Саңырауқұлақтарды қайта егу әр

3 ай сайын жоғарыда көрсетілген тәсілмен дайындалған, жаңа агарланған ортамен қисық егумен жүзеге асырылады.

Сонымен қатар, культура лиофилизирленген күйде сақталады, ол үшін саңырауқұлақтар спорасының қалың су жүзіндісін дайындайды, оған 10% сахароза және 1,0% желатин ерітінділерін қосады. Бұл жүзіндіні залалсыздандырылған жағдайларда залалсыздандырылған Пастер пипеткасымен 0,2 мл - ден шыны ампулаға тартумен құяды, одан кейін қоспаны 20 минутқа сұйық азот қоспасына батырып қатырады, содан кейін 200-500 мм сынап бағанасының қысымы бар лиофильді-кептіру вакуум-аппаратына (Иней, Ресей) орналастырады және 3,0-4,0% массаның ылғалдылығына дейін 60-90 минут бойы суды айдаумен кептіреді.

2.3 Ферментативтік белсенділікті анықтау әдістері.

Карбонгидролиздеуші ферменттер - целлюлолитикалық кешен (*целлюлазды, β -глюканазды*), гемицеллюлазды (*ксиланазды*) және пектиназды белсенділіктері сәйкес субстраттардың ферментативті гидролиз процесінде түзілетін глюкоза, көмірсулар, сирек кездесетін қанттар мөлшері бойынша анықталады. Белсенділікті ферменттердің әр анықталатын өкілдері үшін (МЕСТ Р 55293-2012 [129], МЕСТ Р 54905-2012 [130], МЕСТ Р 55302-2012 [131] МЕСТ Р 55298-2012 [132]) көрсетілген әдістемелерге сәйкес анықталады.

Ферменттердің меншікті белсенділігін анықтау. Саңырауқұлақтардың КС мл құрамындағы ферменттердің меншікті белсенділігі, белсенді өсу және фермент түзілу сатыларында алынады және ерітінді белсенділігінің (бірлігі/мл) осы ерітіндіде (мг/мл) болатын ақуыздың жалпы құрамына қатынасы ретінде есептеледі.

Биомассаны анықтау. Биомассаның ауадағы құрғақ салмағы сүзілгенге дейін өлшенген №4 қағаз сүзгілері арқылы саңырауқұлақ культураларының ҚС сүзумен анықталады, әрі қарай сүзілу аяқталғаннан кейін сүзгіш қағаздың шөгінділерін бөлме температурасында кептіреді, одан кейін термостатта 60°C кезінде тұрақты салмаққа дейін кептіреді және ЛПМ-100 (Ресей) талдау таразыларында өлшейді.

Саңырауқұлақтардың өсу жылдамдығын анықтау. Өсу және даму барысында саңырауқұлақ культураларының өсу жылдамдығы өсуші жасушаларды 1,0 мл культуральды ортада есептеу жолымен, сонымен қатар, осы КС үлгісінің тығыздығы бойынша, бастапқы қоректік ортаға қарсы және нефелометриялық түрде, нефелометрдегі ерітіндінің лайлығын анықтаумен жүргізіледі. Саңырауқұлақтардың өсу жылдамдығы Иерусалиммен сипатталған формулалар бойынша есептеледі [133].

Ақуыз құрамын анықтау. Саңырауқұлақтар КС ақуыздар құрамы жалпы қабылданған Лоури әдісі бойынша анықталады [134].

Ферменттерді органикалық тұндырғыштармен бөлу әдістемесі және оларды тазарту. Ең жоғары фермент түзілу сатысында бөлінетін, саңырауқұлақтар КС ферментті препараттар органикалық тұндырғыштармен

ферменттік ақуыздарды тұндыру жолымен алынады. Бұл үшін, культуралды сұйықтық пен продуценттерді 1 : 3 қатынасында изопропилді спиртпен тұрақты араластыру керек. Тұндыруды (-10) - 1°С температуралық интервалда, алдын ала культуралды сұйықтықты +2-+3°С температураға дейін салқындатқанда жүргізіледі. Тұнбаға түскен ақуыз +5°С температурада 12 сағат бойы тұнады, одан кейін тұндырғыш сұйықтықты тұнбаның үстіне құяды, ал ферменттер бар ақуыз тұнбаларын вакуум сүзгішінде құрғатқанға дейін сүзеді немесе центрифугаға МОМ (Ресей) 6.000 айнал/минут кезінде центрифугалайды, пигменттер және аз дисперсті бөлшектер іздерін жою үшін салқындатылған 96%-ным изопропил спирті немесе ацетонмен мұқият жуады, одан кейін тұрақты салмаққа дейін толық кебуге дейін ауа тартқыш астында кептіреді. Бұл жиынтық препарат – ақуыз тұнбасы одан кейін зерттеу нысаны болады.

«Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) мультиэнзимдік препаратын алу мақсатында ферментативті белсенді КС поло-талшықты мембраналық сүзгіде (УФ модулі-8-50-ПС «Фазеркрафт», Ресей) нанобөлшекті сүзгі - саңылауы арқылы молекулалық массасы (М. м.) 30 кДа, тұрақты парциалды қысымы 0,1 МПа / минут кезінде ақуызды өткізумен ультрафильтрация жолымен концентрлеу жүргізіледі.

Сонымен қатар, ферменттердің құрғақ мультиэнзимдік композициясын алу үшін үш кезеңдегі процесі бар лиофилді кептіргіш пайдаланады (LGJ-1A-80 лиофильді аппараты, Қытай): сұйық азотта КС-40°С дейін мұздату, кварц шынысынан (Германия) шығарылған тығындары бар арнайы дөңгелек колбаларда суды айдау, онда колбалардың айналасында айналу моторына қосылған, айналу осінің орталық резервуарына сұйық азотты құяды. Осылайша, ерітіндіден су айдалады және құрамында ферменттер белсенділігі жоғары құрғақ, суда еритін ферменттік ақуыз алынады.

Ферменттердің салыстырмалы белсенділігін анықтау. Бөлінудің әрбір кезеңінде: тұнбаға түсіру, ультрафильтрация, лиофильді кептірумен ферменттер белсенділігін ақуыздың мөлшері мен шығымы, зерттелетін ферменттердің жалпы және меншікті белсенділігі, бастапқы КС-тан тазарту дәрежесіне қатынасы бойынша салыстырады, сонымен қатар, өзара айырмашылыққа қатысты есептеді және пайызбен көрсетілген.

Редуцирлеуші заттардың құрамын анықтау (РЗ). Полисахаридтердің гидролизі үшін (КМЦ, сабан целлюлозасы, МКЦ, целлюлобиоздар, пектин, ксилан және т.б. талдау үшін алынған) 1,0% субстраттар полисахарид ерітіндісі дайындалады. Биохимиялық түрлі пробиркаларға 2 мл субстраттар ерітіндісі және 1,0 мл КС (бастапқы белсенділікті анықтау үшін) және әртүрлі тәсілдермен алынған препараттар ерітінділері құйылады. Реакциялық қоспаны 40 С температурада, су моншасында 10 минут бойы уақыт өткенге дейін ұстайды. Одан кейін, осылайша ферменттелген гидролизаттарда полисахаридті субстраттардың гидролиз өнімдерінің құрамы, редуцирлеуші заттар (РЗ) әдістемеге сәйкес анықталады [135]. Ол үшін таза пробиркаға бидай сабаны полисахаридтерінің ферменттелген ерітіндісінен алынған 1,0 мл аликвотты (сонымен қатар, басқа пробиркаларға басқа целлюлозды субстраттардың

ерітінділерін) құйып, оған 2,0 мл Сомоджи реактивін қосады, су моншасында 10 минут бойы қайнатып, уақыт өткеннен кейін реакциялық қоспаны суытып, қоспаға 1,0 мл Нельсон реактивін қосып, бөлме температурасында 10 минут бойы ұстайды, одан кейін ерітінділердің колориметриялық әдіспен оптикалық тығыздығы өлшенеді, онда ФЭК-56 М (Ресей) толқын ұзындығы 490, 560, 640 нм, 670 нм әр ферменттерді анықтау үшін субстраттар мен реактивтерден айырмашылығын табумен есептеледі. РЗ құрамын анықтау үшін 0,1 М стандартты глюкоза ерітіндісінің көмегімен алдын ала құрылған калибрлеу қисығы қолданылады. Реактивтер келесідей түрде дайындалады: концентрациясы 11,06 г/л мыс (II) сульфаты, 50 г/л сегнет тұзы, сары қан тұзы - 3,5 г/л, концентрациясы 75 г /л натрий гидроксиді ерітінділері. Кварц кюветасының көлемі 3,0 мл, қалыңдығы 1,0 см құрайды.

Сонымен қатар, 10 минут ішінде 100 С температурада су моншасында қайнату жолымен ферменттік сұйықтық бос анықтаулар- бақылаумен қатар жүргізіледі, қалған кезеңдер сынақтар нұсқалар тәріздес болады. Бақылау және тәжірибелік үлгілердің өлшенген нәтижелері негізінде ферменттердің белсенділігі есептеледі, ал бос, тек ғана реакциялық қоспаға ферменттік ерітіндісіз тәжірибе реактивтерін қосу арқылы глюкозаға (мг/мл) қайта есептегенде РЗ құрамы анықталады:

$$PB = R(D0 - D + 0,132) / 10 \quad (1)$$

R-глюкоза стандартты ерітіндісінің көрсеткіші, D-реакциялық қоспадағы субстрат гидролизі өнімінің оптикалық тығыздығы, DO-бақылау ерітіндісінің оптикалық тығыздығы, 0,1 М стандартты ерітіндідегі глюкоза молярлық концентрациясы 0,132, 10-ферменттік қоспадағы субстратты өсіру уақыты.

Бидай сабанының полисахаридтерін алдын ала өңдеудің физикалық әдістері. Бидай сабанын алдын ала өңдеу үшін шикізат жуылған судың мөлдірлігіне дейін сумен шаяды, кептіргіш шкафта (ES-4620 таңбалы ТС, Ресей) 10% ылғалдылыққа дейін кептіреді, одан кейін диірмен (ІКА М 20 таңбалы, Қытай) көмегімен бөлшектер 0,5-1,0 мм өлшемінің дисперсиясына дейін ұнтақтайды. Одан кейін, механикалық іске қосу үшін дірілді-орталық тепкіш айналу күшімен (Ресейде жасалған вцс-50 түрі) кескіш өткір пышағы бар аппарат қолданылады, сабанның жекелеген жасушалардың құраушыларын және жасушалық қабырғаларын жару үшін ұсақталған бидайдың сабанын 30 секунд ішінде 50 м/с² айналу жылдамдығын арттырумен қайта ұсақтайды.

Бидай сабаны полисахаридтерінің ферментативті гидролизі. Бидай сабанын ферментативті өңдеу жоғарыда көрсетілген әдістермен алынған «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) ферменттік препаратын пайдаланумен жүргізіледі. Гидролиз реакциялық қоспада рН-5,6 кезінде, 0,1 М сірке қышқылының буферлік ерітіндісін және үш сулы ацетатты араластырумен дайындалған буферлік ерітіндіні пайдаланумен жүреді. Гидролиз 60-180 минут ішінде субстраттар массасына қатысты 40-70°С кезінде 0,5-1,0% есебінен ферменттік ерітіндіні пайдаланумен жүзеге асырылады.

Бидай сабанын ферментативті деполимерлеу өнімдерінен сорбитті алу.

Глюкозадан сорбит алу үшін целлюлолитикалық ферменттердің әсерінен түзілетін глюкоза бар гидролизденген қоспалар қолданылады. Су молекуласынан сутегіні бөлуге мүмкіндік беретін арнайы электродиализдеуші аппаратта катализаторлар және судың көмегімен гидрлеу жүргізіледі. Бастапқы реакциялық қоспаның концентрациясы тәжірибелік жолмен субстрат, глюкоза есебінен алынады, онда қант (глюкоза) концентрациясы 10-15% - дан аз болмауы керек. Глюкоза, сорбит және РЗ (бақылау) стандартты ерітінділерінің оптикалық айналуын салыстыру жолымен сорбитке гидрирленген глюкоза концентрациясы рефрактометрде анықталады.

2.4 Бидай сабанын ферментативті деполимеризациялау кезінде глюкоза мен сорбит алу

Қанттарға талдау жалпы қабылданған әдіспен РЗ анықтаумен жүргізіледі.

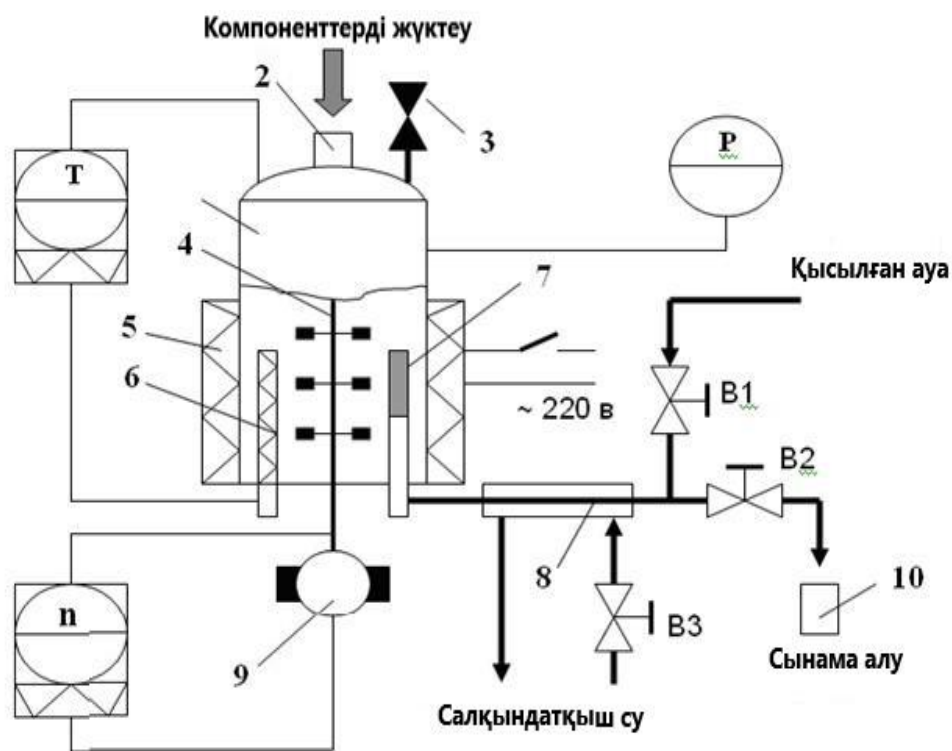
Гидролизаттардағы жеке моносахаридтерді сапалық және сандық анықтау Бертран және Макен-Шоорль әдісімен жүргізіледі.

Бидай сабанын химиялық гидролитикалық гидрлеу процесін зерттеуге арналған жетілдірілген аз габаритті зертханалық әмбебап қондырғы (3-сурет) 50⁰С-ден 200⁰С -ге дейін температураны өзгертуге мүмкіндік береді. Бидай сабанын, «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) ферментін және тотықсыздандырғыш агент ерітіндісін жүктеу 1 корпустың жоғарғы бөлігіне дәнекерленген 2 мойыны арқылы жүзеге асырылады.

Барлық құраушыларды бір мезгілде тиегеннен кейін гидролизденетін материалдың суспензиясы «сыртқы» қыздырғыштың 5 көмегімен берілген температураға дейін тез қызады, ол аппарат корпусының айналасында оралған қыш оқшаулағышта спираль түрінде болады. Берілген температураға жеткен кезінде «сыртқы» қыздырғыш ажыратылады және 6 патрон түріндегі кіріктірілген қыздырғышқа кернеу беретін автоматты термореттегіш қосылады. Гидролиз процесі кезінде сынамаларды іріктеу сұйық фаза бағанасы ортасының деңгейінде орнатылған 7 торлы сүзгі және «түтікшедегі түтікше» 8 типті тоңазытқыш арқылы жүзеге асырылады.

7 сүзгі ластанған кезінде оны тазалау сынама алу құрылғысына сығылған ауаны қысқа мерзімді беру есебінен жүреді. Қысымның қауіпті артуын болдырмау үшін, мысалы, термореттегіш істен шыққан кезінде гидролизердің корпусында 0,43 МПа шекті қысымға бапталған 3 сақтандырғыш клапан орнатылған.

Целлюлозаны гидролиздеу-гидрлеу бойынша типтік тәжірибелер келесідей түрде жүргізіледі. Реакторға 50 мг целлюлоза және 50 мг отырғызылған ферментті қояды, содан кейін 45 мл изопропанол қосады. Реакторды жабады, аргонмен үрлейді (газ қысымы 1 МПа) және 180 °С дейін қыздырады. Берілген температураға жеткеннен кейін реакция уақытын есептеу басталады. Тәжірибелер кезінде жабық автоклавтан арнайы сынама алғыш арқылы көлемі ~1 мл 0, 1, 2, 3, 5 және 7 сағат аликвоттар іріктеледі.



- 1 – Көлемі 100 мл реактордың корпусы
- 2 – Құраушыларды жүктеу мс¹
- 3 – Сақтандыру клапаны
- 4 – Рамалық араластырғыш
- 5 – Электрлік қыздырғыш 2,0 кВт
- 6 – Патрондық типті электрлік қыздырғыш 0,5 кВт
- 7 – Торлы сүзгі
- 8 – «түтікшедегі түтікше» типті тоңазытқыш.
- 9 – Араластырғыш құрылғы жетегі, 300 вт
- 10 – Сынама алу сыйымдылығы.

- B1 – Сүзгі үрлеу бұрандасы
- B2 – Сынама алу бұрандасы
- B3 – Салқындатқыш суды беру бұрандасы
- P – Көрсететін манометр МПТС-100, 4 атм, кл.1,5
- T – ТСП 100 температуралық тетігі бар термореттегіш ОВЕН ТРМ1
- n – тұтынылатын қуат индикациясы дисплейі бар араластырғыш айналымың реттегіш.

Сурет 4 – Бидай сабанын ферментативті гидролитикалық гидрлеу қондырғысының принциптік сызбасы

Күрделі биотехнологиялық процестерді зерттеу үшін ферментер қолданылады. Кешен құрамындағы мұндай қондырғы құрамында целлюлоза бар шикізаттың ферментативті гидролизін 1:10 және одан көп гидромодул кезінде және 30°C – 75°C диапазонында реттелетін температурада зерттеуді жүзеге асыруға мүмкіндік береді.

Ферментердің араластыру құрылғысының жетегі гидролизер араластырғышының жетегіне ұқсас және электр қозғалтқышының якорінде

қуатты өлшеуді қамтамасыз етеді.

Ферменттерге арналған қондырғының жалпы сызбасы механикалық араластырғышы бар реактормен жабдықталған стандартты ферментациялық қондырғыдан нақты шамада ерекшеленеді. Қышқылдығы МУЛЬТИТЕСТ ИПЛ-513 рН-метрмен бақыланады, титрлеу перистальтикалық сорғы-дозатор көмегімен титрантты берумен бір жақты реттеу нұсқасы бойынша жүзеге асырылады.

Тәжірибелер кезінде бастапқы шикізат ретінде бидай сабаны қолданылады (5-сурет).



Сурет 5 – Ферментативті гидролиз процестерін зерттеуге арналған қондырғының жалпы түрі

Нәтижелерді статистикалық өңдеу. Барлық тәжірибелер үш рет қайталаумен орындалады. Нәтижелердің статистикалық шынайылығын бағалау «MathCAD» және «Statistica» қолданбалы бағдарламаларын пайдаланумен жүзеге асырылады. Тәжірибелік мәліметтерді математикалық өңдеу статистикалық орташа қатені, дәлділік интервалдарын және стандартты ауытқуларды есептеу, Statistica 6.0 компьютерлік бағдарламасының және жалпы қабылданған әдістердің көмегімен жүргізіледі. Нәтижелердің статистикалық мәндері Стьюденттің t-критерийін есептеумен анықталады.

3-ТАРАУ. ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ

3.1 Мицелиалды саңырауқұлақтар арасындағы целлюлолитикалық ферменттерді алудың скринингі және салыстырмалы сипаттамасы

Әдеби мәліметтерді талдау көрсеткендей, целлюлаз биосинтезіне қабілеттілік көптеген микроағзаларға тән, ал олар синтездейтін ферменттердің құраушылар құрамы мен саны ең алдымен әрбір микроағзаның тұқым қуалайтын қасиеттеріне байланысты, онда әрбір молекуланың, метаболиттердің, атап айтқанда, ақуыз жасушасында түзілетін ферменттердің сапалық, сандық құрамы мен құрылымы сәйкес гендермен анықталады, бұл конституциялық ағзаларға қатысты [4]. Бірақ, целлюлаздарды және олардың кешендерін өнеркәсіптік алу үшін негізінен таксономиялық топтардан тұратын индуцибельді микромицеттер дәстүрлі түрде қолданылады, мысалы, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* тегінің саңырауқұлақтары [136], оларда нуклеин қышқылдары, пуриндік негіздер нақты шамада аз, ақуыз секрециясының жоғары деңгейіне ие, олар өндіретін целлюлаздың кең жиынтығы, өсімдіктердің жасушалық қабырғасының туыстық полимерлері (клетчатка, гемицеллюлоздар, лигнин, пектин және басқалар) кезінде оларды құрайтын мономерлерге дейін – глюкоза, ксилоза, арабиноза, целлобиоз және басқа сәйкес субстратқа дейін гидролизденеді. Сонымен қатар, бұл саңырауқұлақтар көптеген циклдар бойы ЦФ нақты шамадағы санын өндіре алады [111]. Микромицеттер негізінен жасушадан тыс целлюлаз ферменттерін синтездейді, бұл жасушаішілік целлюлаздармен, атап айтқанда, бактериялармен салыстырғанда аталған ферменттерді бөлу және тазарту процесін нақты жеңілдетеді.

Сонымен қатар, белгілі болғандай, микромицеттердің көпшілігі ұсынылатын субстратқа байланысты индуцибельді, экзогенді ферменттердің үлкен кешенін секретирлейді, бұл осы ағзаларды өнеркәсіп пен ауыл шаруашылығының әр түрлі салаларында пайдалануға мүмкіндік беретін қоректік ортаның құраушыларына, культивирлеу шарттарына жауап ретінде ұсынылады [78].

Жоғарыда баяндалған дәлелдер мен фактілер көрсеткендей, осы диссертациялық жұмыс аясында целлюлаздың келешекте қолданылатын продуценттері ретінде 86 микромицет штамдарын пайдаландық, оның ішінде 42-і ҚР табиғи көздерінен бөлінген, табиғи изоляттар, негізінен ТО топырақ қабатынан, шіріген өсімдік қалдықтарынан, сонымен қатар, 24 жиынтық культуралардан алынған.

ЦФ продуцент-штамдарын жедел іріктеу үшін алдымен саңырауқұлақтардың өсу және целлюлозды субстратты (Na-KМЦ) және «Конго қызыл» хромогенді бояғышты пайдаланумен селективті агарланған ортада колониялар айналасында субстраттар гидролизінің (ағарту) аймағын құру қабілетіне негізделген селекцияның сапалы (табақшалы) әдісін пайдаланылады. Колониялар айналасындағы гидролиз аймағының диаметрі ең көп болса, Na-

КМЦ деполимеризациялауға қатысты саңырауқұлақтардың белсенділігі жоғары болады (3-кесте).

Кесте 3 – Құрамында целлюлоза бар ортада гидролитикалық ферменттерді алу бойынша саңырауқұлақтардың салыстырмалы белсенділігі

№	Штаммдар	$d_{\text{зоны}} / d_{\text{колонии}}$	Штаммдарды алу көзі
1	<i>A. awamori</i> F-RKM 0719	1,96±0,05	ОҚМУ
2	<i>A. foetidus</i> 12	0,51±0,03	ОҚМУ
3	<i>A. niger</i> 165	1,78±0,04	ИМБ ӨР ҒА
4	<i>Tr. viride</i> 499	2,07±0,03	ИМБ ӨР ҒА
5	<i>A. awamori</i> 54	0,92±0,04	ОҚМУ
6	<i>A. orizae</i> 458	1,09±0,03	ИМБ ӨР ҒА
7	<i>P. canescens</i> 152	1,76±0,04	ИМБ ӨР ҒА
8	<i>Tr. atroviride</i> 48	1,35±0,04	ИМБ ӨР ҒА
9	<i>A. niger</i> 117	0	ОҚМУ
10	<i>A. niger</i> 85	1,42±0,03	ИМБ ӨР ҒА
11	<i>A.terrius</i> 45	1,50±0,04	ИМБ ӨР ҒА
12	<i>A. awamori</i> F 21	1,58±0,04	ВКПМ
13	<i>Tr. viride</i> 121	2,29±0,05	ИМБ ӨР ҒА
14	<i>Tr. Resei</i>	2,15±0,05	ИМБ ӨР ҒА
15	<i>A. awamori</i>	1,25±0,03	ОҚМУ
16	<i>A. foetidus</i> 52	0	ОҚМУ
17	<i>A. foetidus</i>	0	ОҚМУ
18	<i>Tr. viride</i>	1,98±0,04	ИМБ ӨР ҒА
19	<i>P. canescens</i> 23	1,77±0,03	ИМБ ӨР ҒА
20	<i>P. canescens</i> 48	1,62±0,04	ИМБ ӨР ҒА
21	<i>A.terrius</i> 187	2,00±0,05	ИМБ ӨР ҒА
22	<i>A.terrius</i>	1,76±0,05	ИМБ ӨР ҒА
23	<i>P.citro-viride</i>	0	ИМБ ӨР ҒА
24	<i>A. orizae</i>	1,46±0,04	ОҚМУ

Анықталғандай, 48-72 сағаттар ішінде жоғарыда көрсетілген қатты агарланған ортада саңырауқұлақтардың өсуі кезінде гидролиз және жарықтану аймағының ең үлкен диаметрлері 1,09-2,29 кұрайды, зерттелетін 24 изолятордан барлығы 9 - саңырауқұлақтардың штаммдары тез өсуге және субстраттың бәсеңдету белсенділігіне ие, олар *Aspergillus* (*A. awamori* F-RKM 0719-1,96 мм, *A. niger* 165-1,78 мм, *A.terrius*187-2,0 мм, *Tr. viride* 499-2,07 см, *Tr. viride* 121-2,29 мм, *Tr. resei*-2,15 мм, *P. canescens* 23-1,77 мм, *P. canescens* 152-1,76 мм тегінің саңырауқұлақтары.

Бұл әдіс тез өсу қарқыны және целлюлаздық белсенділіктің түрлі деңгейімен саңырауқұлақтардың колониясын тез саралауға және іріктеуге мүмкіндік береді. Одан кейін, зерттеу үшін скрининг әдісімен іріктелген саңырауқұлақ культуралары құрамында целлюлоза бар орталарда түптік өсіру жолымен олардың ферменттер саны анықталады.

Сонымен қатар, ескеретін нәрсе, микробиологиялық синтезбен ферменттер өндірісінің рентабельділігі продуценттердің жоғары белсенді штаммдарын алу

және пайдалануға байланысты болады. Сондықтан, гидролиздің үлкен аймақтары түзілгенде және тез өсуімен ерекшеленетін саңырауқұлақтар Чапек ортасын пайдаланып, түптік тәсілмен өсіріледі, онда құрамында целлюлоза бар субстратты бір ғана көміртегі көзі ретінде өсіру ортасына қосады. Қоректік ортаның белгілі бір құрамы және ол үшін пайдаланылатын целлюлоза субстраттары «материалдар мен зерттеу әдістері» бөлімінде толық көрсетілген.

Түптік-тербелмелі өсіру жағдайларында сабан целлюлозасы бар ортада саңырауқұлақтардың целлюлозаны синтездеу қабілетін зерттеу көрсеткендей, целлюлозаны ең белсенді түрде түзуге саңырауқұлақтар қабілетті болады.

Кесте 4 – Сүзгіш қағаздың гидролизі бойынша саңырауқұлақтардың салыстырмалы целлюлозды белсенділігі

№	Штаммдар	ЦС, бірлік /мл	Штаммдарды алу көзі
1	<i>A. awamori</i> F-RKM 0719	0,92±0,03	ОҚМУ
2	<i>A. niger</i> 165	0,82±0,02	ИМБ ӨР ҒА
3	<i>Tr. viride</i> 499	0,84±0,04	ИМБ ӨР ҒА
4	<i>Aspergillus</i> sp. 5	0,38±0,01	ТО топырағы
5	<i>Aspergillus</i> sp. 6	0,51±0,02	ТО топырағы
6	<i>A. orizae</i> 458	0,89±0,03	ИМБ ӨР ҒА
7	<i>P. canescens</i> 152	0,77±0,04	ИМБ ӨР ҒА
8	<i>Tr. atroviride</i> 48	0,75±0,04	ИМБ ӨР ҒА
9	<i>Tr. viride</i>	0,44±0,02	ТО топырағы
10	<i>P. canescens</i>	0,26±0,01	ТО топырағы
11	<i>A. niger</i> 85	0,81±0,03	ИМБ ӨР ҒА
12	<i>A.terrius</i> 45	0,47±0,03	ИМБ ӨР ҒА
13	<i>A. awamori</i> F 21	0,58±0,03	ВКПМ
14	<i>Tr. viride</i> 121	1,29±0,05	ИМБ ӨР ҒА
15	<i>Tr. resei</i>	0,45±0,03	ИМБ ӨР ҒА
16	<i>A. awamori</i>	0,25±0,01	ОҚМУ
17	<i>Penicillium</i> sp.	0,36±0,02	ТО топырағы
18	<i>Penicillium</i> sp. 2	0,47±0,03	ТО топырағы
19	<i>Tr. viride</i>	0,98±0,04	ИМБ ӨР ҒА
20	<i>P. canescens</i> 23	0,77±0,03	ИМБ ӨР ҒА
21	<i>P. canescens</i> 48	0,62±0,03	ИМБ ӨР ҒА
22	<i>A.terrius</i> 187	0,55±0,02	ИМБ ӨР ҒА
23	<i>A.terrius</i>	0,76±0,03	ИМБ ӨР ҒА
24	<i>Penicillium</i> sp. 2	0,21±0,01	ТО топырағы

Алынған мәліметтер көрсеткендей, *A.awamori* F-RKM 0719, *A.niger* 165, *A. niger* 85, *Tr. atroviride* 48, *A. terrius*, *Tr. viride* 499, *Tr. viride* 121 саңырауқұлақтары басқа саңырауқұлақтармен салыстырғанда жоғары белсенділікке ие. *P.canescens* 23 және *P. canescens* 152 саңырауқұлақтары өсірудің түптік жағдайларында беттік культура кезінде ең жақсы өсу мен гидролиздік аймақты көрсеткен целлюлозаның аз белсенділігі байқалады.

Алынған мәліметтер көрсеткендей, pH= 5,6 кезінде таңдалған оңтайлы жағдайларда түптік культивирлеуде целлюлаз синтезіне салыстырмалы жоғары

қабілеттілікке барлық культуралардың ішінен тек ғана *Tr. viride* 121 саңырауқұлағы ие, онда целлюлазды ферменттердің жоғары деңгейі бар. Әдебиетте айтылғандай, *Trichoderma* тегінің саңырауқұлақтары ферменттер құраушыларының оптималды құрамымен жасушадан тыс целлюлозаны синтездеуге қабілетті болады [137].

Біздің зерттеулеріміз көрсеткендей, саңырауқұлақтардың 24-тен астам культураларын зерттеу кезінде, олардың арасында негізгі культура ретінде одан әрі зерттеу үшін *Tr. viride* 121 ең белсенді штамм ретінде таңдалады (кесте-4). Бұл штамм глюкоза тәріздес қант, көмірсулар алу мақсатында целлюлоза биомассасын өңдеуге арналған целлюлолитикалық кешен ферменттерінің келешекте қолданылатын штамм-продуценті болып табылады, әрі қарай ксилит түзіледі.

Бірақ, саңырауқұлақтармен түзілетін ферменттердің термотұрақтылығы төмен, олардың белсенділігі әртүрлі деңгейде болуы, ферменттердің көп емес жиынтығы аралас тәсілдерді қажет етеді. Мұндай тәсіл көбінесе ферменттер препараттарын араластыру немесе синергизм танытатын және бір-бірін жетіспейтін қасиеттермен толықтыратын екі немесе одан көп микроағзаларды бірлесіп өсіру арқылы жүзеге асады.

Сондықтан, әрі қарай зерттеулер үшін өнеркәсіптік микробиология мен биотехнологияда жиі кездесетін осындай тәсіл қолданылады.

3.2 Целлюлолитикалық ферменттер кешенін алу үшін микроағзалар қауымдастығын жасау

Көптеген зерттеулерде көрсетілгендей, ферменттік препараттар өндірісін қарқындату жолдарының бірі субстратқа көп сіңетін қабілеті бар, жоғары энзиматикалық белсенділігі бар, тез арада субстраттарды тиімді өңдейтін, ал ең бастысы термотұрақтылығы мен жедел белсенділігі бар жоғары өнімді аралас культураларды пайдалану болып табылады. Синергиялық өсуде екі культуралардың кооперациясы ферменттердің жоғары синтезі, тез өсуі және басқалар, монокультуралармен, бағалы қосылыстардың шығуымен салыстырғанда, сонымен қатар, бөгде микрофлорамен, әсіресе өндірістік жағдайларда жұқтыруға үлкен тұрақтылық танытады [138].

Іс-тәжірибеде микроағзалар қауымдастығын өсіру үшін табиғи жағдайда орнына кездесетін микроағзалар пайдаланылады, онда өзара байланыс биохимиялық өнімдердің синтезі тәуелді, олардың метаболикалық процестеріне оң немесе теріс әсер етеді [139]. Сонымен қатар, табиғи жағдайларда екі немесе үш және одан көп ағзалардың өсуі мен дамуына әсер ететін өзара ынталандыру және катаболикалық, метаболикалық өнімдердің биосинтезі, құрамында субстраттар бар целлюлоза терең гидролизі жүреді.

Одан басқа, целлюлолит емес культуралар өнімдерінің биосинтезін бірге өсіру кезінде целлюлолитикалық микроағзалар жасушалары өсуінің артуына әсер етеді, бұл биотехнологиялық процестердің тиімділігін арттыруға мүмкіндік береді [7].

Белгілі болғандай, *Trichoderma reesei* Д1-6 және *Aspergillus wentii* Pt2804 бірлескен өсіруде, онда целлюлаза, β -глюкозидаза және гемицеллюлазаның белсенділігі бөлек өсірумен салыстырғанда 2-3 есе жоғарлайды [77]. Жоғары белсенді ферментті целлюлаз препаратын алу үшін культураларды кезекпен енгізу және қоректік ортада ферменттер биосинтезінің индукторы болып табылатын целлюлозды құраушыны пайдаланумен *Trichoderma viride* және *Aspergillus foetidus* саңырауқұлақтарын бірге өсіру жүзеге асырылады [140]. Бидай сабаны тәріздес күрделі өсімдік полисахаридтерінің ең терең биоконверсиясы үшін өсімдік тініне бірлескен әсер еткен кезінде оңай сіңетін көмірсулар бөліп, оны ыдырататын целлюлаза бұзатын және пектин ыдыратқыш ферменттер кешені бар микроағзалар ассоциациясын қалыптастыру тиімді болады [75].

Целлюлолитикалық ферменттер кешенін алу үшін микроағзалар қауымдастығын құру бойынша жүргізілетін зерттеулерде басқа зерттеушілер атап көрсеткендей, кейбір жұмыстарда целлюлаз бен β -глюконазды синтездейтін пектолитикалық ферменттер кешенінің бұрын белсенді жоғары продуцентіне негізделген [76,141].

А. *Awamori* мицелиялық саңырауқұлағының культурасы, Түркістан облысы, Сайрам ауданы, «Лесхоз» селосының топырағынан көп сатылы селекция және мутагенез нәтижесінде М. Әуезов атындағы ОҚМУ «Биотехнология» кафедрасында бөлінген [142, 143]. Бұл культура Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің «Республикалық микроағзалар жиынтығы» шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорнында сақтауға алынған және А. *awamori* F-RKM 0719 тіркеу нөмірі беріледі (сурет-6).

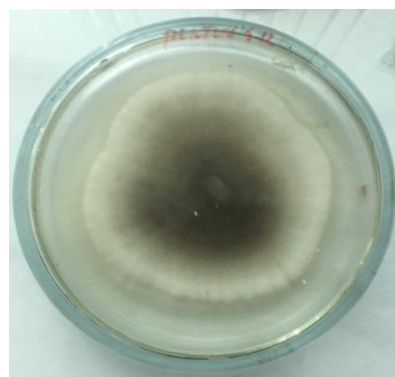
Сондықтан, микромицеттер штаммдарының өнімділігі және ферментативтік кешеннің белсенділік деңгейі бойынша зерттеулер целлюлаз бойынша сұйық қоректік ортада ең белсенді *Tr. viride* 121 және А. *awamori* F-RKM 0719 штаммымен анықталады.

Тәжірибелер нәтижелері көрсеткендей, екі микромицеттердің штаммдарын бірге өсіру кезінде ферменттердің түзілуі өсу жылдамдығына байланысты болады (7-сурет). КС-та целлюлазаның жиналуы 24 сағат өсуден басталады және 48-72 аралығында қарқынды шыңы байқалады, 96 сағат өсуге жетеді. ал биомассаны 72 сағатқа өсіруде түзіледі. Осылайша, целлюлаздың ең көп синтезі экспоненциалды өсу фазасының соңында байқалады. Сонымен қатар, микромицеттер ассоциациясын өсіру кезінде өсу жылдамдығы баяулағаны, сонымен қатар микробтық қауымдастықтың ішіндегі синергетикалық әсердің есебінен биомасса өнімділігінің артуы, қажетті қоректік заттар және гидролиз өнімдерімен, екі культураның қарқынды өсуін қамтамасыз етеді [144].

Секретирлеу ферменттердің әсері нәтижесінде түзілетін өнімдердің жиналуы, олардың синтезі бәсеңдеуіне әсер етеді. Микромицеттердің жеке өсу қарқынының айырмашылығынан, сонымен қатар, олардың секретирленген ферменттерінің айырмашылығынан культураларды қоректік ортаға енгізу кезінде мұқият реттеу қажет.



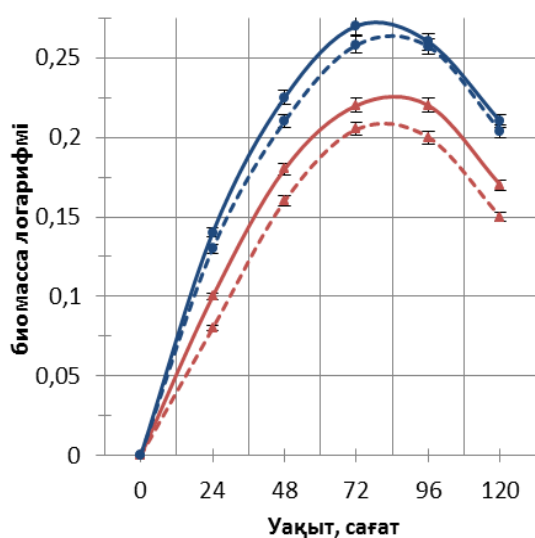
А



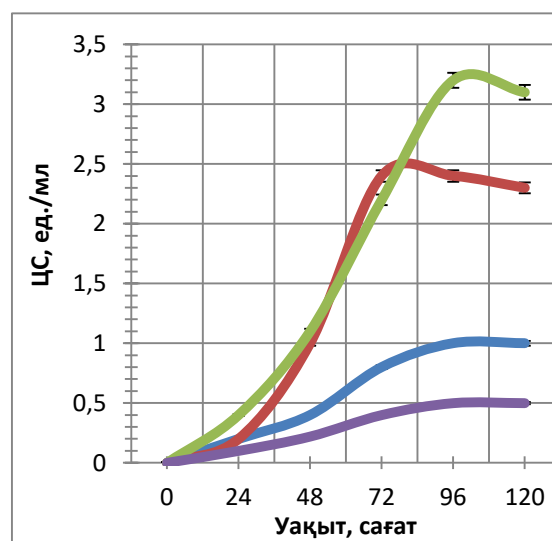
Б

Сурет 6 – *Trichoderma viride*-121 (А) және *A. awamori* F-RKM 0719 іріктелген саңырауқұлақтардың өскен колониялары

Осылайша, *Tr.reesei* синтезделген целлюлолитикалық ферменттер кешені әлсіз индукторлар ретінде төмен молекулалық өнімдер түзілетін целлюлозамен индукцияланады. Соңғылары глюкозаға тез ыдырап, ферменттер синтезінің репрессиясына (бәсеңдеуін) әсер етуі мүмкін [145].



А



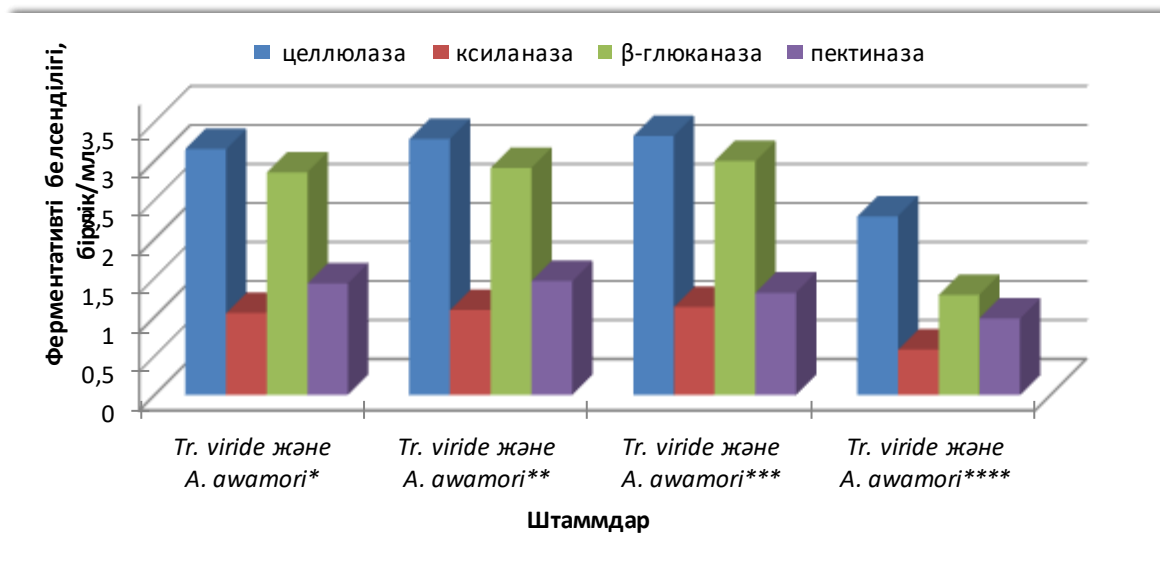
В

Қысққ жолақтардың белгілері: ——— - бөліп дақылдандыру; — — — - бірлесіп дақылдандыру; ▲ - *A. awamori* F-RKM 0719; ● - *Tr. viride* 121; ■ – 24 сағаттан кейін *A. awamori* F-RKM 0719 ендіру арқылы *Tr. viride* 121 инокуляциясы; ■ – 24 сағаттан кейін *Tr. viride* 121 ендіру арқылы *A. awamori* F-RKM 0719 инокуляциясы.

Сурет 7 – Мицелиялық саңырауқұлақтар өсімінің динамикасы (А) және бірлескен мен жеке культивирлеу жағдайларында целлюлаз биосинтезі (В)

Осылайша, жоғарыда көрсетілгендей, аралас культураларды тәжірибелік жолмен арнайы іріктелген жиынтығын құруда субстрат ретінде бір продуцент кометаболит, атап айтқанда ферменттердің түзілу индукторы, басқа

продуценттің химиялық өнімдерін пайдалануға мүмкіндік береді. Сондықтан, гидролитикалық ферменттердің аралас кешенін алу үшін олардың бір қоректік ортада аралас өсуін, *Tr. viride* 121 саңырауқұлақтарын инокулирлеуді жүргізеді, одан кейін өсетін культураға *A. awamori* F-RKM 0719 саңырауқұлағын 24, 48 және 60 сағат бойы уақыт аралығымен енгізеді (8 -сурет).



Белгіленуі: *- *Tr. viride* және *A. Awamori* штаммдарының бір уақыттағы инокуляциясы; ** *Tr. Viride* 24 сағат культивирлеуден кейінгі *A. awamori* инокуляциясы; *** - *Tr. Viride* 48 сағат культивирлеуден кейінгі *A. awamori* инокуляциясы; **** - *Tr. Viride* 60 сағат культивирлеуден кейінгі *A. awamori* инокуляциясы

Сурет 8 – Бірлескен және жеке культивирлеу жағдайларында мицелиялық саңырауқұлақтардың ферментативті белсенділігі

8-суреттегі мәліметтерде көрсетілгендей, *A. awamori* F-DM 0719 енгізгенде *Tr.viride* 121 штаммын 48 сағат культивирлеуден кейін ферменттердің ең жоғары белсенділігі байқалады. Бұл жағдайда синергизм әсері бар, онда екі немесе одан көп ферменттердің өзара әрекеттесуінің жинақтаушы әсері байқалады, олардың әрекеті әрбір жеке құраушылардың қарапайым қосындысы түріндегі әсерінен нақты шамада жоғары. *A. awamori* F-RKM 0719 штаммының 60 сағаттан кейін инокуляциясы ферменттер белсенділігінің 69,4 % төмендеуіне әсер етеді.

Екі саңырауқұлақ әсерінің синергизміне қарамастан, ең үлкен синергетикалық әсері саңырауқұлақтардың 24 тәулігінде байқалады, онда *A.awamori* F-RKM 0719 24% ортаға инокуляцияланған *Tr. viride* енгізеді, 24 - сағаттан кейін белсенділік 20% –ға, ал 48 сағатта-24% - ға артатынын көрсетеді. 60 сағаттан кейін аралас дақылдарда целлюлазаның белсенділігі 55,5 % - ға төмендейді. Қалған гидролазаларға (ксиланаза, в-глюканаза және пектиназа)

катысты, онда өсіру уақытына байланысты белсенділіктің төмендеу үрдісінің заңдылықтары анықталады.

Алынған мәліметтер көрсеткендей, саңырауқұлақтарды бірге өсіру гидролитикалық ферменттер белсенділігінің артуына ғана емес, сонымен қатар олардың өсу мерзімдерін қысқартуға, ферменттер синтезіне әсер етеді.

Осылайша, сұйық қоректік ортада *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-DM 0719 микромицеттерін бірге өсіру, монокультуралармен салыстырғанда нақты шамада артықшылықтарды қамтамасыз етеді. Микроағзалар консорциумының өнімділігі синергетикалық әсер есебінен 30-70% - ға артады. Микробтық қауымдастықтар субстраттар штаммдарды қоректік ортаға біртіндеп енгізу есебінен тиімді пайдаланады, *Tr. viride* 121 әсерінен түзілетін целлюлоза гидролизінің өнімдері, ал *A. awamori* F-RKM 0719 үшін субстрат болып табылады [144].

3.3 Микроағзалар қауымдастығымен синтезделген ферментативтік кешеннің сипаттамасы

Техникалық ферменттік препараттарды алу мақсатында микроағзаларды қолданудың тиімділігі қайта өңдеу салалары үшін микроағзалармен синтезделген ферментативтік кешеннің құрамына байланысты. Әсіресе, бидай полисахаридтерінің гидролизіне қажетті целлюлазды және гемицеллюлазды кешеннің ферменттеріне ерекше көңіл бөлінеді.

5-кестеде *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 штаммдарымен синтезделген целлюлазды, гемицеллюлазды, пектиназды кешендердің компоненттік құрамы бойынша мәліметтер берілген.

Кесте 5 – Бірлескен және жеке өсіру жағдайында микромицеттердің ферментативтік кешенінің биохимиялық құрамы

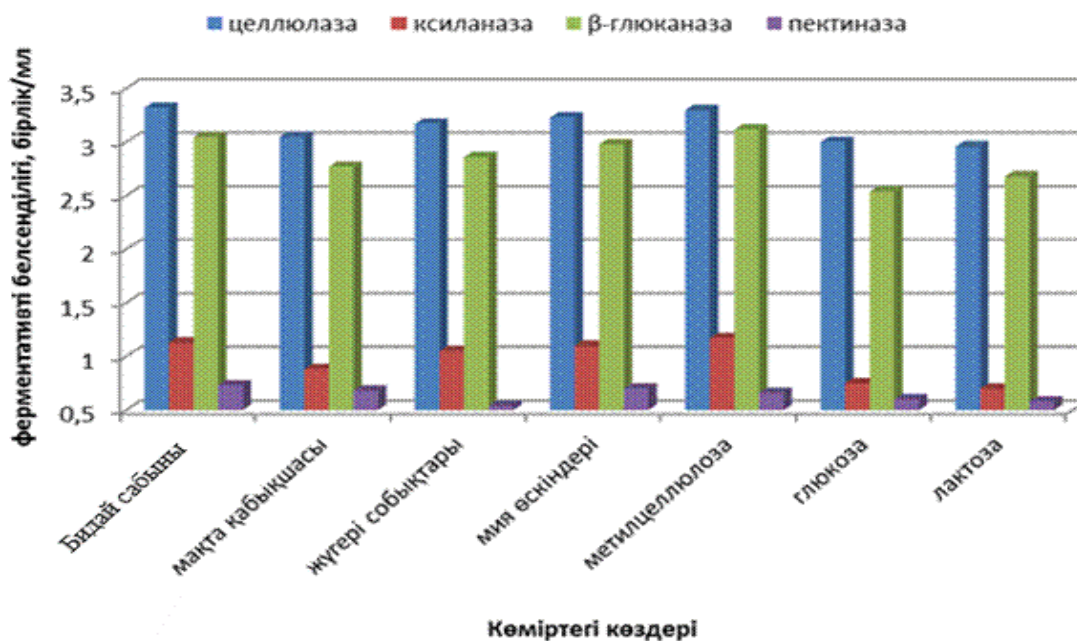
Штаммдар	Ферментативтік белсенділігі, бірлік /мл					
	ЦС	Эндо-ГКС	Ц6С	КС	β-ГКС	ПКС
<i>Tr. viride</i> 121	2,29±0,05	1,79±0,03	0,96±0,03	1,23±0,03	1,85±0,04	-
<i>A. awamori</i> F-RKM 0719	0,94±0,02	0,62±0,03	0,54±0,02	-	1,19±0,03	1,12±0,02
<i>Tr. viride</i> 121 и <i>A. awamori</i> F-RKM 0719*	3,32±0,05	2,14±0,04	1,54±0,03	1,13±0,03	3,05±0,09	0,73±0,02
* <i>Tr. Viride</i> 48 сағат культивирлеуден кейін <i>A. awamori</i> инокуляциясы						

Алынған мәліметтер, жеке өсірумен салыстырғанда микромицеттерді бірлесіп культивирлеудің артықшылықтарын растайды, онда бір ферменттер

үшін жеке культивирлеуде саңырауқұлақтардың өсінділеріне қарағанда ең белсенді культуралды сұйықтықты алуға мүмкіндік береді.

3.4 Қоректік орта құрамы мен өсіру жағдайларына байланысты целлюлаз кешенін биосинтездеуді реттеу

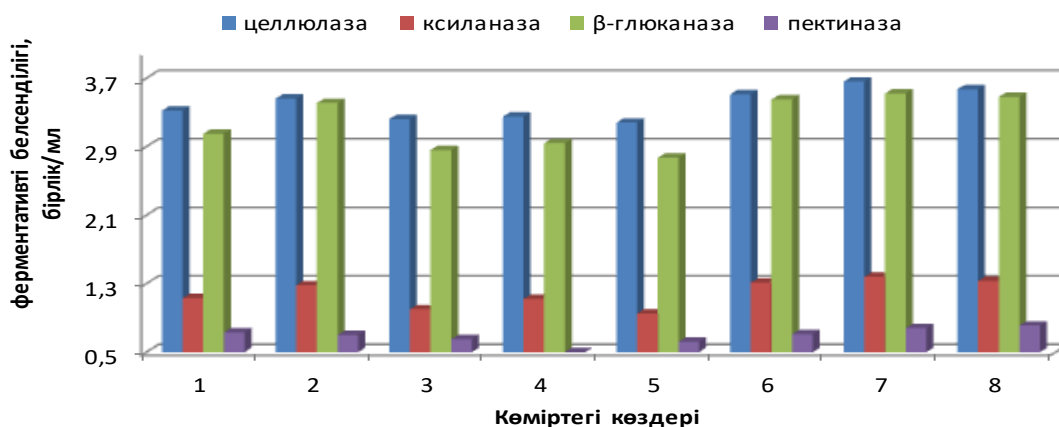
Жасушалармен синтезделген ферменттердің құрамы мен саны нақты микроағзалардың тұқым қуалайтын қасиеттерімен анықталады және ағзалар орналасқан ортаның жағдайына; қоректік құраушылардың деңгейі мен тепе-теңдігіне; нақты ферменттің немесе олардың топтары синтезін ынталандыратын немесе репрессиялайтын заттардың болуына байланысты болады [146]. Целлюлолитикалық кешен ферменттерінің биосинтезі целлюлозды заттармен индукцияланады. Біз құны төмен және қайталама материалдық ресурстар болып табылатын көміртегі көздерін іздестірдік. Мұндай көздер ірі көлемді, ауыл шаруашылығы өндірісі мен қайта өңдеу өнеркәсібінің тез табылатын және келешегі бар қайталама ресурстары бидай сабаны, мақта жармалары, жүгері бағандары мен мия өскіндері болуы мүмкін. Зерттелетін саңырауқұлақтарды монокультураларда өсіру кезінде ферментативтік белсенділік өсіру жағдайларына, орта құрамына, қоректендірудің негізгі көздеріне және қышқылдыққа байланысты екендігі анықталады. Сондықтан, ферменттер биосинтезінің *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-DM 0719 микромицеттерімен тәуелділігін анықтау үшін көміртегінің әртүрлі көздерінен 3% концентрациядағы ферменттердің белсенділігін 5 тәуліктен кейін анықталады (9-сурет).



Сурет 9 - Бірлесіп өсіру жағдайында ферменттер синтезіне көміртегі көздерінің әсері

9-суреттегі мәліметтер көсеткендей, *Tr. viride* 121 штаммын өсіру кезінде 48 сағаттан кейін *A awamori* F-RKM 0719 штаммын енгізілумен көміртегі ретінде бастапқы нұсқаны – бидай сабаны, мия өскіндері, сонымен қатар, целлюлоза құраушысы-метилцеллюлозаның ең үлкен ферментативті белсенділігі байқалады. Бұл заттар ферментативті кешен синтезінің индукторлары болып табылады. Целлюлаз биосинтезге тиісті субстраттың, целлюлозаның қатысуымен ғана индукцияланады және керісінше конустық өнімдермен репрессияланады [147]. Бұл өз кезегінде көміртегінің құрамында целлюлоза бар көздері өсіру кезінде целлюлозаның жоғары шығымын қамтамасыз етумен түсіндіріледі, қанттар (сахароза, глюкоза) - төмен шығымы байқалады.

Осылайша, тиісті субстратты таңдау тиімді целлюлаз синтезі үшін маңызды. Бұл субстраттар қоректік ортада көміртегінің көзі ғана емес, сонымен қатар, микроағзалар үшін қажетті индукциялық қосылыстар ретінде әсер етеді [148]. Сонымен қатар, целлюлолитикалық ферменттердің саңырауқұлақтармен биосинтезі көміртектің тез табылатын көздерін реттеуге байланысты болады. Целлюлазды гендердің транскрипциясы глюкозаның қатысуымен тежелуі дәлелденген [149]. Сондықтан, гидролитикалық ферменттер кешенінің биосинтезі үшін бидай сабаны, мия өскіндері және метилцеллюлозаның әртүрлі концентрациялардағы бірлескен әсері тексеріледі (сурет 10).



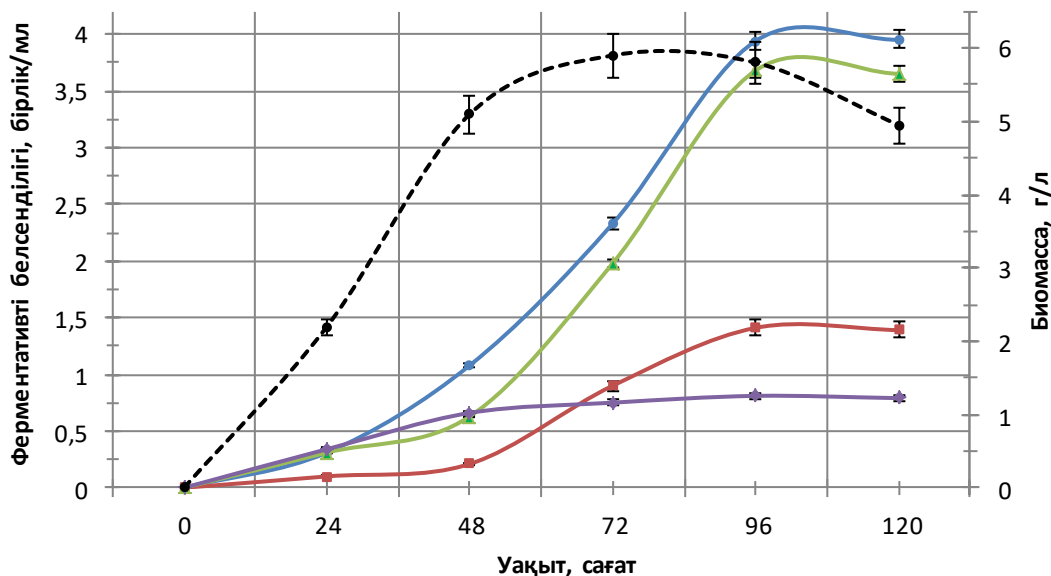
Белгіленуі: Ортаның көміртегі концентрациясы (бидай сабаны: мия өскіндері : метилцеллюлоза), %: 1 – 3:0:0; 2 – 2:1:0; 3 – 1:2:0; 4 – 1:0:2,5; 5 – 1:0,5:1,5; 6 – 1:1:1; 7 – 1,5:1:0,5; 8 - 2:0,5:0,5

Сурет 10 - Бірлескен өсіру жағдайында ферменттер синтезіне көміртектің әртүрлі көздерінің бірлескен әсері

Ферменттердің ең белсенді синтезі құрамында бидай сабаны, мақта жармалары және метилцеллюлаза бар ортада 3% ортадағы көмірсулардың жалпы концентрациясы 2,5:1:0,5 қатынасында байқалады. Бұрын *Tr. viride* 121 өсіруден кейін *A awamori* F-RKM 0719 штаммының инокуляциясы анықталады, ферменттер синтезінің артуына әсер етеді, бізбен метилцеллюлозаның ортаға енуінің экспоненттік фазасы – гидролитикалық ферменттердің ең жоғары

синтезі аяқталғаннан кейін ферментативті белсенділігіне зерттеулер жүргізіледі (11-сурет).

Бұл жағдайда гидролитикалық ферменттер синтезінің жоғарылауы *Tr.viride* 121 штаммының экспоненттік өсу фазасының соңында культивирлеу ортасынан целлюлолитикалық ферменттердің целлюлоза адсорбциясымен түсіндіріледі, ферменттің жаңа мөлшерінің секрециясы пайда болады. Осылайша, мицелиялық саңырауқұлақтар қауымдастығы синергетикалық әсер етеді, целлюлаз, гемицеллюлаз және пектиназдың ең жоғары ферментативті белсенділігіне жетуге мүмкіндік береді.



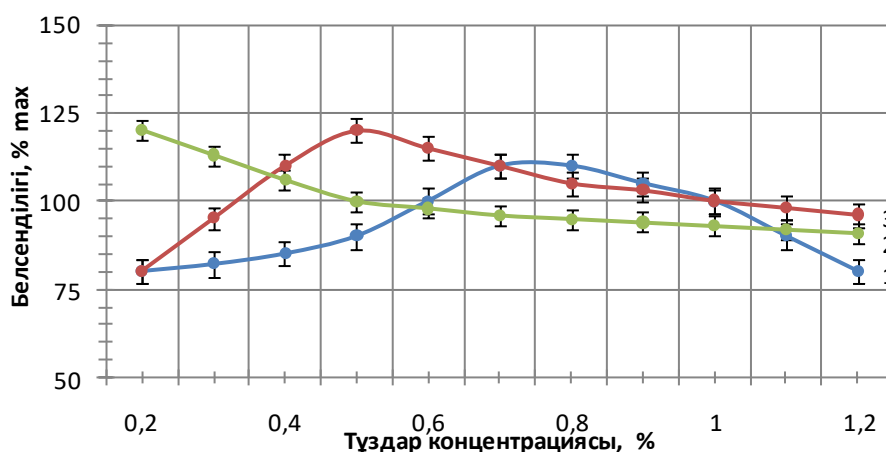
Қысықтар таңбалары: — — — биомасса (г/л); — — — ферментативті белсенділігі (бірлік/мл);
 ● — ЦС; ■ — КС; ▲ — β-ГС; ◆ — ПКС

Сурет 11 – Бірлесіп өсіру жағдайында мицелиялық саңырауқұлақтармен гидролитикалық ферменттердің түзілу динамикасы

Көміртегі көздерінен басқа, ферменттердің түзілуіне қоректік ортаның басқа құраушылары, атап айтқанда азот көздері әсер етуі мүмкін [108]. Сондықтан, біз әртүрлі тұздар концентрациясы бар өсіру үшін қоректік ортаға зерттеулер жүргізіледі (12-сурет).

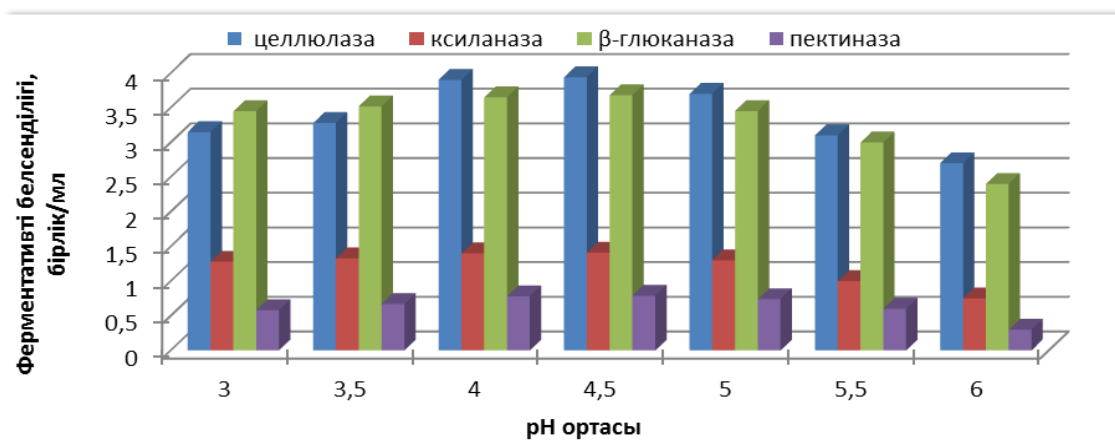
Алынған мәліметтер, тұздардың әртүрлі концентрациялары микромицеттердің биохимиялық белсенділігіне біртекті емес әсер етуін көрсетеді. Гидролаз фосфордың биосинтезіне нақты шамада әсер етуі анықталады, сондықтан, оның тұз түрінде KH_2PO_4 болуы қоректік ортаға қажет. Магний ортаның белсенді және динамикалық құраушысы, оның болмауы ферменттердің белсенділігіне бірден әсер етеді. Ферменттердің ең көп санын қалыптастыру үшін ең оңтайлы концентрация $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -0,7%, KH_2PO_4 -0,5% және MgSO_4 -0,1%.

Ферменттердің биохимиялық белсенділігіне қоректік ортаның құрамы ғана емес, сонымен қатар өсірудің басқа жағдайлары, мысалы, ортаның рН деңгейі әсер етуі мүмкін. Оңтайлы емес мәндерде ол культуралардың өсуін шектейді немесе ферменттің каталитикалық белсенділігіне әсер етеді [101]. Сондықтан, зерттелетін культуралардың өсу физиологиясын және олардың гидролитикалық ферменттер кешенін синтездеуін зерттеу бойынша алынған нәтижелермен олардың өздері шешетін ферменттер кешенінің қасиеттеріне әсері зерттеледі (13-сурет). Целлюлаздың әсерінің рН-оптимумдарының мәндері оларды бірге өсіру кезінде рН=4,0-5,0 интервалында болады. Зерттеулер нәтижесінде микромицеттер ортаның қышқыл мәндерінде жақсы өседі.



Қисықтар таңбалануы: 1 - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 2 - KH_2PO_4 ; 3 - MgSO_4

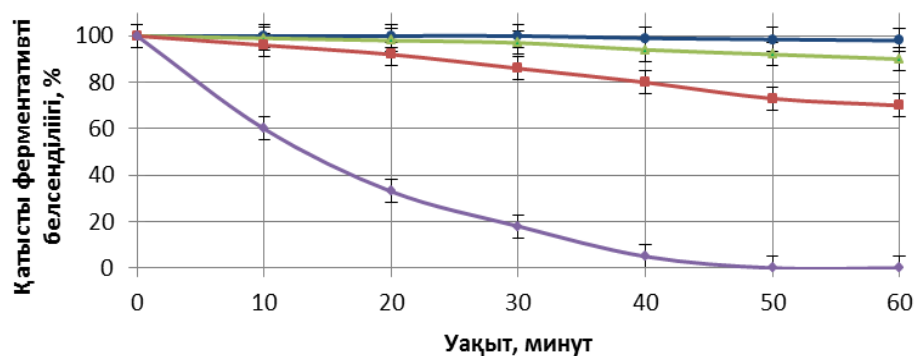
Сурет 12 – Бірлескен өсіру жағдайында ферменттер синтезіне азот көздерінің әсері



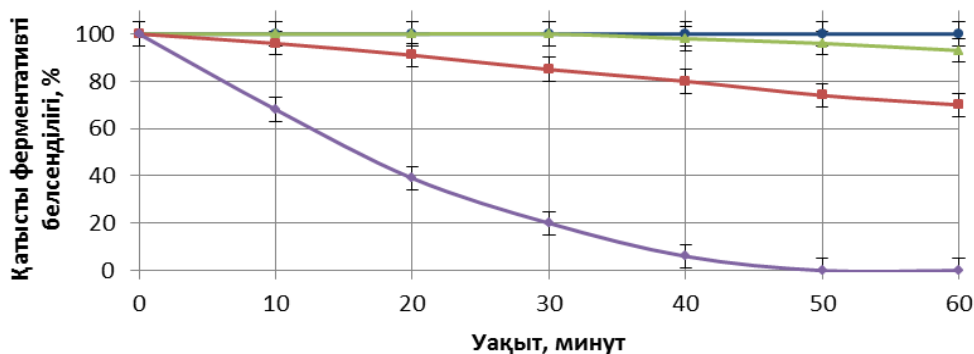
Сурет 13 – рН ортасының бастапқы мәнінің ферменттер синтезіне әсері

Өсіру температурасы жасушалық реакциялардың жылдамдығына, метаболизм сипатына, қоректік заттарды тұтынуға және биомассаның құрамына әсер ететін маңызды фактор болып табылады. Микроағзалардың әрбір түрі ферменттерді белгілі бір температуралық шектерде ғана дамытып, синтездеуге қабілетті. бірақ, культуралардың оңтайлы өсуін қамтамасыз ететін

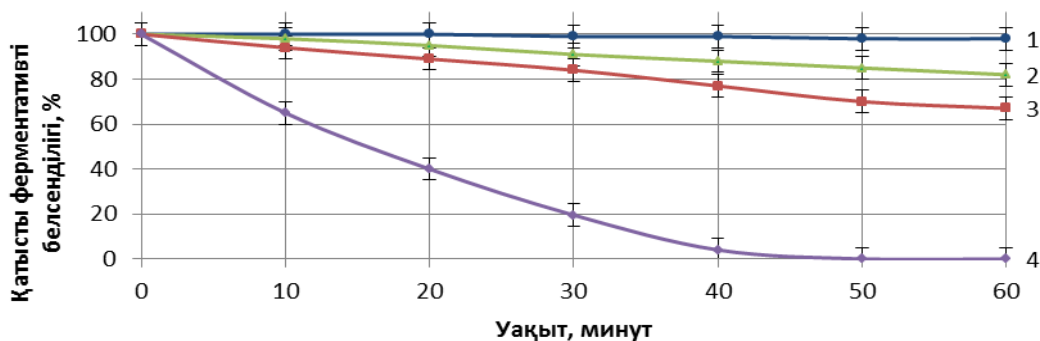
температура ферменттердің ең жоғары биосинтезін жүзеге асыратын температураға сәйкес келмейді [103]. Алынған мәліметтер (14-сурет) 30°C температурада целлюлазаның культуралық сұйықтықтағы белсенділігі 100% сақталғанын көрсетеді. Культуралық сұйықтық температурасының 1 сағат бойы 80 °C кезінде артуы белсенділіктің 70-80% - ға дейін төмендеуіне әсер етеді. 100°C кезінде жарты сағат бойы культуралды сұйықтық температурасының одан әрі артуы целлюлаздың бастапқы белсенділігін 18-20% - ға дейін төмендетеді [144].



Қисықтар таңбалары: температура, °C: ● – 30; ▲ – 50; ■ – 80; ◆ - 100
А) pH – 3,0



Қисықтар таңбалары: температура, °C: 1 ● – 30; ▲ – 50; ■ – 80; ◆ - 100
В) pH – 4,0



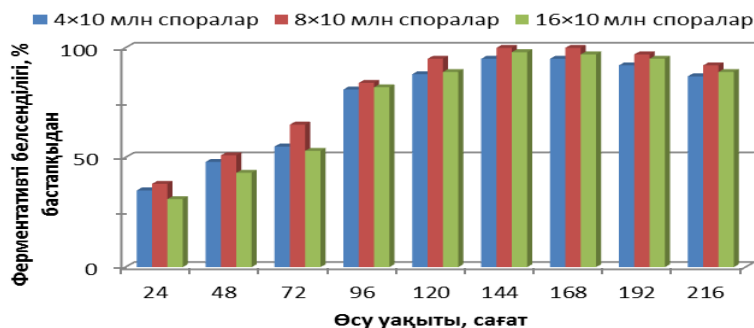
Қисықтар таңбалары: температура, °C: ● – 30; ▲ – 50; ■ – 80; ◆ - 100
С) pH – 5,0

Сурет 14 – Мицелиялық саңырауқұлақтарды бірлесіп өсіру жағдайында целлюлозаның температуралық оптимумы

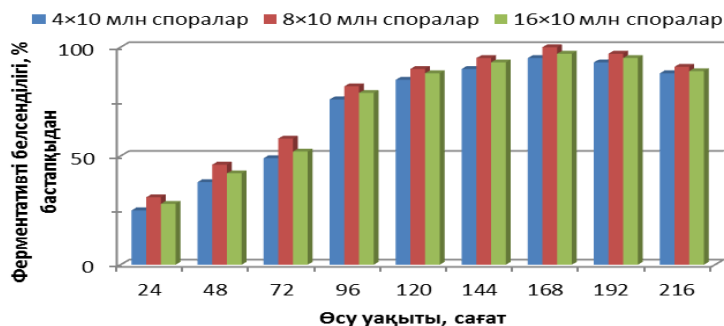
Осылайша, жүргізілген зерттеулерде көрсетілгендей, 30-50°C температурада рН 4,0-5,0 аумағында түптік өсіру кезінде микроағзалар консорциумының тұрақтылығы туралы қорытынды жасалады, бұл оны бидай сабанының полисахаридтерін ыдыратуды пайдаланудың ең тиімді тәсілдерін дайындауға мүмкіндік береді, ферменттерге қатысты шикізаттың реакциялық қабілетін арттыру үшін бидай сабанын алдын ала өндеу термоөндеуді қарастырады.

Егіс материалының саны мен жасы өсіру процесіне және ферменттердің биосинтезіне нақты шамада әсер етуі белгілі. Әртүрлі ферменттердің продуцент-штаммы үшін егіс материалының жасы және оның егу мөлшері тәріздес параметрлер жеке алынған, сондықтан споралардан егу материалын алу үшін су суспензиясына споралар материалдарының әрбір грамына 25 мг алкилбензосульфат қосылады, себебі споралар су жұқпайтын қабілеттілікке ие және сумен шайылмайды, бұл қоректік ортаның біркелкі егілуін қиындатады. Қоректік ортаны егу 4-х-16×10 млн спора титрі бар 24-216 сағаттық егіс материалымен жүргізіледі (15-сурет).

15-суреттегі алынған мәліметтер көрсеткендей, ең жоғары ферментативтік белсенділік 6 тәуліктік *Tr. viride* 121 және 7 тәуліктік *A. awamori* F-RKM 0719 4 мл концентрациясында егіс материалымен қоректік ортаны егу кезінде алынады, онда 8 млн споралар бар. Егу материалының концентрациясы мен жасын жоғарлату ферментативтік белсенділіктің төмендеуіне әсер етеді.



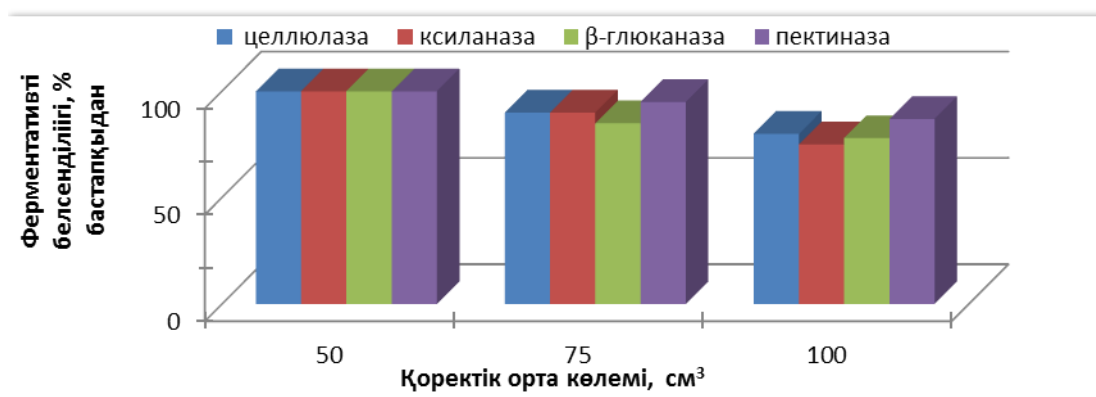
A)



B)

Сурет 15 – Ферменттердің биосинтезіне арналған *Tr. viride* 121 (A) және *A. awamori* F-DM 0719 (B) штаммдарының егу материалын алу

Бұл жұмыста қолданылатын микромицеттер аэробтар, сондықтан аэрирлеу дәрежесінің микроағзалар қауымдастығының колбалардағы гидролазалардың синтезіне қабілеттілігіне әсерін зерттеу үшін қоректік ортаның әртүрлі көлемімен араласады (16-сурет).



Сурет 16 – Микромицеттермен түзілетін ферменттер белсенділігіне аэрация дәрежесінің әсері

16-суретте көрсетілгендей, гидролаз көлемін арттыру қоректік орта белсенділігінің төмендеуіне әсер етеді. Онда орта көлемі 75 см³ өсіру кезінде ферменттер синтезі 50 см³ өсірумен салыстырғанда 5-15% - ға азаяды. Қоректік орта көлемі 100 см³ арқылы өсіру кезінде гидролаздың ферментативтік белсенділігі 50 см³ өсіруден 78-87% құрайды. Осылайша, одан әрі зерттеу үшін гидролаздың толық жиналуын қамтамасыз ететін қоректік ортаның 50 см³ көлемі таңдалады.

Сонымен қатар, келтірілген тәжірибелік зерттеулер негізінде *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 штамдары консорциумын кезеңдік өсірудің оңтайлы шарттары ұсынылады, олар 6-кестеде келтірілген.

Кесте 6 – Қоректік ортаның оңтайлы құрамы және *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 штамдарын бірлесіп өсіру шарттары

Құраушылар мен жағдайлар атаулары	Өлшем бірліктері	мәні
Бидай сабаны	%	1,5
Бидай кебегі	%	1,0
Микрокристалды целлюлоза	%	0,5
(NH ₄) ₂ SO ₄	%	0,3
KH ₂ PO ₄	%	0,3
MgSO ₄	%	0,1
Су	%	қалғаны
қоректік орта рН	---	4,5-5,5
Культивирлеу температурасы	°C	35
Культивирлеу ұзақтығы	сағат	96-120

Бидай сабанының полисахаридтерін деполимерлеу үшін қолданылатын мультиэнзимдік композицияны алу кезінде технологиялық жүйені негіздеу үшін кейбір технологиялық факторларды ескеріп, зертханалық ферменттерде осы шарттарды өңдеу қажет. Нәтижесінде 7-кестеде ұсынылған штаммдар консорциумын өсірудің оңтайлы шарттары анықталады. Онда залалсызданған *Tr. viride* 121 егіс материалының саны 5% залалсызданған қоректік ортаға енгізіледі. *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 штаммы өсуінің экспоненциалды фазасының соңында ферменттеріндегі («Solaris biotechnology», Италия) 5% Esedra және метилцеллюлозаны инокуляциялайды (17-сурет). Аралас культуралар ферменттердің толық белсенділігіне жеткенге дейін 60-70 сағат бойы өсіріледі. Өсіру ортасының температурасы ферменттер және рН қаптамасына 4,0-4,5 шегінде су беру арқылы 28-30°C шегінде орнатылған.



Сурет 17 –Solaris Biotech Solution Genesis зертханалық ферментер

Осылайша, гидролитикалық кешен ферменттерінің биосинтезі *Tr. viride* 121 және *A. awamori* FROM 0719 мицелиялық саңырауқұлақтар мен екі культураға индукцияланатын және ең тиімді индукторлар бидай сабаны, бидай кебегі және метилцеллюлоза болып табылады. Калий дигидрофосфаты және аммоний мен магний сульфаты органикалық емес азоттың оңтайлы көзі болып табылады. Ферменттердің максималды синтезі $pY = 4,0-4,5$ мәндерінде байқалады.

Кесте 7 – Ферменттер алу үшін *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 саңырауқұлақтарды бірге культивирлеудің оптималды жағдайлары

Өсіру шарттары	Мәндері	Ферментативті белсенділігі, бірлік /мл			
		ЦС	КС	β -ГКС	ПКС
	3,5	3,90±0,1	1,38±0,02	3,60±0,0	0,75±0,01
	4	3,94±0,07	1,40±0,01	9	0,78±0,01
	4,5	3,92±0,1	1,39±0,01	3,68±0,0	0,76±0,01
				1	
				3,67±0,0	
				8	
Өсіру ұзақтығы, тәулік	25	3,88±0,08	1,35±0,03	3,57±0,0	0,72±0,02
	30	3,95±0,06	1,41±0,03	8	0,75±0,01
	35	3,93±0,06	1,37±0,01	3,68±0,0	0,73±0,02
				7	
				3,61±0,0	
				5	
Оңтайлы өсу температурасы, 0С	3,5	3,92±0,08	1,38±0,02	3,62±0,0	0,77±0,01
	4,0	3,94±0,05	1,41±0,03	9	0,76±0,02
	4,5	3,95±0,1	1,40±0,02	3,65±0,0	0,75±0,02
	5,0	4,95±0,2	1,65±0,01	9	0,77±0,01
				3,67±0,0	
				7	
				4,02±0,0	
				6	
Қоректік орта рН	0,7	3,93±0,07	1,40±0,01	3,65±0,0	0,74±0,02
	0,8	3,94±0,06	1,41±0,01	5	0,76±0,02
	0,9	3,95±0,08	1,40±0,01	3,68±0,0	0,75±0,02
				6	
				3,67±0,0	
				8	

3.5 Жоғары белсенді мультиэнзимді композицияны алу және тазарту

Культуралдық сұйықтықтан ферменттерді және техникалық ферменттік препараттардың ерітінділерінен бөліп алудың және тазартудың көптеген тәсілдері бар, олардың мәні ферменттердің бастапқы белсенділігін жоғары деңгейде сақтап, белсенді емес ақуыздар мен ақуыздардың негізгі массасын алып тастау үшін органикалық заттар мен минералды тұздардың көп құраушы қоспаларын бөлу болып табылады. Өндірістік ауқымда ферментті препараттарды тазалау әдістерін таңдау олардың өнімділігі мен құнымен шектеледі. Өнеркәсіпте ең көп таралған тазарту және шоғырландыру тәсілдері

ферменттерді органикалық еріткіштермен тұндыру, тазартудың мембраналық әдістері, негізінен ультрафилтрация, бүріккіш және сублимациялық кептіру болып табылады [113].

Бұрын алынған мәліметтер, экономикалық тұрғыдан ферменттердің изопропил спиртімен ең тиімді тұнбаға түсуі қарастырылады, себебі бөлу еріткіштің жеткілікті төмен концентрациясы кезінде жүреді және бөлу процесінде белсенділіктің жоғалуы 20% - дан аспайды [150]. Сондықтан ферментті препараттардың бөлінуі, тазартылуы және шоғырлануы ферменттерді культуральды сұйықтықтың супернатанттан изопропанолмен тұндыру әдісімен, сонымен қатар, микрофилтрация мен ультрафилтрацияны қамтитын мембраналық процестердің көмегімен жүзеге асырылады.

Ферменттерді органикалық еріткіштермен тұндыру процесіне рН үлкен әсер етеді, онда тұндыру, температура, ерітіндіде электролиттер болуы, ерітіндідегі құрғақ заттардың концентрациясы және т.б. жүргізіледі. Бұл осы ақуыздың изоэлектрлік нүктесіне жақын рН аймағында тұндыру шарттарын қатаң сақтау, сонымен қатар, еріткіштің тұнбаға түсумен (4 сағатқа дейін) жанасу ұзақтығын нақты шамада азайту қажет, онда ұзақ байланыс ферменттердің ішінара немесе толық инактивациясына әсер етуі мүмкін. 8-кестеде әртүрлі концентрациялар кезінде изопропанолмен ферменттердің тұну нәтижелері және 9-кестеде рН әртүрлі мәндері кезінде келтірілген.

Кесте 8 – Әртүрлі концентрацияларда изопропанолмен тұндыру әдісімен гидролаздың кешенді препаратын алудың оңтайлы шарттарын таңдау*

Культуральды сұйықтық пен спирт қатынасы	Ферментативті белсенділігі, бірлік /г				Меншікті белсенділігі, бірлік/мг ақуыз
	ЦС	КС	β-ГС	ПКС	
КС					
1:2,5	228±2,8	97±0,1	298±1,8	74±0,09	457±3,7
1:3,0	398±3,4	184±2,1	395±3,5	87±0,09	615±4,2
1:3,5	195±1,9	73±0,09	234±1,6	41±0,05	382±3,4
1:4,0	54±0,09	24±0,4	162±1,1	11±0,03	214±1,4
1:4,5	41±0,1	19±0,2	105±1,0	7±0,02	156±1,2
* Орта рН мәні 6,0					

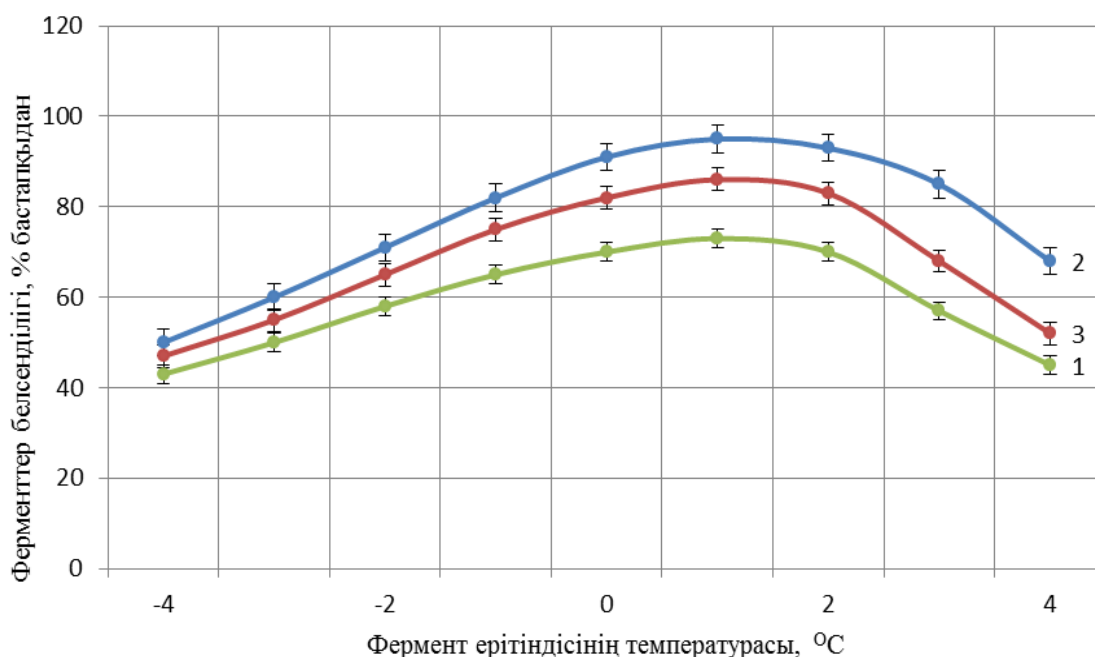
Tr. viride 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 түптік культивирлеуде ферменттерді изопропилді спиртпен тұндыру кезінде анықталады, онда супернатанттың культуральды сұйықтығының изопропанолға қатынасы 1:3 құрайды. Целлюлаз, гемицеллюлаз және пектиназ кешендері бірге тұнбаға түседі.

Кесте 9 – Ортаның рН әртүрлі мәндерінде изопропанолмен тұндыру әдісімен гидролаздың кешенді препаратын алудың оңтайлы шарттарын таңдау*

Ортаның рН мәні	Ферментативті белсенділігі, бірлік /г				Меншікті белсенділігі, бірлік/мг ақуыз
	ЦС	КС	β-ГС	ПКС	
4,0	167±1,5	61±0,8	235±2,2	44±0,5	303±3,5
4,5	185±1,8	84±0,7	251±1,9	53±0,5	344±3,7
5,0	266±2,0	118±0,8	304±2,5	62±0,9	396±3,6
5,5	345±3,2	164±1,1	349±3,3	75±0,7	489±4,0
6,0	398±3,5	185±1,5	394±3,5	87±0,7	615±4,2
6,5	428±3,5	217±2,4	417±3,7	93±0,1	652±4,1
7,0	443±4,0	252±2,2	429±4,0	98±0,9	688±4,0
7,5	287±3,1	159±1,2	384±3,7	81±0,9	405±3,8
8,0	177±2,3	88±0,9	253±2,8	51±0,6	249±2,8
* к.с.: спирт 1:3 қатынасы					

9-кестенің мәліметтерінен гидролитикалық кешеннің ферменттері рН аймағында 5,5-тен 7,0-ге дейін өте белсенді, ал рН мәні 7,5-тен жоғары және 5,0-ден төмен болған кезінде ең аз белсенділікке ие. Бұл рН осы мәніндегі ферменттер инактивациясы және коагуляциялауға қабілетсіздігін көрсетеді. Сондықтан, ферменттерді изопропанолмен тұндыру кезінде ферменттердің изоэлектрлік нүктесіне жақын рН=7,0 аймағында шарттарды қатаң сақтау қажет.

Әдеби мәліметтерді талдау жасау көрсеткендей, ферменттерді изопропилді спиртпен тұндыру кезінде температура ферментативті белсенділікке нақты шамада аз әсер етеді [101, 107, 111, 113]. 18-суретте гидролитикалық кешен ферменттерінің ең оңтайлы тұнуы ферменттік ерітіндінің температурасы 1-2°C және изопропилді спиртте минус 5°C болып табылады. Еріткіштің және ферментті ерітінді температурасының ең жоғары мәндерінде ферменттерді ішінара термиялық инактивациялау басталады, спирт пен ферменттің су ерітіндісін араластыру кезінде жылу бөлінеді және қоспаның температурасы 5-10°C-ке жоғарлайды.



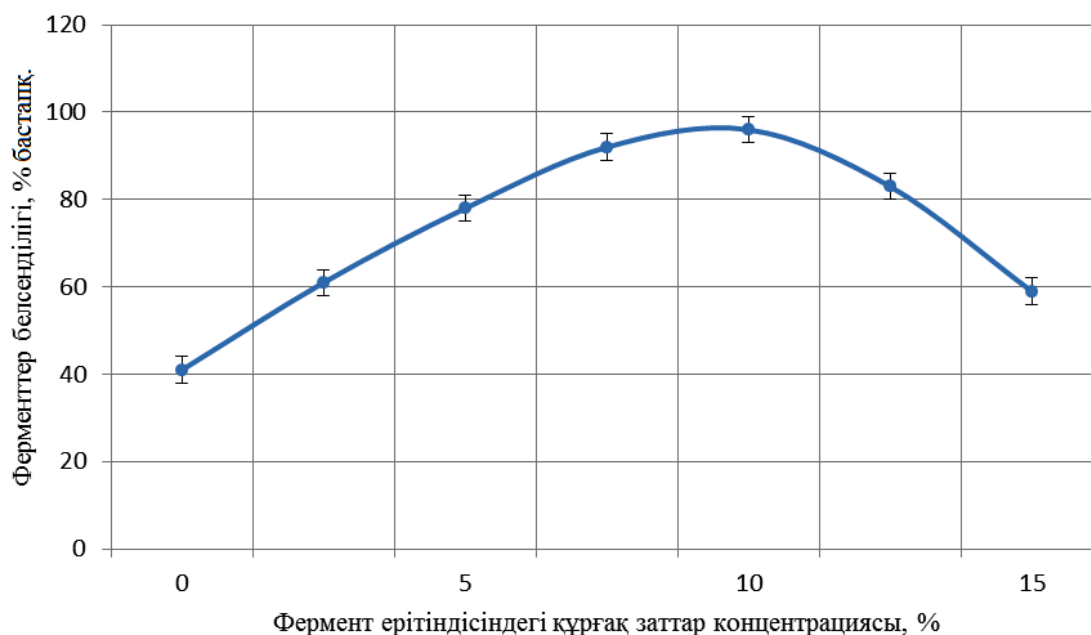
Қысықтар таңбалары: тұндырғыш температурасы, °C: 1- 0; 2 – (-5); 3 – (-10)

Сурет 18 – Түрлі температураларда изопропанолмен тұндыру әдісімен гидролаздың кешенді препаратын алудың оңтайлы шарттарын таңдау

Ферменттердің шығымы культуралдық сұйықтықта құрғақ заттардың концентрациясына байланысты. 19-суретте ферменттік ерітіндіні изопропанолмен тұндыру кезінде ферментті ерітіндідегі құрғақ заттардың концентрациясына ферментті белсенділіктің тәуелділігі көрсетілген.

Алынған мәліметтерден анықталғандай, культуралдық сұйықтықта құрғақ заттардың концентрациясының 10% - дан жоғары болуы, гидролитикалық кешен ферменттері белсенділігінің төмендеуіне әсер етеді. Ферментті ерітіндінің құрғақ заттарының ең оңтайлы концентрациясы 8-10% құрайды.

Осылайша, нәтижесінде изопропил спиртінің оңтайлы концентрациясы таңдалады, бұл супернатанттың культуралдық сұйықтығының изопропанолға арақатынасы $pH = 7,0$ кезінде 1: 3 құрайды. «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) мультиэнзим препаратының шығымы целлюлазды белсенділігі бойынша 443 бір/г, ксиланазды - 252 бір/г, β -глюканазды - 429 бір/г және пектиназды - 98 бірлік/г құрайды.



Сурет 19 – Құрғақ заттардың әртүрлі концентрацияларында изопропанолмен тұндыру әдісімен гидролаздың кешенді препаратын алудың оңтайлы шарттарын таңдау

3.6 Саңырауқұлақтар қауымдастығының гидролитикалық ферменттерінің кешенді препаратын алу және олардың сипаттамасы

Көптеген өнеркәсіптік, сонымен қатар, зертханалық тәжірибелер көрсеткендей, ферменттік препараттарға қойылатын негізгі талап олардың жоғары белсенділігі, толық құраушылар құрамы, одан әрі өндірістік процестердің қажеттілігі бойынша, ақуыздардың құрамы бойынша (гомогендігі), индукторлар, косубстраттар және керісінше, олардың белсенділігі, әсіресе-қарсыластықтар байқалғанда ингибиторлар болуы мүмкін қосарлы ақуыздарды белгілеу бойынша тазалығы болып табылады. Кейде полисахаридтердің гидролизі кезінде түзілетін көмірсулар биологиялық және физиологиялық белсенділікке ие [151].

Сондықтан, жоғарыда аталған әсерлерді анықтау үшін біз ферменттік ақуыздардың фракциялық құрамын және олардың әртүрлі субстратпен қатынасы бойынша белсенділігін анықтау бойынша зерттеулер жүргіздік. Ол үшін биохимияның классикалық әдістерін пайдаланып, жоғары гидролитикалық белсенділігі бар ферменттерді бөліп алу және ішінара тазату жүргізіледі.

Ферменттерді органикалық тұндырғыштармен бөліп алу органикалық тұндырғыштар бар ең жоғары фермент түзілу кезеңінде алынған ҚС саңырауқұлақтарды пайдаланумен жүргізіледі, онда іріктелген тәжірибелік жолмен 96% изопропил спирті алынады. ҚС тұндырғыш қатынасы кезінде ең оңтайлы 1:3, одан әрі фермент тұнбасын ҚС-дан центрифугалау арқылы бөліп, қоспалардан мұқият жуылады, ауадағы құрғақ ацетонды пайдаланып кептірілді

және одан әрі зерттеу нысаны болатын жиынтық препараттың шығымын өлшейді.

Гидролаздың ферменттік композициясын алудың екінші тәсілі КС концентрлеу болып табылады, онда «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) мультиэнзим препаратын алу мақсатында ультрафилтрациямен фермент түзілудің белсенді кезеңінде алу жүргізіледі. Бұл үшін ферментативті белсенді КС поло-талшықты мембраналық сүзгішке ультрафилтрлеу жолымен концентрациялайды (УФ модулі-8-50-ПС «Фазеркрафт» модулі, Ресей), онда нанобөлшектермен сүзгі - тесігі арқылы саңылаудан молекулалық массасы (М. м.) 30 кДа, тұрақты парциалды қысымы 0,1 Мпа / минут кезінде ақуыз өтеді. Бұл әдісті пайдалану ферментті ақуыздарды 8 есе концентрациялауға мүмкіндік береді, ол қабылдау сыйымдылығына қайтарылып, 3°C-ке дейін суытып, басқа тәсілдермен алынған салыстырмалы қасиеттерді зерттеуге жіберіледі.

Сонымен қатар, ферменттердің құрғақ мультиэнзимдік композициясын алу үшін жұмыстың әдістемелік бөлімінде көрсетілген тәсілдерді пайдаланып, үш кезеңде процесті жүргізумен, лиофильді кептіру (LGJ-1A-80 маркалы лиофильді аппараты, Қытай) қолданылады.

Гидролазды бөлу үшін әдісті жүзеге асыру нәтижесінде 10-кестеде көрсетілген зерттелетін целлюлолитикалық, гемицеллюлазды, пектиназды кешендердің әртүрлі шығымдары мен белсенділігі бар гидролитикалық ферменттер кешені алынады.

10-кестенің мәліметтерінде көрсетілгендей, изопропилді спиртпен тұнған кезінде барлық ферменттердің меншікті белсенділігі жоғары 1394 бірлік / мг болады, оны тазарту дәрежесі жалпы алғанда 14,6 есені құрайды. Ультрафилтрлеу тәсілімен целлюлаз бойынша меншікті белсенділігі 1846 бірлік /мг болатын, ал тазалау дәрежесі -19,4 есе, сонымен қатар, лиофильді кептіру арқылы ақуыз фракциясын 1772 бірлік /мг меншікті белсенділігі бар және тазалау дәрежесі-20 ферменттер кешенін алуға мүмкіндік береді.

Ферменттердің компоненттік құрамы 532, 3 бірлік/мг меншікті целлюлаз, 244,3 бірлік /мг ксиланазалық белсенділігі, 424,3 бірлік /мг β-глюканазалық белсенділігі және 95,6 бірлік /мг пектиназалық белсенділігінен тұрады.

Нәтижесінде, бұл жиынтық мультиэнзимді ферменттер кешені *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 саңырауқұлақтарын өсіру арқылы алынған «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) препараты деп аталады.

Бұл ферменттің белсенділігі ксиланаза, в-глюканаза және пектиназа тәріздес басқа карбогидраздардың алдында жоғары болады.

Бұл зерттеулер Өзбекстан Республикасы Ғылым Академиясының Микробиология ҒЗИ «Микробтық ферменттер» зертханасының қызметкерлерімен бірлесіп жүргізіледі.

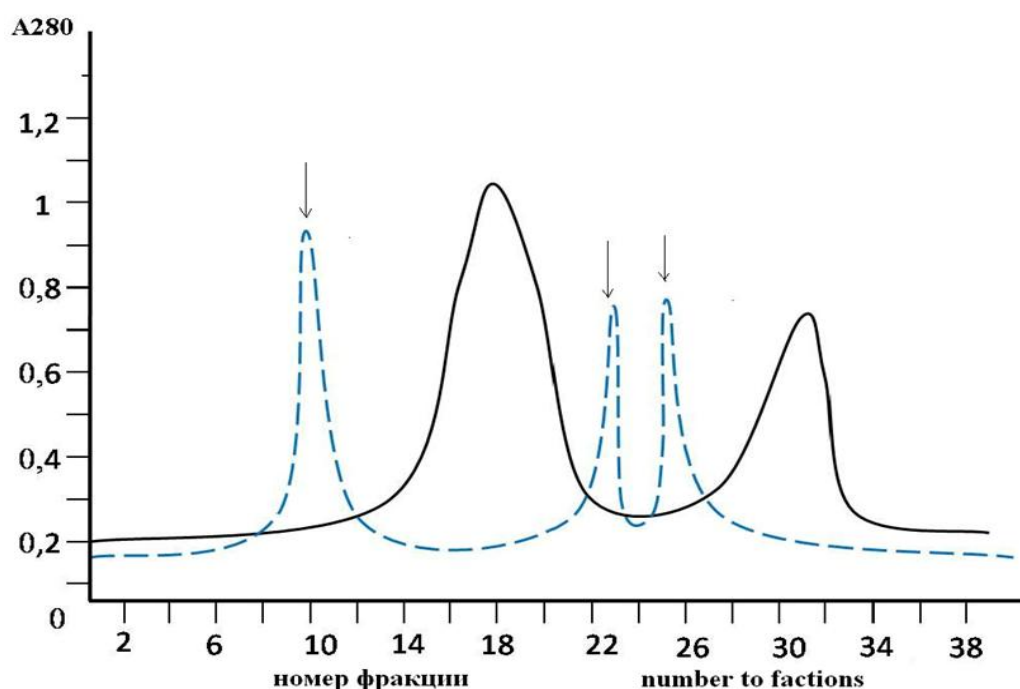
Кесте 10 – Гидролаздың кешенді препаратын алу

Өңдеу кезеңдері	Ферментативті белсенділігі, бірлік/мл, бірлік/г				Меншікті целлюлолитикалық белсенділігі, бірлік/мг ақуыз	Тазарту дәрежесі, реттік
	ЦС	КС	β -ГС	ПКС		
Культуралды сұйықтық, 1000мл	3950±0,06 (2,5 ед)	1,41±0,03	3,68±0,07	0,77±0,01	95±2,5	100
Спиртпен тұндыру (тұнба), 800 мл	498±3,4 (2,0 ед/мл)	184±2,1	395±3,5	87±0,09	1394±4,2	14,6
Ультрафилтрация (концентрленген фермент) (100 мл)	543±4,0 (4,43 395 ед/мл)	252±2,2	429±4,0	98±0,9	1846± 3,6	19,4
Липофилді кептіргіш, 100 мл	556±2,5	297±2,1	479±3,2	102±0,2	2076±3,5	26,0
«Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы)	532,3	244,3	434,3	95,6	1772	20,0

Эндо-1,4- β -глюканазаның (ЕС 3.2.1.4) болуын зерттеумен, целлюлазаның фракциялық құрамын анықтау әртүрлі әдіспен *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 саңырауқұлақтар КС-тан ферменттер бөлумен жүреді. Целлюлазды кешеннің негізгі ферментін анықтау үшін-эндо-1,4- β -глюканазалар G-75 деканатталған сефадекспен (Reanal фирмалары, Венгрия) толтырылған және 0,01 М теңдестірілген натрий ацетатты буфермен, рН 4,75, «Uvicord» (Lkb, Швеция) өздігінен жазғыш қосылған колонкада ақуыздар мен нуклеин қышқылдарының сіңіру спектрін өлшейтін 2, 5х90 см мөлшерлі колонкада хроматографияның гель-сүзгіш тәсілімен өткізеді, онда сәулеленудің ультракүлгін аймағы 260 және 280 нм құрайды. Бөлу бөлме температурасында 10 сағат бойы жүргізіледі, ақуыз элюциясының жылдамдығы 50 мл/сағ, әр фракцияның көлемі 5,0 мл құрайды (20-сурет).

20-суретте көрсетілгендей, ферменттердің қосынды препаратын бөлгенде ең көп екі ақуыз фракциясы және элюция көлемінде бөлінудің тар иығымен 70 - 110 мл, ал екіншісінде 140-170 мл ақуыз жуылады. Эндо-1,4- β -глюканазаның целлюлазды кешенінің негізгі ферментінің белсенділігі 40-60 мл (мажорлық түрі) элюция көлемінде және минорлы екі шың, 110-120 мл және 125 пен 135 мл көлемде пайда болады. Бірінші мажорлық шыңы жоғары белсенділікке ие болады. Ақуыз элюциясының жалпы көлемі 550 мл. Жиналған фракциялардың

ферментативтік белсенділігі 97,4 бірлік/мг ақуыз, 70,52 және 73,12 бірлік/мг ақуыз құрайды.



Сурет 20 – *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 саңырауқұлақтар КС хромосомадан тыс ақуыздарды гель-сүзу және тұзсыздандыру Фракция көлемі 5 мл. көрсеткіштермен көрсетілген КМЦ белсенді фракциялар

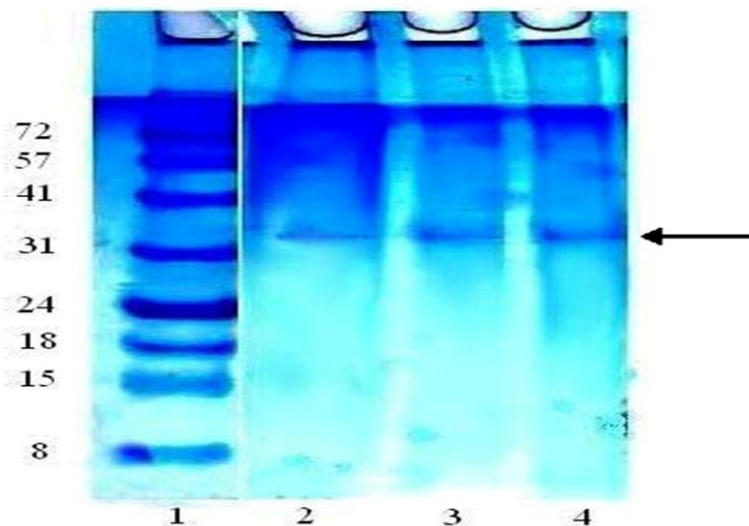
Жоғарыда көрсетілген фракциялардағы бөлінген үш ферментті ақуыздар бастапқы үлгіге қарағанда алынған, осыған сәйкес 18,1, 25,1, 24,2 есе тазалау дәрежесі болады. Ферменттердің белсенділігіне ие фракциялар бірге жиналып, роторлы буландырғышқа шоғырланады және 7,5% полиакриламидті геледе электрофоретикалық талдауға жіберіледі.

Анықталғандай, ЭФ (электрофореграммасы) бөлу және тазалау тәсілдеріне байланысты аталған ферменттің қозғалғыштығы бірдей, онда эндо-1,4-β-глюканазалық белсенділігі осы ЭМС-1, ЭМС-2 және ЭМС-3 ферменттерінің изоформасы ретінде белгіленеді. Ақуыз өлшегішін пайдалану изоферменттердің молекулалық массалары 35-36 кД шегінде екенін көрсетеді (21-сурет).

Әдебиеттерде талдау көрсеткендей, саңырауқұлақ ЭГЗ молекулалық массалары 11-ден 100 кД шегінде екенін көрсетеді. Осыған қарамастан, кездесетін эндоглюканаза туралы ең жиі 30-55 кДа молекулалық массаға ие. Бактериялық ЭМС-дың саңырауқұлақтарға қарағанда үлкен массасы бар, 65 кД жоғары. Ескеретін нәрсе, целлюлазды кешендер құрамындағы ЭГЗ Мм-ден ерекшеленетін көптеген молекулалық формалар бар, олардың ең көбі гликопротеидтер, изоэлектрлік нүкте, сонымен қатар, белсенділігі және термотұрақтылығы болып табылады.

Целлюлазды кешен құрамында эндоглюканаздың әсері өте маңызды болып табылады, себебі бұл фермент полисахаридті субстраттарды сығып, полимеризациялау (ПД) деңгейінің бірден төмендеуіне әсер етеді, осылайша

тұтқырлықтың азаюын, целлюлоза мен оның туындыларын еритін бөлігін көрсетеді. Бірінші шабуылдаушы субстрат – бұл фермент, субстраттардың сирек кездесетін ұштарымен сынықтар түзеді, соның салдарынан төмен молекулалы олигосахаридтер, ди - және трисахаридтер, кейде тіпті глюкоза түзіледі [18].



Сурет 21 – Белсенді фракциялардың КМЦ электрофореграммасы
1 – маркер; 2, 3, 4 – фермент эндо-1,4- β -глюканаза 1, 2, 3

Осылайша, «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) препаратын С-75 сефадексте хроматографиялық бөлу нәтижесінде бөліністе *Tr.viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 бірлескен өсірумен алынған целлюлазаның үш изоферментінің түзілуі көрсетіледі.

Ферменттік препараттарды алу биотехнологиясында және оларды пайдалануда ферменттік ақуыздар құрамындағы ферменттердің қасиеттері маңызды болып келеді. Сонымен қатар, мультиэнзимдік композициялардың маңызды сипаттамалары олардың субстраттық ерекшелігі, құрамында субстраттар бар полисахарид, ферменттердің тектік жиынтығы және олардың құрамдас құрамы, өсімдік шикізатының әртүрлі түрлерінің гидролиз процестеріндегі гидролиздеу қабілеті (белсенділігі) болып табылады.

Сондықтан, әрі қарай *Trichoderma* және *M.thermophila* тегіне қатысты микромицеттерді пайдаланып, түрлі компаниялармен жасалатын ақылы өнеркәсіптік ферменттік препараттардың іс-тәжірибеде кеңінен қолданылуымен салыстырғанда біз алған «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) салыстырмалы белсенділігіне зерттеулер жүргізіледі.

Микрокристалды целлюлоза (МКЦ), карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) , ксилан гидролизі бойынша ферменттік препараттардың меншікті белсенділіктерін салыстыру, сонымен қатар, пектинмен *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 микромицеттері негізіндегі целлюлоза «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) мультиэнзимді композициясын көрсетеді, меншікті белсенділіктің мәні бойынша қалған ақылы препараттардан жоғары болады (11-кесте).

Кесте 11 – *Целлозим Г20х* және ақылы ферменттік препараттардың салыстырмалы сипаттамасы

Үлгілер	Ферменттердің меншікті белсенділігі, бірлігі/мг ақуызға			
	ЦС	КС	β-ГС	ПКС
«Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы)	688±4,0 (100%)	324±2,0 (100 %)	632±3,2 (100 %)	113±1,7
Cellic CTec	386±2,8 (56,1 %)	201±2,5 (62,0 %)	445±3,5 (70,4 %)	Құрамында жоқ
Accellerase 1000	537±3,5 (78,0 %)	308±2,2 (95 %)	605±4,0 (95,7 %)	Құрамында жоқ
Accellerase DUET	510±4,0 (74,1 %)	287±3,5 (88,5 %)	568±3,4 (89,8 %)	Құрамында жоқ
* Ферменттік препараттардың белсенділігі 50°C реакциялық ортада анықталады				

Мысалы, «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) *Cellic CTec* коммерциялық энзиміне қарағанда 46%-ға, *Accellerase 1000*-ға қарағанда 22% -ға, целлюлоза гидролизінің қатынасы бойынша *Accellerase DUET*-ке қарағанда 26% -ға, ксиланазаға қатысты препараттарына сәйкес 38% -ға, 5,0% -ға, 11,5% -ға, сыналатын препараттарға сәйкес β-Глюкозидазаға қатысты 29,6% -ға, 4,3% -ға, 11,2% -ға белсенді болады. Одан басқа, біз алған «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) ферменттік кешені сыналатын препараттарға қарағанда фермент-пектиназадан тұрады, бұл гетерогенді құрамы бар субстраттардың гидролизі кезінде оларды өнеркәсіпте пайдалану кезінде маңызды емес.

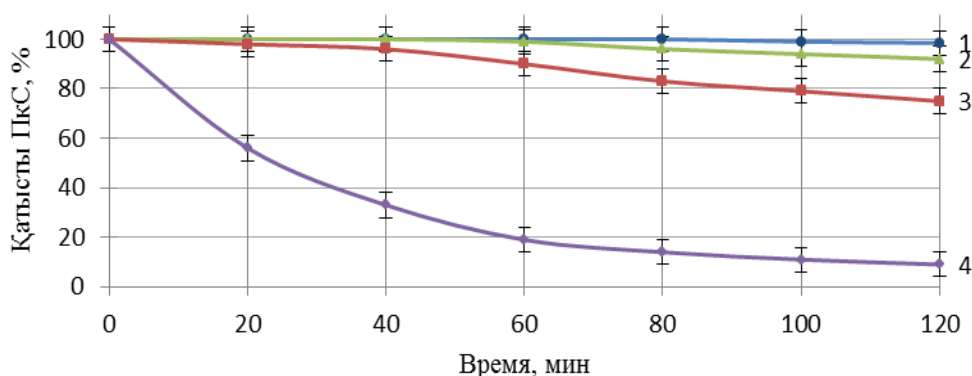
Жасушадан тыс ферменттер өте лабильді ақуыздардан тұрады және олардың белсенділігі көбінесе оларды қолдану шарттарына (өңдеу температурасы, реакциялық қоспаның рН, реакциялық қоспаның концентрациясы, қолданылатын субстраттардың түріне, сыйымдылықтардың көлеміне, аэрацияға, көбіктеуге және т.б.) байланысты, ал ең бастысы сақтау уақытына байланысты болып келеді. Нәтижесінде, ферментті препараттарды пайдалану тиімділігі оларды қолдану тәсілдеріне және оларды пайдаланатын өндірістік қажеттіліктерге байланысты.

«Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) энзимдік кешенінің рН - және термотұрақтылығын зерттеуді ферменттердің белсенділігіне әсер ететін тәжірибе жүргізу жүйесін реттеумен, зертханалық жағдайларда жүреді.

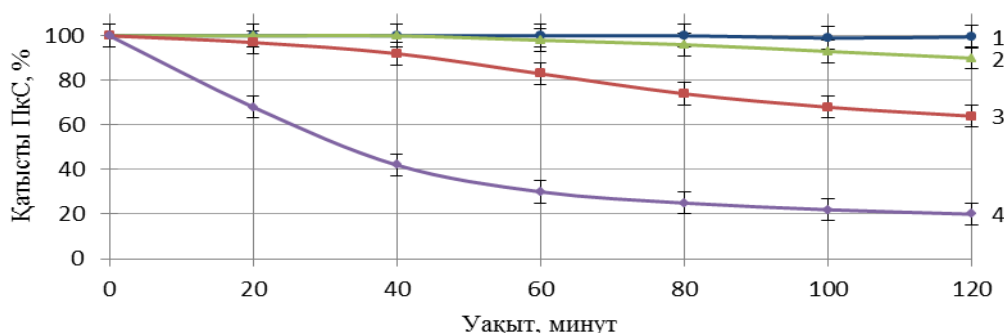
Температураның өзгеруі түрлі технологиялық кезеңдерде биохимиялық процестерді реттеудің маңызды факторы болып табылады. Өртүрлі технологиялық сызбалар температуралардың кең ауқымын пайдалануды

қарастырады. Онда лигниноцеллюлозды шикізатты деполимерлеу үшін алдын ала термоөңдеу 140-195°C дейінгі температурада жүргізіледі.

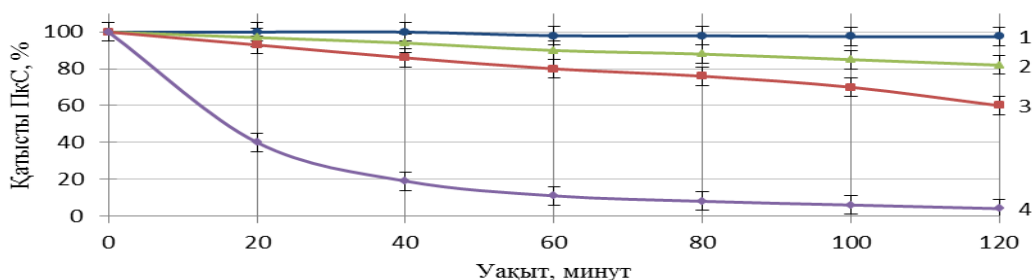
«Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) ферментті препаратының рН - және термотұрақтылығын зерттеу су термостаттарында 20-120 мин бойы рН 3,0-5,0 интервалында және 30-60°C температурасында және салқындатылғаннан кейін бізбен жүргізілген зерттеулер көрсеткендей, көрсетілген параметрлер целлюлаздық белсенділігі не нақты шамада әсер етеді (22-сурет, А, В, С).



Қисықтар таңбалары: температура, °C: ● – 30; ▲ – 40; ■ – 50; ◆ - 60
А) рН – 3,0



Қисықтар таңбалары: температура, °C: ● – 30; ▲ – 40; ■ – 50; ◆ - 60
В) рН – 4,0



Қисықтар таңбалары: температура, °C: ● – 30; ▲ – 40; ■ – 50; ◆ - 60
С) рН – 5,0

Сурет 22 – «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) ферменттік препаратының тұрақтылығына инкубация температурасы мен уақытының әсері

22-суретте көрсетілгендей, алынған мәліметтер 30°C температурада «Целлозим Г20Х» (микроорганизмдер консорциумы) ферменттік препаратының белсенділігі 100% - ға сақталатынын көрсетеді. Температураның одан әрі артуы белсенділіктің төмендеуіне әсер етеді. рН 3,0 және 40°C температурада целлюлаздық белсенділік нақты шамада төмендейді, 50°C 60 минут кезінде 10% және 120 минутта 25% төмендейді. 60°C кезінде 30 минуттан кейін белсенділігі 48% төмендейді. рН 4,0 мәні және реакциялық ортаның температурасы 50°C 60 минут кезінде белсенділік 17% – ға және 120 минут ішінде 36% - ға төмендейді. 60 °C кезінде белсенділік 60 минуттан кейін 70% төмендейді. рН 5,0 және 50°C температурада 60 минут бойы 20% - ға және 120 минут бойы 40% - ға төмендейді.

Осылайша, алынған мәліметтер көрсеткендей, 30-50°C температурада рН 4,0-5,0 диапазонында «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) ферментті препаратының тұрақтылығы туралы қорытынды жасалады, бұл лигниноцеллюлозды шикізатты деполимерлеуде оны пайдаланудың ең тиімді тәсілдерін жасауға мүмкіндік береді, моносахаридтерді алудың әртүрлі технологиялары температуралардың кең ауқымын қарастырады.

Бұл көрсеткіш маңызды болып табылады, моносахаридтерді алудың әртүрлі технологиялары бастапқы шикізатты өңдеу температураларының кең ауқымын қарастырады.

3.7 Өндіріс үшін Целлозим Г20х мультиэнзимді композициясы дайындаудың технологиялық сызбасын жасау

Микробтық синтез өнімдерін алудың технологиялық процесі бастапқы шикізатты дайын өнімге өңдеуді қамтамасыз ететін кезеңдердің жиынтығы болып табылады. Микробтық синтездің әрбір өнімі үшін жан-жақты зерттелген және жасалған, әр өнім түрі үшін арнайы-технология бар.

Тиісті өнімді алу технологиясын жасау бірнеше кезеңде жүзеге асырылады: егістік материалын алу, қоректік ортаны дайындау және оны залалсыздау, ауаны залалсыздау, өндірістік қоректік ортаны егу, фермент продуценті-микроағзаларын өсіру, биомассаны культуралдық сұйықтықтан бөлу, саңырауқұлақ культураларынан ферменттерді экстракциялау, культуралдық сұйықтықты тұндыру, ферменттерді стандарттау, стандартталған ферментті ерітінділерді кептіру. Микробиологиялық жолмен тиісті өнімді алу технологиясын жасау бірнеше кезеңде жүзеге асырылады: егу материалын дайындау, қоректік ортаның оңтайлы құрамын дайындау және оны залалсыздау, зарарсыздандырылған ауаны беру, өндірістік қоректік ортаны себу, ферменттің микроағза-продуцентін өсіру, биомассаны культуралдық сұйықтықтан (КС) бөлу, саңырауқұлақтардың культуралдық ортасынан ферменттерді бөлу, культуралдық сұйықтықты шоғырландыру немесе ферменттерді бөлудің ғылыми жасалған әдістері, негізгі көрсеткіштері мен қасиеттерін зерттеу, ферменттердің құрғақ түрлерін алу қажеттілігі бойынша тұрақтандыру.

Жоғарыда келтірілген жеке зерттеулер нәтижелері [152], сонымен қатар, микробиологиялық синтезбен ферменттік препараттарды алудың қолданылатын технологияларын талдау негізінде [101, 111, 121, 140], мультиэнзимдік композицияны алу технологиясы негізделген, кезеңдері төменде келтірілген «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) мультиэнзим композициясын дайындаудың жартылай өнеркәсіптік регламентін жасау жүргізіледі.

Саңырауқұлақтардың егістік материалын дайындау.

Продуценттерді өсіру жүйелерін жасау кезінде егіс материалының саны мен жасы тәріздес маңызды фактордан пайда болатын ферменттік кешендердің белсенділігі мен құрамына әсерін ескеру қажет [150].

Егіс материалын алу үшін 120-144 сағаттар аралығында 30°C кезінде сусла-агармен қисық тақтайда залалсызданған жағдайда пробиркаларда өсірілген, 3 тәуліктік *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 саңырауқұлақтар культуралары қолданылады.

Өсірілген *Tr. viride* 121 культурасына дистилденген су құяды және конидий суспензия түрінде сыйымдылығы 250 мл (23-сурет) Эрленмейердің колбасына енгізеді, онда мынадай құрамдағы 100 мл сұйық залалсызданған ҚО бар: қызылша сығындысы – 1,5%, мия өскінділері – 1,0%, метилцеллюлоза – 0,5%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,7%, KH_2PO_4 – 0,5%, MgSO_4 – 0,1%, су – 95,7%. Егілген ортаны термостатқа орналастырады, онда 30°C-та 2 тәулік бойы ұстайды, содан кейін колбаларды термостаттан алып, тазартылған сумен және *A. awamori* F-RKM 0719 штаммының конидийінің суспензиясы түрінде құяды. Егілген ортаны термостатқа орналастырады, онда өсу жылдамдығын арттыру үшін 4-5 тәулікке дейін және 220 айнал/мин болғанда тербелткішке қояды.

Өсірілген сұйық культура өндірістік жағдайларда және сыйымдылықтарда культураларды өсіру кезінде егіс материалы болып табылады.

Егіс культурасының көлемі ферменттерде қоректік орта көлеміне 3,0-5,0% концентрацияларда 1000 литр көлемімен енгізіледі, құрамында залалсызданған өсіру ортасы бар, жоғарыда көрсетілген қоректік орта бойынша дайындалған.

Tr. viride 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 екі саңырауқұлақтар культураларын қолданумен ферментация өсіру уақыты 72 сағат, өсіру температурасы 50°C, редуктордың 240 айналым/минут айналу жылдамдығы, қысым 0,75 атм. (0,02-0,03 МПа артық қысым орнатылады) кезінде, 0,7 л/кв.м залалсызданған ауа беру арқылы жүреді.

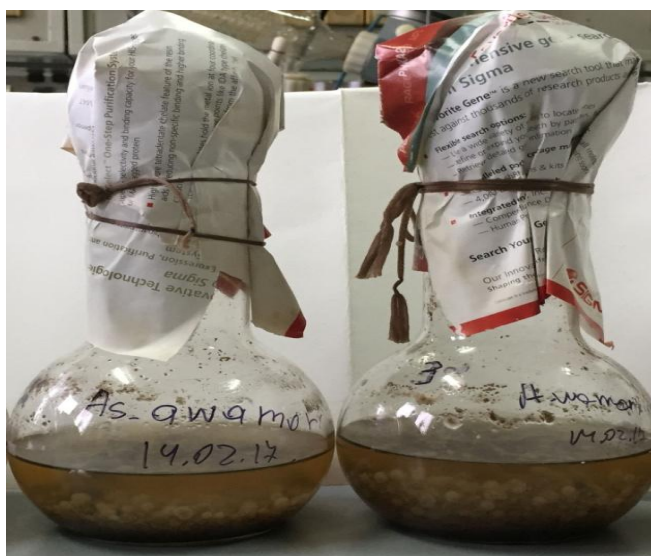
Микробиологиялық және биотехнологиялық бақылауға рН ауытқуы, ақуыздардың, биомассаның түзілуі, ферменттелетін ортада ферменттердің белсенділігі өзгеруі жүреді.

Ферментті препараттар өндірісінде және жалпы микробиологиялық өнеркәсіпте қоректік ортаның, инокуляттың және жұмысшы орнының залалсызданған болуы маңызды екенін атап өткен жөн. Ферменттерге түсетін ауа залалсызданған болуы керек немесе бөгде микрофлораның аздаған мөлшері қоректік ортаға жұғуына және өнімнің сапасы мен санының күрт төмендеуіне

әсер етуі мүмкін. Сондықтан, шыны сүзгілер, скруббер, бас сүзгі, жеке сүзгі және т. б. тәріздес тиімді, кешенді ауа тазарту әдістерін жиі қолданады [107].



Сурет 23 – «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) кешенді ферменттік препаратын алудың технологиялық сызбасы



Сурет 24 – *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 штамдарын бірге түптік өсіру

Қоректік ортаны дайындау:

Продуценттерді өсіруге арналған қоректік ортаны залалсызданбаған шикізаттың негізгі өндіріске түсуін болдырмау мақсатында басқа өндірістік ұй-жайлардан оқшауланған қоректік ортаны дайындау цехында алады. Ортаның ұсақталған құраушылары араластырғыштары бар арнайы сыйымдылықтарға

енгізіледі, онда оларды сумен немесе байытушылардың су ерітіндісімен (тұздар, қышқылдар, өсіретін заттар) араластырады. Аппаратта қоректік орта 60 минут бойы 125°C дейін өткір бұмен залалсызданады. Осылайша, дайындалған ортаны 30°C дейін салқындатады және егістік культураларды егеді.

Өндірістік жағдайдағы қоректік орта құрамының техникалық-экономикалық негіздемесі технологияны жасауда өте маңызды болып табылады.

***Tr. viride 121 және A. awamori F-RKM 0719* микромицеттерін бірге түптік культивирлеу**

Tr. awamori F-RKM 0719 культурасын түптік өсіру процесінде ферменттер кешенін синтездейді, өндірістегі сипаттамалары 12 – кестеде Solaris Biotech Solution SB40 M series (Италия) заманауи өнеркәсіптік ферменттерін пайдалану ұсынылады, ал сыртқы түрі-16-суретте келтірілген. Бұл үшін ферменттер сумен мұқият жуылады және 0,07 МПа қысым кезінде герметикалығын тексереді. Содан кейін 0,12-0,14 МПа артық қысымда 1,5-2 сағат бойы өткір бұмен залалсыздайды. Залалсызданғаннан кейін жоғарыда келтірілген құрамның залалсызданған ортасын жүктейді. Ортаны 40-50 кПа артық қысымда араластырғыштың төменгі қалақтарының деңгейіне дейін құяды, содан кейін араластырғышты қосады. Экзоферменттер кешенінің белсенді биосинтезі үшін өсіру оңтайлы жағдайларда жүргізіледі, олар 5 және 13-кестеде көрсетілген. *Tr. viride 121* және *A. awamori F-RKM 0719* штамдарын өсіру ұзақтығы-96 сағат. Өсірудің 48 сағатына дейінгі орта температурасын ферменттер жейдесіне су беру арқылы 30-32 °C шегінде, ал 49-шы сағатта және соңына дейін – 24-26°C орнатады. Берілетін ауаның температурасы өсірудің 48 сағатына дейін 30°C-тан жоғары емес, ал 49 сағаттан кейін 25°C-тан жоғары емес болады. Қоректік ортаның рН 5,0 құрайды. Қоректік ортаны 40 минут бойы егер алдында берілетін зарарсыздандырылған ауаның саны сағатына 60 м³/м³, культура өсіру процесінде сағатына 12 сағат бойы - 6 м³/м³, содан кейін 13-36 сағат бойы-сағатына 12 м³/м³ және 37 сағат бойы өсіру және соңына дейін-сағатына 24 м³/м³. Сынамаларда әрбір 12 сағат сайын ферментативтік белсенділік, рН, культураның жағдайы және микроскопиялау кезінде бөгде микрофлораның болмауы анықталады.

Өсіру аяқталғаннан кейін культура сүзу бөлімшесіне беріледі. Онда Бюхнер колбасымен, центрифугалау немесе өндіріс қажеттілігіне байланысты мембраналық сүзгіштер арқылы КС өткізуге Бюнзен колбасын қолдануға болады.

Biotech Solution SB40 M series (Италия) пайдалану ұсынылады, оның сипаттамалары 12-кестеде, ал сыртқы түрі – 16 суретте келтірілген.

Гидролаз кешенді препаратын бөліп алу және тазарту, *Целлозим Г20х* мультиэнзимді композициясын алу

Кесте 12 – Solaris Biotech Solution SB40 M series ферменттердің жұмысшы сипаттамалары

Параметрлер	Шамасы немесе сипаттамасы
Жалпы көлемі/ жұмыс көлемі	150 л/110 л
Материал	316L маркалы тот баспайтын болат (өніммен жанасатын бөлшектер үшін) 304L маркалы тот баспайтын болат (өніммен жанаспайтын бөлшектер үшін)
Есептік қысым	3,0 кг/см ³ (сыйымдылық); 4,0 кг/см ³ (көйлек)
Есептік температура	143°C (сыйымдылық); 151°C (көйлек)
Беттерді өңдеу	Ішкі жылтырату 0,8 µm Сыртқы жылтырату 1,2 µm
Араластыру механизмі	Қос механикалық тығыздалған жоғарғы жетек. Бір білікке қосылған айнымалы ток қозғалтқышы 0,75 кВт. Қозғалтқышқа арналған тұғырық Жылдамдығы 40-400 айна/мин. (Инверторды басқару) Білік – Ф25. Реттелетін үш деңгейлі 6-қалақты Раштон араластырғышы.
Оңтайлы жағдайларды қолдау жүйелері	Стерильдеу және өсіру үшін температуралық контур, аэрация, жіберу / қосу, өлшеу және бақылау (жылдамдықты бақылау. Температураны бақылау. рН бақылау. рО ₂ бақылау. Көбікті бақылау. Нақты уақыт режиміндегі тотығу-қалпына келтіру әлеуетін өлшеу жүйесі. Нақты уақыт жүйесіндегі шығатын газдардағы О ₂ және СО ₂ құрамын өлшеу жүйесі).
Электрмен қоректендіру	3 фазалы электрқоректендіргіш 3х400V, 50-60 Гц
Технологиялық параметрлерді бақылау жүйесі	Электр құраушылары, сенсорлық монитор, процесті басқаруға арналған Siemens PLM өнеркәсіптік компьютері, соның ішінде процесті басқаруға арналған арнайы бағдарламалық қамтамасыз ету.

Кесте 13 – Өндірістік жағдайларда *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 штамдарды бірге өсіру процесінің техникалық сипаттамалары

Өсіру параметрлері	Культивирлеу
Жұмыс көлемі, л	110 -140
Жабдық жұмысының күнтізбелік қоры, сағат	8760:24 = 365 күндер
Жабдықтың жұмыс уақыты, сағат	7560:24 = 315 күндер
Цикл ұзақтығы, сағат	96:24 = 4 күндер
Жыл ішіндегі циклдар саны	87 (365:87) =4,19 раз
Егіс материалының саны, литр	11-14
Бір жыл ішінде КС саны литр	9405:365 = 25,76 л күніне
	365:4,2 апта = 86,9 апта

Tr. viride 121 және *A. awamori* F-RKM 0719 штамдарын өсіру үшін өнеркәсіптік жағдайларда қазіргі заманғы өнеркәсіптік ферментер Solaris «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) мультиэнзим композициясын алу үшін культуральды сұйықтықты 0°C температурада 3 сағат

бойы 1:3 изопропанолға супернатанттың культуралды сұйықтығының қатынасында пропил спирттерін тұндырады. рН мәні 8-10% ферментті ерітіндінің құрғақ заттарының оңтайлы концентрациясымен 7,0 белгілейді.

Концентрацияланған мультиэнзим препаратын алу үшін ерітіндіні УК жартылай талшықты модулінде 100 мл дейін ультрафилтрация көмегімен шоғырландырады, оның -8-50-0,1 МПа тұрақтандырылған қысым кезінде 100 кДа өткізу шегі бар ПС ("Фазеркрафт", Ресей). Алынған концентратты қабылдау сыйымдылығына қайтарады және 3⁰С-ке дейін салқындатады.

Құрғақ мультиэнзим препаратын LGJ-1A-80 маркалы лиофильді кептіргіште тазартылған ерітіндіні лиофилизациялау арқылы үш кезеңде алады: ерітіндіні-40⁰С дейін мұздату, суды айдау және үлгіні кептіру.

Препаратты дайындаудың зертханалық шарттары алдыңғы тарауларда мұқият жазылған, оларға сәйкес өнеркәсіптік жағдайларда бөліну кезеңдері өткізіледі.

3.8 Бидай сабанының полисахаридтерін кешенді қайта өңдеуді жасау

Жаңартылатын шикізат көздерін қайталама пайдалануға байланысты бағыттар соңғы онжылдықта белсенді дамуда және соңғы 10 жылда көп көлемге ие болады. Ауыл шаруашылығы өндірісінің қалдықтары осы тұрғыдан келешекте қолданылады, олар жыл сайын жаңартылып отыратын көп тоннажды болғандықтан, химиялық құрамға қатысты жоғары құндылығы бар.

Онда рентабельді, қор және жинақ технологияларының энергиясы ауыл шаруашылығының құрамында целлюлоза бар қалдықтарын биоконверсиялаудың тиімді тәсілдерін дамыту мақсатында әлем ғалымдарының зерттеулерінің қозғаушы күші болып табылады. Бұл субстраттардың метаболизмі мен гидролизінің қиындығы олардың қаттылығы, ерімеуі, жоғары молекулалық массасы және т.б. негізделеді. Сонымен қатар, ферментативті гидролизбен бірге шикізатты алдын ала өңдеудің тиімді тәсілдерін қажет етеді. Өсімдік биомассасын алдын ала өңдеу биомассаның негізгі құраушыларының гидролиздену жолдары бойынша белсендірудің жоғары деңгейін, жанама өнімдердің аз санының түзілуін және химиялық пен биотехнологиялық қайта өңдеудің кейінгі кезеңдері кезінде реагенттердің төмен шығымын үйлестіруі керек. Сондықтан, өсімдіктер полисахаридтерін, әсіресе бидай сабандарын экологиялық қауіпсіз кешенді қайта өңдеуді жасау биотехнологияның өзекті бағыты болып табылады. Шикізаттың осы түрін биоконверсиялау үшін мақсатты күтілетін өнімнің сапасы мен мөлшерін айқындайтын оның бастапқы химиялық құрамын анықтау қажет.

Бидай сабанының химиялық құрамы мен физикалық қасиеттерін анықтау.

Осы жұмысты орындау үшін құрамында целлюлозасы бар шикізаттың келешегі бар көздері целлюлозаның құрамы 30-40% - дан асатын бидай сабаны алынады, сонымен қатар, олардың тез табылуы, жыл сайынғы жаңаруы, құнды химиялық құрамымен (14-кесте) байланысты.

Дәнді өсімдіктерді өңдегеннен кейін қалдықтардың екі түрі – сабан және кебек алады. Құрамында целлюлоза бар шикізат ретінде дәнді өсімдіктердің қалдықтарын, атап айтқанда қанттар мен басқа биологиялық құнды өнімдерді алуда бидай сабанын қолдану тамақ өнімдерінің, олигосахаридтердің, ксилоздың және микробтық синтездің басқа бағалы метаболиттерінің жетіспеушілігі мәселесін шеше алады.

Біз Түркістан облысы бидайының ылғалдылығын анықтау мақсатында Қазығұрт ауданы «Рабат» кентінде өсірілген «Стекловидный -24» сорттарына жүргізіледі. Кептіру әдістері ең сенімді болып табылады. Олардың принципі заттардың белгілі бір бөлігін тұрақты массаға дейін кептіреді және бастапқы массасы мен құрғақ қалдық массасы арасындағы айырмашылық бойынша зерттелетін өнімде ылғалдың мөлшерін табады. Астық пен жартылай өнімдердің ылғалдылығын анықтау үшін кептірудің мынадай әдістері қолданылады: 105°C температурада кептіргіш шкафта тұрақты массаға дейін кептіру әдісі; инфрақызыл сәулелермен кептіру әдісі: 130°C температурада кептірудің жылдам әдісі. Ылғалдық деп ылғалдың гигроскопиялық ылғал мен ұшпа заттардың есебінен массадағы жоғалтуды түсінеді, оны тұрақты массаға дейін кептіру кезінде шикізатты анықтайды.

Зерттелетін шикізаттағы ылғалдың құрамы оның сапалылығын сипаттайтын сандық көрсеткіштердің бірі, жоғары ылғалдылық кезінде сақтаумен оның сапасын төмендетуге әсер ететін жағдайлар жасалады. Шикізаттың көптеген түрлері үшін ылғалдылықтың рұқсат етілген шегі 12-15% - ға дейін құрайды.

Кесте 14 – Стекловидная-24 сорты бидай сабанының химиялық құрамы

Шикізат түрі	Құраушылар құрамы, % абсолютті құрғақ заттан					
	полисахаридтер		пентозандар	гексозандар	лигнин	күл
	жеңіл-гидролизденетін	қиын-гидролизденетін				
Бидай сабаны	20,0-38,8	31,3-48,6	23,6	38,8	5,0-24,5	5,9

Кесте 15 – Ылғалдылықты анықтау

№	Бюкс салмағы	Шикізат	Кептіруге дейінгі шикізаты бар бюкс, m	2 сағаттан кейінгі салмағы	30 минуттан кейін	30 минуттан кейін	Кептіруден кейінгі шикізат, m
1	34,53	3,01	37,54	37,75	37,72	37,72	2,82
2	32,38	3,02	35,40	35,18	35,20	35,19	2,81
3	33,77	3,01	36,78	36,61	36,59	36,60	2,82

Көрсетілгендей, зерттелетін шикізаттағы ылғал мөлшері 6,5% - дан аспайды [153].

Химиялық құрамын анықтау үшін Кюршнер және Ганак, Тапия әдісі бойынша целлюлоза, дегидролизденетін бидай сабанының полисахаридтері қолданылады. Редуцирлеуші заттардың құрамын фотоколориметриялық әдіспен анықталады.

Заттарды фотоколориметриялық әдіспен анықтау бидай сабанының гидролизатында РЗ 0,54 мг/мл мөлшерін көрсететеді. Фотоколориметриялық әдістің артықшылығы талдаудың қарапайым орындалуы және реагенттердің аз шығыны болып табылады [154].

Кесте мәліметтерінде көрсетілгендей, сабанның химиялық құрамы өте құнды құраушылардан құралған, онда жеңіл гидролизденетін полисахаридтер және гексозандар, пентозандар, жеткілікті мөлшерде целлюлоза бар, оның мономерлік бірліктері сызықты тармақталған жағдайда кездесетін тек ғана глюкозадан тұрады, бұл оны қанттарға, атап айтқанда глюкозада гидролиздейді.

Осылайша, шикізаттың химиялық құрамының (13-кесте) көп бөлігі гидролизденетін құраушылармен ұсынылған: бидай сабандарындағы жеңіл гидролизденетін 20,0-38,8% және қиын гидролизденетін 31,3-48,6%, пентозандар 23,6 %, гексозандар 38,8%, лигниндер 5,0-24,5% және күлдер 5,9%. Бидай сабанындағы қиын гидролизденетін полисахаридтердің құрамы мономерлік түрде еритін көмірсуларды алу мақсатында оны өңдеуді қиындатады. Сондықтан, өсімдік биомассасын пайдалану және реакциялық қабілеттілікті арттыру үшін қиын гидролизденетін лигнинді-целлюлозды шикізатты кешенді өңдеуді жасау қажет.

Ферментативті гидролиз үшін бидай сабанын алдын ала механикалық өңдеу нәтижелері

Өсімдік субстраттарын өңдеудің жаңа технологиялық процестерін жүзеге асыру өсімдік шикізатын алдын ала өңдеу мәселелерін ғана емес, оның ферментативті гидролизін шешуді талап етеді. Соңғысын пайдалану бағалы биотехнологиялық өнімдер үшін қажетті шикізат - қанттардың нақты шамадағы мөлшерін алуға әсер етеді.

Өсімдіктер биомассасы, ферменттердің әсеріне ерекше тіреуіштер тәріздес табиғи целлюлоза бар материалдар реакциялық қабілеті бойынша, жасушалық қабырға құрылымындағы айырмашылықтарға байланысты ерекшеленеді, оның құрамына қорғаныс және тірек қызметін орындайтын әртүрлі құраушылардан тұрады. Целлюлозаны гидролитикалық кешен ферменттерімен қанттандыру процесіне дейін кристалды целлюлозаның құрылымын әлсірету үшін лигноцеллюлозаның ерекше құрылымына байланысты арнайы алдын ала өңдеу қажет. Өңдеу тәсілдері негізінен қышқылмен өңдеу, сілтімен өңдеу әдістері [49], бу жарылысы әдісі [48], ылғалды тотығу әдісі, органикалық еріткіштермен өңдеу әдісі [47] және т.б. болып табылады.

Бірақ, лигноцеллюлозды өсімдік шикізатын алдын ала өңдеу әдістерінің көпшілігі агрессивті, экологиялық және жарылу-өрт қаупі бар химиялық реагенттер және органикалық еріткіштер, олар лигноцеллюлозды шикізат

құрылымын талшық деңгейінде ғана реттеуге мүмкіндік беретін көмірсутек полимерлерін механикалық белсендірудің толық емес дәрежесін жүзеге асырады. Бұл лигноцеллюлоза шикізатының жылдамдығы төмен гидролизденуіне және жеткілікті толық болмауына әсер етеді, бөлшектер мөлшерін азайту бойынша қосымша кезеңдер жүргізуге, жоғары температура мен процестердің өту уақытын пайдаланады, бұл техникoэкономикалық көрсеткіштерге теріс әсер етеді. Сондықтан глюкоза және сорбит тәріздес бағалы мономерлік көмірсуларды алу үшін бидай сабанының полисахаридтерін деполимерлеудің кешенді технологиясын жасау қажет.

Техникалық тұрғыдан алғанда механикалық алдын ала өңдеу қатты фазалардың физикалық-химиялық қасиеттерін өзгертудің тиімді әдістерінің бірі болып келеді. Сондықтан, оның табиғи субстраттарды алдын ала өңдеу (белсендіру) үшін қолдану келешегі бар тәсіл болып табылады [155].

Механохимиялық технологияларды жасау кезінде қатты денеге қоса берілген механикалық кернеу бірнеше арналар бойынша - негізінен жаңа беттің түзілуіне, кристалдық және супрамолекулярлы құрылым ақауларының түзілуіне, Ван-дер-вальсті және тіпті ковалентті байланыстардың үзілуіне релаксациялануы мүмкін екенін ескереді. Бұл процестер қатты дененің бос энергиясының артуына әсер етеді, нәтижесінде оның реакциялық қабілеті жоғарылайды, ол жоғары жылдамдық және келесі реакциялардың шығымымен сипатталады [156].

Бидай сабанын толық деполимерлеу мақсатында биомассаны механикалық алдын ала өңдеуді жүзеге асыру қажет. Бұл үшін бидайдың сабанын ІКА М 20 (Қытай) маркалы диірменінің көмегімен 0,5-3 мм бөлшектер мөлшеріне дейін ұсақтайды (25-сурет). Бидай сабанының субстратты микрофлорасының өсуін болдырмау үшін алдын ала ЕС-4620 (Ресей) маркалы кептіру шкафында 10% ылғалдылыққа дейін кептіріледі. Лигноцеллюлозды шикізатты механикалық өңдеу кезінде, бұл жағдайда бидай сабаны, тіндер мен жасушалардың ұсақ бөлшектерге біртіндеп механикалық бұзылуы жүреді. Жұқа ұсақталған өнімді алу еріткіштің және экстрагацияланатын заттардың диффузиясының үлесін нақты шамада төмендетуге, материал арқылы-алудың тиімділігі мен селективтілігін арттыруға мүмкіндік береді. Онда қатты негіздермен механикалық химиялық өңдеу өсімдік шикізатының матрицасында тікелей тритерпен қышқылдарының тұздарының пайда болуына әсер етеді, ал мақсатты құраушылар тұндырмасысының шығымы 1,5-2 есе артады [157].

ВЦС-50 (Ресей) виброорталықтан тепкіш типті аппаратта одан әрі механикалық белсендіру үшін (26-сурет), ұсақталған бидай сабанын жеке жасушалар мен жасушалық қабырғалардың өлшемдеріне дейін 30 секунд ішінде жылдамдығы 50 м/с² қосымша ұсақталады. Биомассаны қосымша ұсақтау целлюлозаның кристалды бөліктерін аморфизациялауға, жасушалық қабырғаларды ыдыратуға және полимерлердің молекулалық құрылымын реттеуге мүмкіндік береді. Биомассаның жасушалық қабырғаларының супрамолекулалық құрылымы бидай сабанының реакциялық қабілетін арттыру және ұсақтау процестерінде негізгі рөл атқарады. Жасушалық қабырғалар

лигнин орнына сәйкес келетін бөліктер бойынша бұзылып, бұл олардың нәзіктігіне байланысты болуы мүмкін.



Сурет 25 – IKA M 20 диірменнің сыртқы түрі

Ұсақ денелердің соққы-жылжу әсерінің астына түскен бөлшектердің жасушалық қабырғаларының ультрақұрылымы бұзылады. Целлюлоза қабаттары кеңейеді және бір-бірімен лигнин-целлюлоза матрицасының диффузды қабаттарына өтеді. Мұндай бөлшектердегі қабаттар механикалық әсердің нәтижесінде бір-біріне қатысты ығысады, бұл ферменттердің гидролизі кезінде жоғары реакциялық қабілетін қамтамасыз етеді. Аталған процестер ферменттерге қатысты шикізат бөлшектері өткізгіштігінің жоғарылауына және кейіннен ферментативті гидролизде олардың реакциялық қабілетінің жоғарылауына әсер етеді. Сондықтан, жұмыстың келесі кезеңі белсенді сабанның биомассасын ферментативті өңдеуді жүзеге асыру болып табылады.



Сурет 26 – ВЦС-50 дірілден орталық тепкіш типті аппаратта бидай сабанын бастапқы механикалық белсендіру

3.9 Бидай сабанының полисахаридтерін ферментативті өңдеу нәтижелері

Белгілі болғандай, целлюлозаны деструкциялау процесіне бірінші болып эндоглюканазалар қосылатыны белгілі, олар субстраттың ұзын полимерлік молекуласының ұштарынан алынған химиялық байланысқа шабуыл жасайды. Полимердің шеткі топтарын ыдырататын эндоглюканаздың әсер етуінің пайда болу үшін субстрат деструкциясының бастапқы кезеңінде полимердің шеттері жетіспейді. Субстраттың полимерлену деңгейінің төмендеуіне қарай (целлюлоза молекуласының қысқаруы) эндоглюканаз әсері экзоферменттердің рөлі төмендейді. Целлюлозаның ферментативті ыдырауын жүзеге асыруда субстрат бетіндегі целлюлозаны адсорбциялау қажетті кезең болып табылады. Ерімейтін субстратта целлюлоздың адсорбциясы алдыңғы гидролиздің сатысы болып табылады. Бұл кезең гидролизбен салыстырғанда бірнеше минутқа созылады, оның ұзақтығы бірнеше сағат және тіпті тәулік болуы мүмкін. Целлюлозды кешеннің ферменттері адсорбциялық қабілеті бойынша әлсіз және берік сорбцияланатын болып бөлінеді. Целлюлоза беттерімен әлсіз өзара әрекеттесумен ерітінділерде болатын субстратқа әсер ететін целлюлобиоз сипатталады. Эндоглюканаз мен целлюлобиогидролаза жоғары адсорбциялық қабілеттілікке ие. Бірақ, олардың арасында ерітіндідегі субстратқа әсер ететін әлсіз сорбцияланатын нысандар және адсорбцияланған күйдегі субстратқа әсер ететін берік сорбцияланған ферменттер бар. Соңғылары субстраттың кристалды матрицасының беріктігін әлсіретеді, құрылымдық ақауларды ажыратады және целлюлоза бөлшектерінің бетін тұрақтандырады [158].

Адсорбцияланған ферменттің саны субстраттың меншікті бетіне байланысты, субстраттың гликозидті байланыстарының санын, целлюлолитикалық ферменттердің әсеріне және ферменттің адсорбциясы тұрақтылығына байланысты. Субстраттың гликозидті байланыстарының реакциялық қабілеті целлюлозаның реттеу дәрежесіне байланысты. Кристалды целлюлозаның гидролизінде адсорбцияланған ферменттің мөлшері ғана емес, ферменттің субстрат бетімен өзара әрекеттесуінің беріктігі нақты шамада әсер етеді, ал аморфты целлюлозаның гидролизге қабілеттілігі целлюлаз адсорбциясының беріктігіне байланысты емес және адсорбцияланған ферменттің мөлшері анықтаушы болып табылады. Қосымша сорбциялық орталық полифункционалды және реттелген ерімейтін целлюлозаның деструкциясында негізгі рөл атқарады [129].

Бидай сабанының белсендірілген биомассасы одан әрі сірке қышқылының буферлік ерітіндісімен бақыланатын рН 4-6 кезінде *Целлозим Г20х* мультиэнзим композициясын және қондырғыда натрий үш су ацетатын қолданумен ферментативті гидролиз жүреді (27-сурет). Ферментті препарат «*Целлозим Г20х*» (микроорганизмдер консорциумы) 0,5-1,0% есебінен лигноцеллюлоза биомассасына қосылады (28-сурет). Бидай сабаны полисахаридтерінің толық деструкциясына жету үшін суда еритін

көмірсулардың тез шығуына дейін 4-14 тәулік ішінде 40-70°C кезінде ферментативті гидролиз жүреді (16-кесте).

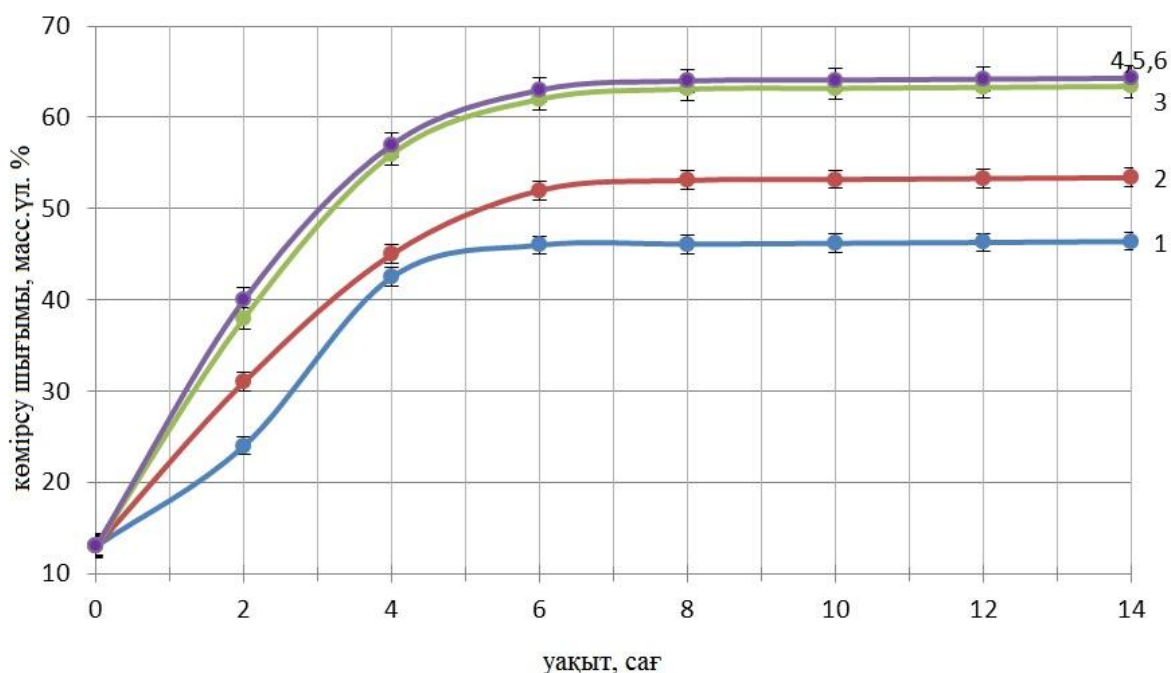


Сурет 27 – Субстратты целлюлолизис жүргізу үшін қондырғы

Механикалық белсендіру және одан кейінгі ферментативті өңдеу арқылы химиялық процесс әртүрлі химиялық айнарудың бастамасына мен жылдамдығына әсер етеді. Мұндай химиялық реакциялардың жүруіне қатты құраушылардың қоспаларын белсендіруге тән құбылыстар әсері бар (фазалардың бөліну шектерінің артуы, ақаулардың жиналуы, аморфизация, еркін энергияның жоғарылауы). Механикалық өңдеу кезіндегі жоғары температура мен қысым химиялық реакциялар үшін ерекше жағдайлар жасайды. Бірқатар жағдайларда қарқынды механикалық әсер ету жергілікті аймақтарда өңделетін гидротермалдық жағдайлардың пайда болуына және кавитациялық процестердің жүруіне әсер етеді.

Кесте 16 – Ферментативті гидролиздеудің технологиялық жүйелеріне байланысты бидай сабанының полисахаридтері деструкциясының өзгеруі*

№	Температура, °C	Көмірсулар шығымы, %масс	Редуцирлеуші заттар шығымы, %масс
1	Бақылау	13±0,2	1,8±0,01
2	40	37±0,5	3,2±0,03
3	45	43±0,3	4,6±0,03
4	50	56±0,5	5,5±0,04
5	55	57±0,5	5,6±0,04
6	60	50±0,2	4,7±0,02
7	65	36±0,3	3,1±0,03
8	70	21±0,2	1,8±0,01
*шарттары: Целлозим Г20х ферменттік препаратының мөлшерлемесі – 0,7%; рН 4-6			



Қисықтар таңбалары: ферменттік препараттың мөлшері, %: 1 – 0,5; 2 – 0,6; 3 – 0,7; 4– 0,8; 5-0,9; 6 – 1,0. *Шарттары: 50 °С кезінде ферментативті гидролиз жүреді; рН 4-6

Сурет 28 – Бидай сабанының полисахаридтері деструкциясына «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) ферменттік препараты мөлшерінің әсері *

Алынған нәтижелер көрсеткендей, бидай сабанының ұсақталған биомассасын өңдеу кезінде 0,7% концентрациясындағы «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) ферментті препаратымен мөлшерлеу полисахаридтердің ең жоғары деструкциясын қамтамасыз етеді. Ферментативті гидролиздің әр түрлі температураларында температураның жоғарылауы ферментті препараттың инактивациясына әсер етеді, бұл мономерлік көмірсулардың шығымын нақты шамада төмендетеді. Ферментативті өңдеудің ең оңтайлы температурасы 50-55°C, онда көмірсулардың шығымы 55-57% - ды құрайды. Сонымен қатар, 40°C және одан төмен ферментативтік өңдеу жүргізу полисахаридтердің деструкция процестерін баяулатады.

3.10 Бидай сабанын ферментативті гидролиздеу кезінде глюкоза және сорбит алу

Ауыл шаруашылығының қалдықтары энергетикалық қажеттіліктерге арналған биомассаның ауқымды ресурсы болып табылады. Қант алу үшін шикізат ретінде пайдаланылуы мүмкін құрамында целлюлоза бар материалдарға ауыл шаруашылығы дақылдарын қайта өңдеу қалдықтары, шаруашылық қажеттіліктер үшін біршама аз дәрежеде қолданылатын және жеткілікті арзан материалдардан тұрады. Материалдарды пайдалану өлшемдері

олардың құны, қорлардың мөлшері, гидролиз өндірісінің орналасу ауданында оларды шоғырландыру мүмкіндігі, технологиялық қасиеттері болып табылады [158].

Бұрын жүргізілген тәжірибелер нәтижесінде бидай сабанын алдын ала белсендіру (ұсақтау) және кейіннен ферментативті гидролиздеумен бидай сабаны полисахаридтерінің максималды деструкциясын қамтамасыз етуі анықталады [159]. Жұмыс [160] авторлары лигноцеллюлозды материалдарды ферментативті қанттандырудың кешенді технологиясын ұсынады, сонымен қатар, ол өсімдік биомассасын алдын ала белсендіруді (ұсақтауды) және бөлшектердің бетінен гел тәрізді қабатты аралық алып тастаумен ферментативті гидролизді қарастырады. Сондықтан, біз осы әдістемені сынақтан өткіздік, оның нәтижелері 17-кестеде көрсетілген. Ферментативті гидролиз кезінде лигноцеллюлоза биомассасы бөлшектерінің бетінде аралық реакция өнімдерінің гел тәрізді қабаты - олигосахаридтер түзіледі. Ал бұл өз кезегінде ерітіндіден ферменттер диффузиясының бетіне және кері тежелуіне, сонымен қатар, үстіңгі қабаттағы реакция өнімдерінің жиналуына және гидролиздің одан әрі жүруін тежеуге әсер етеді. Бөлшектер бетінде түзілетін гел тәрізді қабатты жою үшін АВЭП (АВС)-100 (Ресей) құйынды аппаратын пайдаланылады, ол әр 5-6 сағат сайын ферменттердің жаңа мөлшерін сорбциялау үшін бөлшектердің бетін жаңартады.

Жүргізілген тәжірибелер нәтижесінде, гел тәріздес қабатты жою өсімдік биомассасы полисахаридтерінің гидролиз процесінің қайта жүруіне әсер етеді. Алдын ала өңдеу ферментативті гидролизбен бірге гел тәріздес қабаттың бөлшектер бетінен кезеңмен алып тасталумен үйлесуі көмірсулар шығымы 80-82% құраған бидай сабанын толық деполимерлеуге жетуге мүмкіндік береді.

Кесте 17 – Бидай сабанының полисахаридтерін деструкциялауға механикалық және ферментативті өңдеуден кейін гел тәрізді қабатты жоюдың әсері

Өңдеу ұзақтығы, сағат	Көмірсулар шығымы, масс %	
	Гел тәріздес қабат жойылмайды	Гел тәрізді қабат жойылады
2	37±0,5	37±0,5
4	56±0,4	56±0,4
6	62±0,4	62±0,4
8	62±0,4	71±0,5
10	62±0,4	77±0,5
12	62±0,4	80±0,5
14	62±0,4	82±0,5

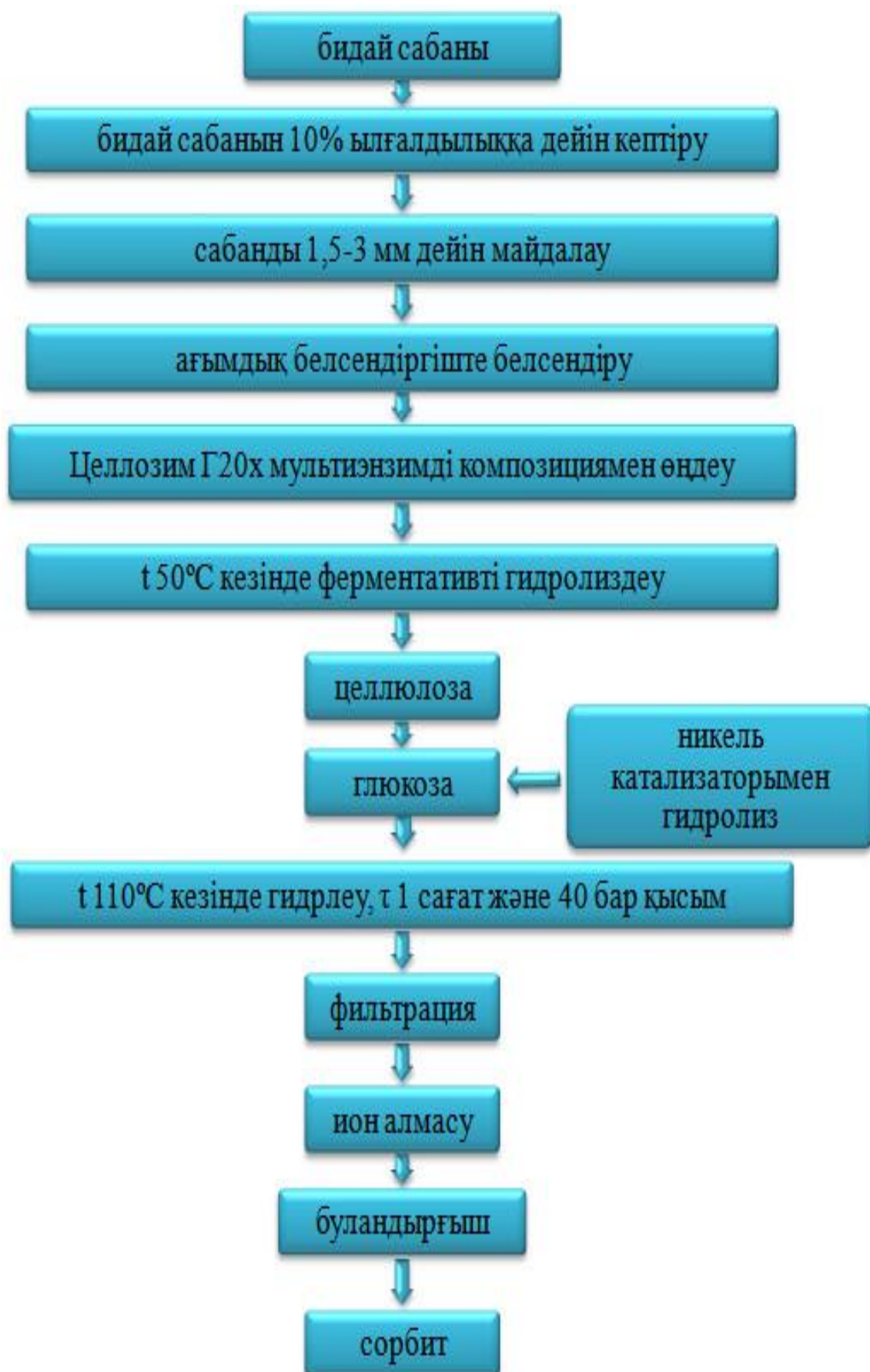
Осылайша, механикалық және ферментативті өңдеу ферменттермен өзара әрекеттесуі үшін беттің меншікті ауданының ұлғаюы, целлюлоза кристалдылығының төмендеуі және жасушалық қабырғалардың супрамолекулярлық құрылымының жалпы реттелуінің арқасында бидай

сабанының құрамындағы полисахаридтердің реакциялық қабілетін арттыруға мүмкіндік береді. Онда диффузиялық жолдарды азайту және тұрақтылықты арттыру есебінен гидролизді тиімді жүзеге асыруға болады. Бидай сабанының полисахаридтерін кешенді өңдеу, ферментативті гидролизбен ұсақтаудың немесе механикалық белсендірудің екі сатысынан тұратын жоғары техникoэкономикалық көрсеткіштерді қамтамасыз етеді.

29-суретте механикалық өңдеуге және ферментативті гидролизбен бидай сабанын кешенді пайдаланудың технологиялық сызбасы ұсынылған, ол целлюлоза алуға мүмкіндік береді, тиімді гидролизденетін мультиэнзимдік композициямен *Tr. viride* 121 және *A. awamori* F-RKM 071 моносахарға толық айналумен (глюкоза мөлшері 86% құрайды) жүреді. Глюкозды қыздыру кезінде қалпына келтіру нәтижесінде катализатордың қатысуымен көпатомды спирт-сорбит түрінде түзіледі, ол қант диабеті, созылмалы колит, холецистит, өт жолдарының гипокинезиясы кезінде пайдаланылатын өнімдерді дайындау үшін кондитерлік және консерві өнеркәсібінде қолданылады.

Біріктірілген (гибридті) тәсілді қолдануға негізделген бидай сабанын ферментативті гидролитикалық гидролиз және гидрлеу технологиясын жасау

Кез келген химиялық айналулар жылдамдығы тәріздес ферментативті гидролиз реакциялар жылдамдығы көптеген факторларға байланысты. Олардың негізгілері мыналар – ферментативтік реакцияның өту уақыты (инкубация уақыты), температура және қоршаған ортаның рН. Ферментті инкубациялау уақыты артқан сайын, реакция жылдамдығы төмендейді.



Сурет 29 – Бидай сабанын кешенді өңдеу Блок-сызбасы

Бұл әртүрлі себептерге байланысты болуы мүмкін, олардың ең бастысы: субстрат концентрациясының азаюы, кері реакция жылдамдығының артуы (өнімнің жиналуы нәтижесінде), ферментті реакция өнімімен тежеу, ферменттің денатурациясы. Кинетикалық зерттеулер кезінде реакцияның бастапқы жылдамдығын өлшейді. Химиялық реакциялар үшін Вант-Гофф ережесіне сәйкес температураның 10°C жоғарылауы реакцияның жылдамдығын 2-4 есеге арттырады. Температураның жоғарылауымен ферментативті гидролиз реакциясының жылдамдығы артады, бір оңтайлы температурада (ферменттің температуралық оптимумы) максимумға жетеді, одан кейін нөлге дейін төмендейді. Ферментативті гидролиз реакциялары үшін жылдамдықты арттырудың температуралық коэффициенті әдеттегі химиялық реакцияларға қарағанда аз екені байқалады: температура әрбір 10°C арттыру кезінде жылдамдық екі есе өседі. Реакция жылдамдығының нөлге дейін төмендеуі ферменттің ақуыз бөлігінің денатурациясы себептері инактивациясынан пайда болады. Ферменттердің көпшілігі $40-50^{\circ}\text{C}$ температурада белсенділігі артады. Жекелеген ферменттер 0°C -қа жақын температураларда инактивацияланады. Жоғары термотұрақтылықпен гликопротеин болып табылатын ферменттер ерекшеленеді, көмірсулар үзінділері ақуызға термотұрақтылық береді. Мұндай ферменттер ыстық көздерде тұратын микроағзаларда жұмыс істейді.

Ортаның рН өзгеруі ферменттің белсенді орталығының және субстраттың қышқыл, негізгі топтарының иондану дәрежесінің өзгеруіне әсер етеді. Нәтижесінде, рН өзгеруі субстрат ферменттің белсенді орталығына және реакцияның каталитикалық механизміне ұқсас болуына әсері бар. Ферментативті гидролиз реакция жылдамдығының рН ортасынан тәуелділігі қоңырау тәрізді формаға ие, әрбір фермент үшін өзінің оңтайлы рН мәні бар, онда фермент каталитикалық белсенділікті (ферменттің рН оптимумы) көрсетеді. Оптимумдағы рН мәні субстраттың ферментпен ең жақсы байланысына және катализдің ең үлкен жылдамдығына жауап береді.

Ферментативті гидролиздеу бойынша белгіленген тәжірибелерді жүргізу үшін «Шымкентсыра» ЖШС бидай сабандары алынады [161].

Биокатализаторлар ретінде дайындалған «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) ферменттік препараты қолданылады, олардың сипаттамалары 18-кестеде келтірілген, *A. awamori* F-RKM 0719 препараты қолданылады, ферментативті гидролиз бастапқы кезеңінде 1 г субстратқа 0,03 г фермент мөлшерінде «БрюзаймBGX» ақылы ферменттік препаратын қосады.

Бұл әрбір үлгінің ферментативті гидролиз су ортасында жүреді. Барлық сынақтарда субстрат концентрациясы $45,0 \text{ г/л}$ құрайды. Гидролиз процесін жүзеге асыру үшін талдау таразыларында өлшенген бидай сабанының, ферменттің, фосфор қышқылының мөлшері және судың қажетті мөлшері ферменттерге құйылады. Белгіленген уақыт аралығы өткеннен кейін процесс тоқтатылады және сұйық хроматография әдісімен целлюлоза конверсиясының дәрежесін анықтау және қант спирттерінің құрамына талдау жүргізіледі.

Кесте 18 – Ферменттік препараттың сипаттамасы

Препарат аталуы	Өңдеу параметрлері		Белсенділігі
	температура, °C	pH	
<i>A. awamori</i> F-RKM 0719	30-50	3,5-5,5	Целлюлазды: 1500 ед.+5 % ед КМЦ/см ³ ; β-Глюканазды: 1450+5 % ед β-ГКС/см ³ ; Ксиланазды: 6500+5 % ед КС/см ³ ;

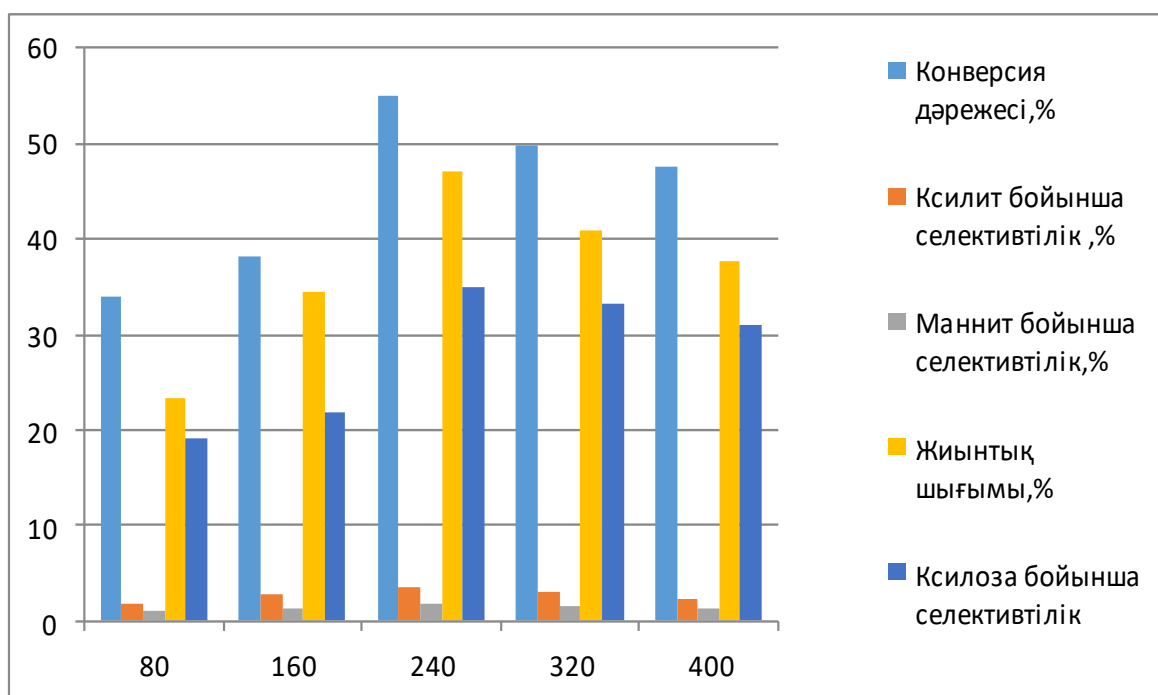
Бидай сабанының ферментативті гидролиз жылдамдығы процестің өту уақытына тәуелділігі 29-суретте және 19-кестеде келтірілген.

Кесте 19 – Бидай сабанының ферментативті гидролитикалық гидролиз және гидрлеу жылдамдығының процестің өту уақытына тәуелділігі

τ, мин	Конверсия дәрежесі, %	Сорбит бойынша селективтілігі, %	Маннит бойынша селективтілігі, %	Қосынды шығымы, %	Глюкоза бойынша селективтілігі
80	38,0	2,1	1,1	26,6	21,5
160	42,6	3,2	1,5	39,3	24,6
240	61,6	4,0	1,9	53,6	39,5
320	55,6	3,3	1,7	46,6	37,6
400	53,3	2,5	1,4	43,0	35,1

20-кестеде бидай сабанын ферментативті гидролиз процесі жылдамдығының реакцияның жүру уақытынан өзгеру заңдылықтарын зерттеу бойынша тәжірибелік мәліметтер келтірілген [162]. Реакция уақыты 80-ден 400 минутқа дейін өзгереді. Бидай сабанының каталитикалық конверсиясы процесінің оңтайлы өту уақыты 240 минутта анықталады. Осы минутқа дейін бидай сабанының конверсиясы біртіндеп өседі, ал осы көрсеткіштен кейін оның мәні кателік шегінде болады.

Осындай заңдылықтар сорбит бойынша селективтілік көрсеткішінде байқалады. Бірақ, сорбит пен маннит бойынша селективтілік химиялық гидролизге қарағанда нақты шамада төмен. Бұл гидролиз реакциясы жылдамдығының гидрлеу реакциясы жылдамдығынан жоғары болуымен түсіндіріледі. Онда глюкоза бойынша селективтіліктің үлкен мәндерін көрсетеді (19,1-ден 35,0% - ға дейін). үшін ферменттерге қосымша микроскопиялық саңырауқұлақтардан алынған «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) ферменттік препараты 0,03 г қосады. Тәжірибелер нәтижелері 20-кестеде және 30-суретте келтірілген.



Сурет 30 - Процестің жүру уақытынан бидай сабанын гидрлеу

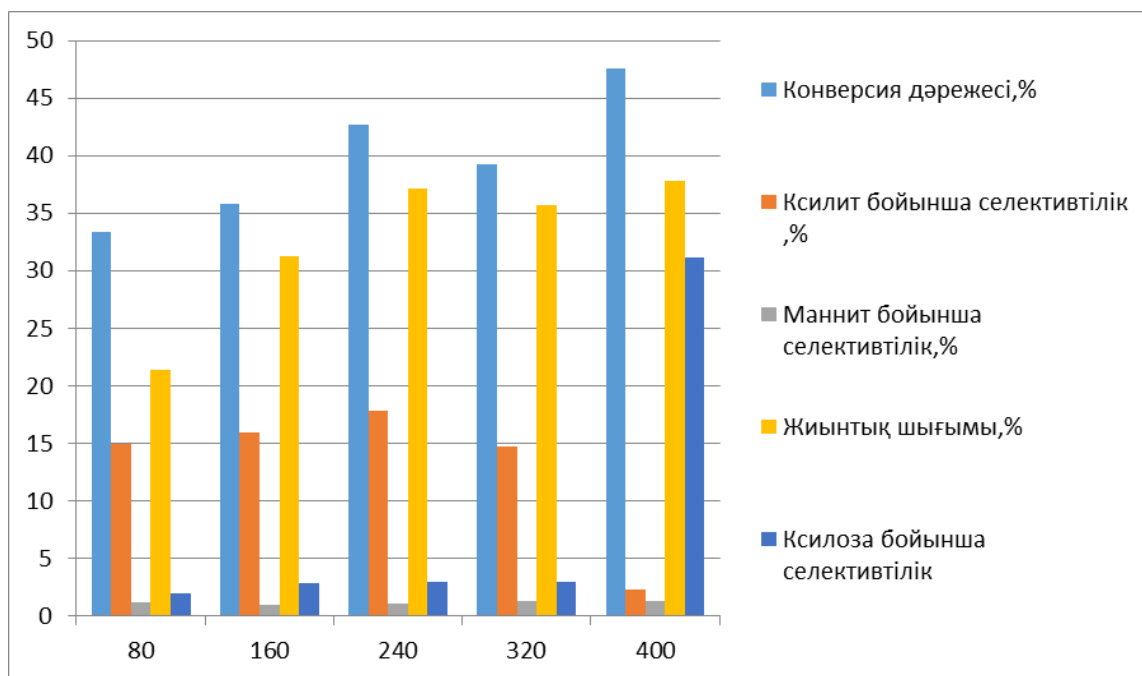
Кесте 20 – Бидай сабанының ферментативті гидролиз және гидрлеу жылдамдығының күрделі ферменттердің қатысуымен процестің өту уақытына тәуелділігі

τ, мин	Конверсия дәрежесі, %	Сорбит бойынша селективтілік, %	Маннит бойынша селективтілік, %	Жиынтық шығымы, %	Глюкоза бойынша селективтілік
80	37,4	16,6	1,3	24,3	1,9
160	40,0	17,8	1,1	35,6	2,8
240	47,8	19,9	1,2	42,2	3,0
320	43,9	16,4	1,4	40,6	2,9
400	53,3	2,5	1,4	43,0	31,1

20-кестенің мәліметтерінде көрсетілгендей, сорбит бойынша селективтілік 3,6-дан 17,8% - ға дейін артады, сонымен қатар, глюкоза бойынша селективтілік 35,0-ден 3,0% - ға дейін төмендейді. Мұндай заңдылықтар гидролиз реакциясы жылдамдығынан гидрлеу реакциясы жылдамдығының жоғары екенін көрсетеді. Бізбен осы жағдайларда гидролитикалық гидролиз және гидрлеудің біріктірілген (гибридті) ферментативті гидролиз процесі жүзеге асырылады.

Ферментативті гидролитикалық гидролиз және гидрлеу процесі температурасының бидай сабанын конверсиясына және сорбит пен маннит бойынша селективтілікке күрделі ферменттердің қатысуымен әсерін зерттеу кезінде температураның 30-дан 50 °C-ке дейін артуымен бидай сабанының конверсиясы 12,7-ден 42,7% - ға дейін өсімі (21,22-кестелер және 31-сурет) көрсетілген. Температураның жоғарлауымен сорбит бойынша селективтілік (30-50 °C) 7,7-ден 17,8% - ға дейін артады және температура 70 °C-ке дейін

жоғарлауы кезінде 7,0% - ға дейін төмендейді. Сорбит бойынша селективтіліктің төмендеуі 70 °С жоғары температураларда пайдаланылатын ферменттерді инактивациялау процесі жүруіне байланысты болады. 21-кесте көрсетілгендей, тәжірибенің оңтайлы температурасы 50 °С, себебі осы температура кезінде бізбен сорбит пен маннит бойынша ең жоғары селективтілік анықталады.

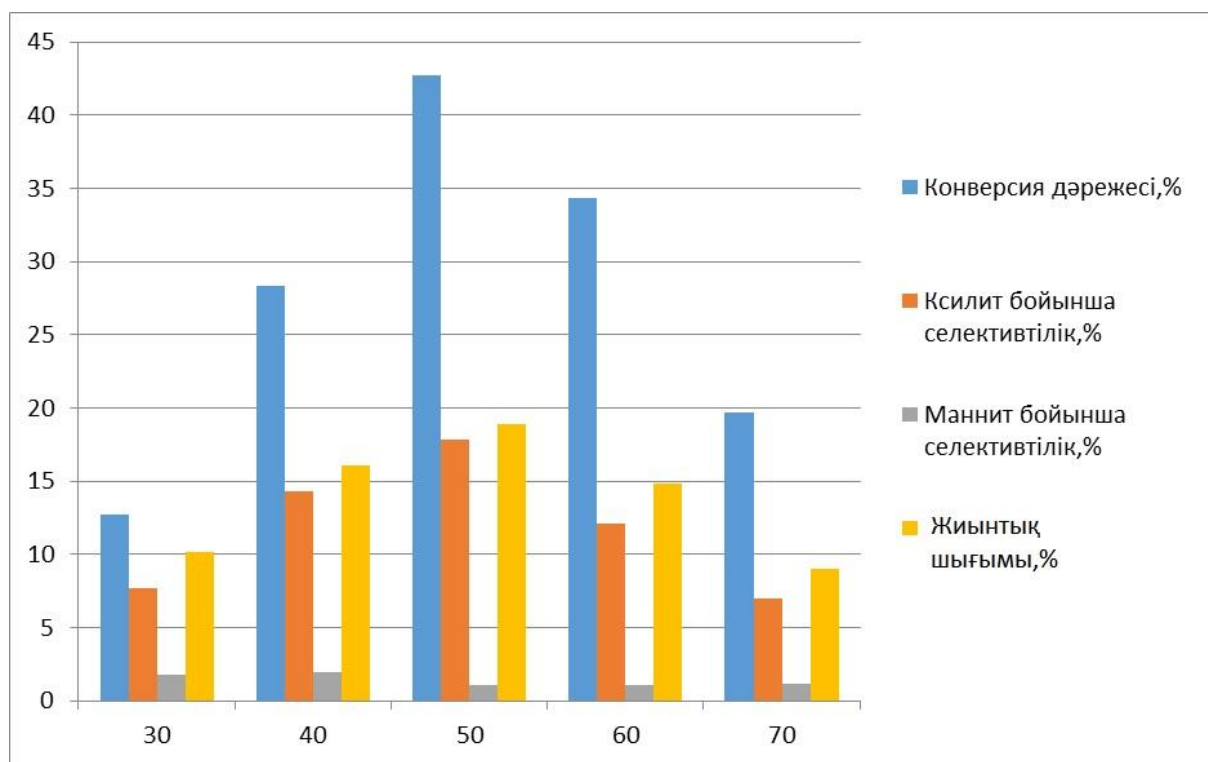


Сурет 31 – Бидай сабанын ферментативті гидролиздеу мен гидрлеу жылдамдығына процестің жүру уақытының әсері

Кесте 21 – Бидай сабанын ферментативті гидролиз процесіне тәжірибе температурасының әсері

T°С	Конверсия дәрежесі,%	Сорбит бойынша селективтілік,%	Маннит бойынша селективтілік,%	Жиынтық шығымы,%
30	14,2	8,6	1,9	11,6
40	31,6	16,0	2,2	18,3
50	47,8	19,9	1,2	21,5
60	38,4	13,5	1,2	16,8
70	22,0	7,8	1,3	10,2

Полиолдар бойынша бидай сабанын ферментативті гидролиз процесінің конверсия мен селективтілікке рН – тың әсерін зерттеу кезінде анықталғандай, онда сорбит бойынша селективтіліктің ең үлкен мәні – 17,8% және конверсия-42,7% рН мәні 5,0-ге тең жағдайда байқалады. Ортаның рН өзгеруі ферменттің белсенді орталығының және субстратта өзінің қышқыл және негізгі топтарының иондану дәрежесінің өзгеруіне әсер етеді. рН өзгеруі субстратта ферменттің белсенді орталығына және реакцияның каталитикалық механизміне ұқсас болуына әсері бар.



Сурет 32 – Сынақ температурасына бидай сабаны конверсиясының тәуелділігі

Кесте 22 – Бидай сабанын ферментативті гидролиздеу және гидрлеу процесіне рН әсері

рН	Конверсия дәрежесі, %	Сорбит бойынша селективтілік, %	Маннит бойынша селективтілік, %	Жиынтық шығымы, %
4,0	17,0	8,4	1,3	10,6
4,5	33,6	12,6	1,3	14,2
5,0	47,8	19,9	1,2	21,5
5,5	40,0	11,7	3,1	13,3
6,0	21,3	6,1	2,6	9,2

Ферментативті реакция жылдамдығының рН ортасына тәуелділігі экстремумының формасы бар, әрбір фермент үшін рН оңтайлы мәні қарастырылған, онда фермент каталитикалық белсенділік (ферменттің рН оптимумы) көрсетеді. Оптимумдағы рН мәні субстраттың ферментпен ең жақсы байланысына және катализдің ең үлкен жылдамдығына жауап береді. Біздің жағдайда бұл мән 5,0-ге тең.

Осылайша, бізбен бидай сабанын ферментативті гидролиз және гидрлеу процесінің оңтайлы шарттары анықталады: рН – 5,0, температурасы 50°C, реакцияның ұзақтығы – 3 сағат.

3.11 Бидай сабанының ферментация процесінің кинетикасы

Genencor International PS AO3143-1.1 EN Optiflow RC 2.0 және PS A03197-1.0 EN Acellerase CB100 (6200-7580 бірлік/г целлюлазаның белсенділігімен) фирмасының сұйық целлюлолитикалық ферменттік препараттарымен бидай сабанын ферментативті гидролиз процестерін зерттеу жүргізіледі.

Ферментативті гидролиз кинетикасын зерттеу үшін модельді тәжірибелер целлюлоза көзі ретінде қағаз бен мақтаны қолданумен жүзеге асырылады. Ферментативті гидролиздің тәжірибелік процестерінде 2 сағат бойы 120°C температурада кептіргіш шкафта алдын ала ұнтақталған, еленген және тұрақты шамаға дейін кептірілген бидай сабандары қолданылады. Бидай сабандары 0,05 - 0,1 МПа артық қысымда автоклавта 0,5 - 1 сағат бойы алдын ала буланады.

Ферментативті гидролиз процестері рН 4,9-5,0 бірлік диапазонында және 49°C температурада белсенді қышқылдықты сақтау кезінде қолданылатын ферменттік препараттардың сипаттамасына сәйкес жүреді.

Ферментативті гидролиз процесінің ұзақтығы 7-10 сағатты құрайды.

Өсімдік тектес дисперсиялы қатты фазалы субстраттардың ферментативті гидролизі реакцияларының кинетикасы мен стехиометриясын зерттеуді тербелу жылдамдығы 220 минут шайқағышта көлемі 250 мл тербелмелі колбаларда 1 с термостаттау және рН пен термостаттау автоматты реттелетін зертханалық ферменттерде жүргізіледі.

Тербелмелі колбаларда сабан ферментативті гидролизінің процестері PS A03197-1.0 EN Acellerase CB100 ферменттік препаратының әртүрлі концентрацияларында жүргізіледі. Тәжірибе нәтижелері 23-кестеде келтірілген.

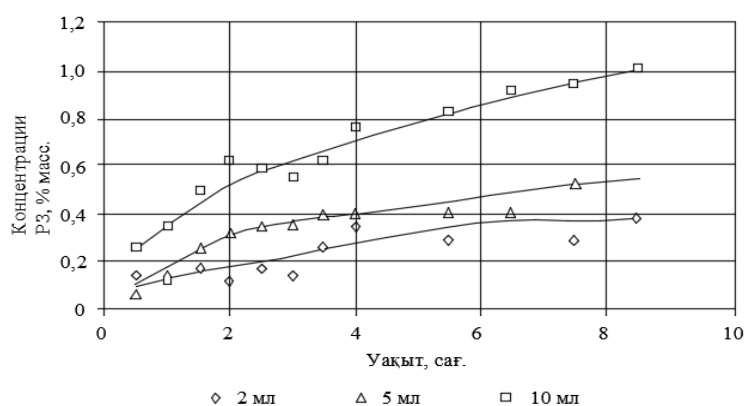
Тербелмелі колбалардағы тәжірибе нәтижелері мәліметтердің өте үлкен таралу мәндерімен ерекшеленеді. Екі рет өзгертілген концентрациясы бар ферменттер іс жүзінде кинетикасы және қанттар шығымына әсері байқалмайды, бұл шындыққа сәйкес келмейді.

Кесте 23 – Ферменттердегі бидай сабаны ферментативті гидролизінің нәтижелері (%)

Процесс нөмірі	Ферменттің саны, бірлік белсенділік	РЗ ең жоғары концентрациясы, %	РЗ шығымы, %
1	62-75,8	0,43	4,3
2	62-75,8	0,46	4,6
3	6,2-17,6	0,46	4,6
4	31-37,9	0,48	4,8
5	62-75,8	0,32	3,2
6	1,6-1,9	0,26	2,6
7	3,0-3,8	0,26	2,6
8	4,6-5,7	0,22	2,2

Қателікті төмендету және ферменттің әсерін тексеру мақсатында бір құраушысы бар субстраттарда ұсақталған күлсіз қағаздың ферментативті гидролизіне (көлемі 6 л) тәжірибелер сериясы жүргізіледі. 33-суретте PS

A03197-1.0 EN Acellerase CB100 препаратымен қағаз ферментативті гидролизі процесінің нәтижелері көрсетілген.

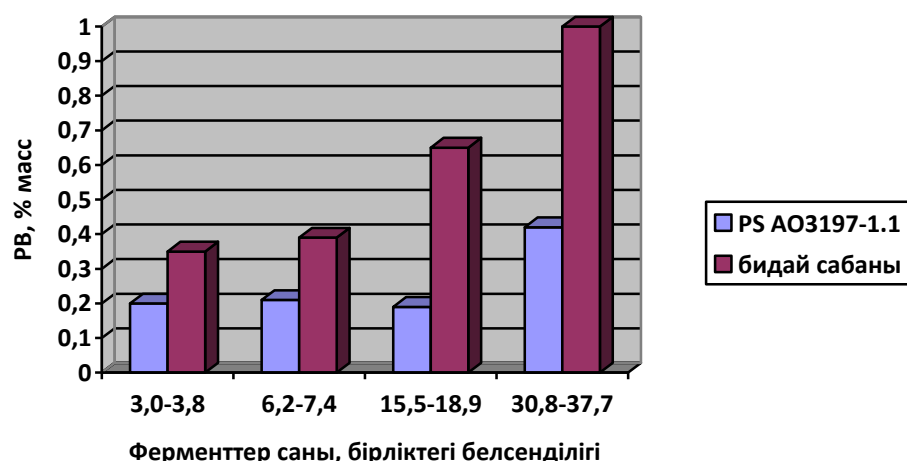


Сурет 33 – PS A03197-1.OEN Acellerase CB100 ферментімен қағаздың гидролизі кезінде түзілетін заттар концентрациясының өзгеруі

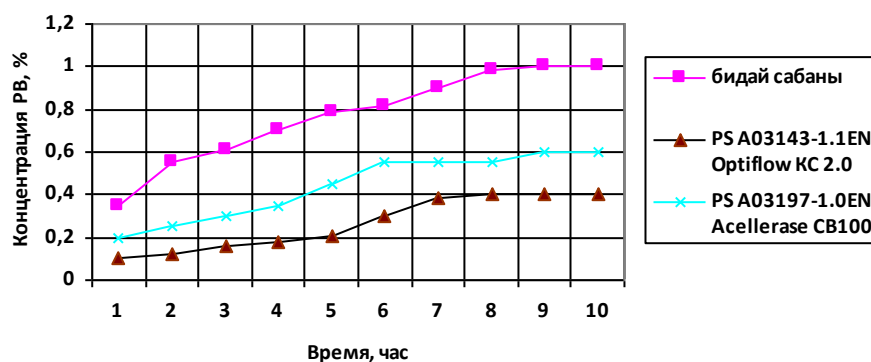
33-суретте көрсетілгендей, процестерде араластырғыштың айналу жылдамдығы 222 - 330 айнал/минут, рН 4,81 - 5,0 аралығына сәйкес келеді. 34 суреттегі тегістелген қисықтарға қатысты тәжірибелік мәндердің нүктелерін тарату аралығы РЗ анықтау қателігінің көлемін көрсетеді. 2,5 және 10 мл ферменттік препараттың мөлшеріне сәйкес 7,2-7,6; 15,5-18,9; 30,8-37,7 бірлік белсенділікке ие. Белсенділіктің шамасына пропорционалды РЗ нақты концентрациясы алынады: 0,41; 0,65 және 1,00 % масса. РЗ нақты концентрациясының (ферментативті гидролиздің орташа жылдамдығы) фермент белсенділігінің орташа шамасынан тәуелділігі сызықтық, бұл теоретикалық түрде Михаэлис-Ментен моделінен алынады.

Тәжірибелер негізінде [163] одан әрі зерттеулерде тербелгіштерді пайдаланумен салыстырғанда жұмыстың көп еңбек сыйымдылығына қарамастан, ферментативті гидролиз процестерге артықшылық беріледі. PS A03197-1.0 EN Acellerase CB100 ферментативті гидролизін салыстырмалы процестерінің нәтижелері 34 және 35 суреттерде көрсетілген (гидромодуль 1:40, сабан фракциясы 1 -3 мм, қағаз 4-5 мм).

Қағаз іс жүзінде таза целлюлоза болғандықтан, ферментативті гидролиз процестерінің кинетикалық параметрлері бірдей болғанда, сабан ферментативтік гидролизі жағдайында түзілетін қант мөлшері қағазды қолданғаннан 1,49 есе аз. Бірақ, шын мәнінде, бидай сабанының құрылымы талшықтарды орау тығыздығы және басқа араластырғыш құраушылардың болуымен ерекшеленеді, бұл ферментативті гидролиз процесінің жылдамдығын 2,5 есе баяулатуға әсер етеді.



Сурет 34 – «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) ферментімен бидай сабаны ферментативті гидролизі процестерінің салыстырмалы сипаттамасы

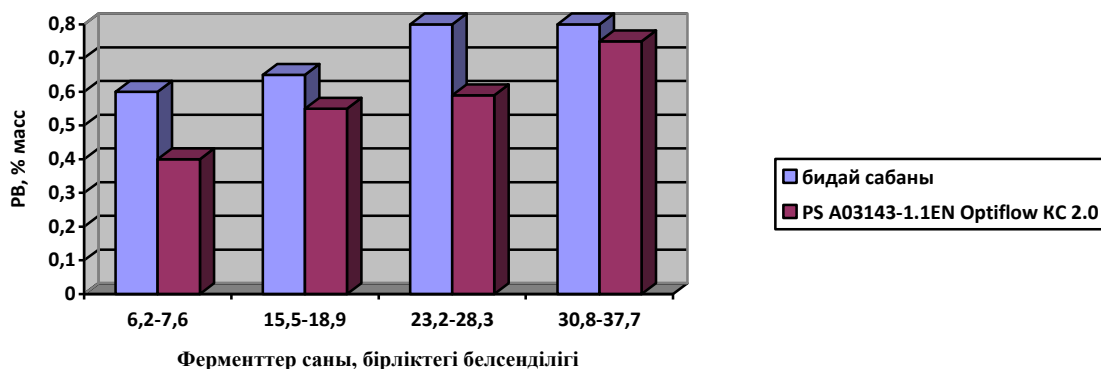


Сурет 35 – «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) ферментімен бидай сабаны ферментативтік гидролиздеу процестеріндегі P3 концентрациясының өзгеруі

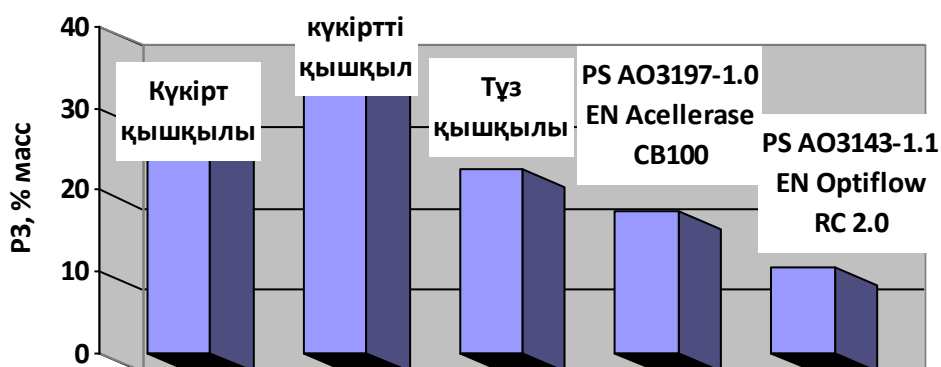
PS A03143-1.1 EN Optiflow KC 2.0 ферментін пайдаланып, ферментативті гидролиз процестерін талдау кезінде тағы үлкен айырмашылықтар көрсетілген тәжірибелер жүргізу жағдайында анықталады (36 сурет).

Бірдей субстраттарды деполимерлеу үшін әртүрлі ферменттерді пайдаланып, тәжірибелер нәтижелерін өзара салыстыру негізінде ферментті препараттардың мониторингін жасауға мүмкіндік береді.

Бірақ, ферментация үшін бәсекелестік процесс минералды қышқылдармен классикалық гидролиз болып табылады. Сондықтан, кинетикалық сипаттамалар негізінде гидролиздік агентті таңдау әрбір субстрат үшін гидролиз (ең алдымен төмен температуралы) және ферментативті гидролиз процестерін салыстыру негізінде жүзеге асырылуы қажет (36 сурет).



Сурет 36 – «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) ферментімен бидай сабанының төмен температуралы ферментативті гидролиз процестерінің салыстырмалы сипаттамасы



Сурет 37 – Бидай сабанының химиялық реагенттер және целлюлаздың ақылы препараттармен төмен температуралы гидролиз процестерінде P3 шығымы

Процестердің ұзақтығын білумен, 24 кестеде ұсынылған меншікті жылдамдығының шамаларын есептеу қиын емес (сағатына полисахаридтердің массасынан % - да P3 түзілуінің өзгеруі).

Кесте 24 – Бидай сабаны гидролизінің салыстырмалы меншікті жылдамдығы, %/сағат

Күкірт қышқылы	Тұз қышқылы	Күкіртті қышқылы	PS A03143-1.1 EN Optiflow KC 2.0	PS A03197-1.0 EN Acellerase CB100
5,5	7,7	9,4	1,5	7,0

Ферментативті және жоғары температуралы гидролиз процестерін салыстыру біріншісінің пайдасына сәйкес келмейді (37 сурет). Қарқындылығы бойынша процестер 15 еседен артық болумен ерекшеленеді, бұл тәжірибеде гидролиздік жабдық көлемінің артуына әсер етеді. Жекелеген жағдайларда бұл

жүзеге асуы мүмкін. Бірақ, процестердің энергетикалық тиімділігі талаптарын жоққа шығармайды.

Автормен № 3429 «Бидай сабанынан глюкоза алу тәсілі» пайдалы моделіне патент алынған. Пайдалы модель микробиологиялық және тамақ өнеркәсібіне, атап айтқанда, жоғары концентрацияланған глюкоза ерітінділерін алу және микробтық метаболизм (этанол, сүт қышқылы, ашытқылар, бактериялық целлюлоза) өнімдерінің кең түрлерін конверсиялау үшін қоректік орта ретінде пайдаланылуы мүмкін.

Бидай сабанынан глюкозаның жоғары концентрацияланған ерітінділерін алу тәсілі шикізатты алдын ала өңдеуді және кейінгі ферментативті гидролизді қарастырады. Шикізатты алдын ала өңдеу концентрациясы 0,5-6,0% күкірт қышқылының сұйылтылған ерітіндісімен жүргізіледі, содан кейін қыздырады, 1-6 сағат бойы ұстайды. Ферментативті гидролиз субстраттың бастапқы концентрациясы 250-300 г/л кезінде әрбір 2-8 сағат сайын субстраттың жаңа мөлшерін енгізу және глюкозаны бөлумен жүреді. Шикізат ретінде бидай сабаны қолданылады.

Жасалған әдіс және оның негізінде дайындалған «Бидай сабанынан глюкозаны алу тәсілі» пайдалы модель бидай сабанын қайта пайдалану және жоғары концентрацияланған глюкозалы гидролизбен алуға мүмкіндік береді.

ҚОРЫТЫНДЫ

Табиғи жүйелерді сақтау және қоршаған ортаның қажетті сапасын ұстану үшін экология саласында бірыңғай басқару жүйесін қалыптастыру мен нақты кезеңмен жүзеге асыру және қайталама шикізат пен материалдық ресурстарды пайдаланатын ресурс үнемдейтін және қалдықсыз жаңа технологияларды жасау қажет. Өнеркәсіпті дамытудың басты бағыты-жоғары өнімді қондырғыларды, жабдықтарды, технологиялық процестерді жасау және енгізу жолымен оның техникалық деңгейін арттыру. Сапалы қанттар алуды және олардың ең аз ыдырауын қамтамасыз ететін жоғары жылдамдықты процестерді енгізу жолымен шикізатты гидролиздеу сатысында принципті жаңа технологиялар жасау мүмкіндігі бар. Одан басқа, осындай өндірістерді одан әрі дамыту үшін жаңа болашағы бар қалдықтарды пайдалану жолымен олардың шикізат базасын кеңейту қажет. Бұл қалдықтарды пайдалану елдің түрлі аймақтарындағы экологиялық жағдайды жақсартуға әсер ететін болады. Қазіргі уақытта күрделі экологиялық мәселелерді шешуде құрылымдық жолдарды толық ұсыну және іздеу үшін ғылымның аралас салаларындағы (микробиология, энзимология, биотехнология, табиғи қосылыстар химиясы) іргелі зерттеулер жүргізу талап етуі байқалады. Бірінші кезекте инновациялық технологияларды, оның ішінде бірлескен процестерді құрудың ғылыми негізделген стратегиясын жасау қажет. Сондықтан, жаңа өнімдерді алу мақсатында өсімдік биodeградациясының жаңа жоғары тиімді технологияларын жасау өзекті және келешегі бар болып табылады. Диссертациялық зерттеулердің нәтижелері бойынша келесі қорытындылар жасалады.

ҚОРЫТЫНДЫЛАР

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 штаммдарынан 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 штаммдарының 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 штаммдары 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.

Қойылған міндеттердің толық шешілуін бағалау. Зерттеудің негізгі міндеттері мен алынған нәтижелердің салыстырмалы талдауы қойылған

міндеттердің толық шешімін көрсетеді, ол *A. awamori* F-RKM 0719 және *Tr. viride* 121 штаммдарының жоғары тиімді қауымдастығын алумен анықталады, өсімдік биомассасын деполимеризациялау үшін «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) ферменттік препаратын алудың жаңа биотехнологиясы жасалады және тәжірибелермен негізделеді.

Нәтижелерді нақты пайдалану бойынша ұсыныстар мен бастапқы мәліметтерді дайындау.

Жұмыс нәтижелері тамақ және фармацевтика өнеркәсібінде, ауыл шаруашылығында өсімдік қалдықтарын қайта пайдалану үшін, экология және қоршаған ортаны қорғауға қолданылуы мүмкін. Мәліметтер «Биотехнология» және «Микробиология» саласындағы бакалаврлар, магистрлер, сонымен қатар, осы зерттеу саласындағы мүдделі тұлғалар үшін оқу курстарын оқытуда пайдалы болуы мүмкін.

Енгізудің техникалық-экономикалық тиімділігін бағалау. Экономикалық тиімділік мынада, «Целлозим Г20х» (микроорганизмдер консорциумы) жиынтық препаратын пайдаланып, 1 тонна бидай сабанынан құрамында целлюлоза мөлшері орташа 40%, пентозандар орташа 10% құрамында негізінен глюкоза мен ксилозасы бар 30-32% қант құрайтын сұйықтықты алуға болады.

1 тонна сабан бағасы 27,083 теңге.

1,0 тн сабаннан алынатын қант орташа 22 кг құрайды.

Қант бағасы 250 теңге/кг, 80,000 теңге.

Глюкоза ғана алу кезінде препаратты пайдаланудан түскен пайда: 52,920 теңгені құрайды.

Осы саладағы үздік жетістіктермен салыстырғанда орындалған жұмыстың ғылыми деңгейін бағалау. Ұсынылған диссертациялық жұмыстың ғылыми-әдістемелік деңгейі зерттеу мәліметтерінің кешенділігін көрсетеді. Диссертациялық жұмысты орындау барысында жаңа шешімдерді ұсынуға мүмкіндік беретін қазіргі заманғы физика-химиялық зерттеу әдістері қолданылады. Жүргізілген әдебиеттерге шолу, теориялық және қолданбалы зерттеулердің нәтижелері диссертациялық жұмыстың қазіргі ғылыми-техникалық деңгейге сәйкес келуі туралы қорытынды жасауға мүмкіндік береді. Глюкоза мен сорбитті алу мақсатында өсімдік шикізатын деполимерлеу үшін қолданылатын теңдестірілген ферменттік кешенмен жоғары белсенді ферменттік препаратын алудың қазіргі заманғы технологияларын жасауға арналған осындай жұмыстар жоқ, ал жұмыста ұсынылатын препарат жаңа және өзінің қасиеттері бойынша ұқсас импорттық препараттардан артықшылықтарға ие. Алынған нәтижелер таңдалған зерттеу нысандары бойынша белгілі мәліметтермен салыстырғанда түпнұсқа болып табылады. Осы жұмыстың жоғары ғылыми деңгейі мен бәсекеге қабілеттілігі осы саладағы үздік жетістіктермен салыстырғанда ҚР БҒМ БҒССҚК ұсынған басылымдардың тізіміне енгізілген арнайы журналдардағы жарияланымдар, оларды халықаралық конференцияларда талқылау, «Бидай сабанынан глюкозаны алу тәсілі» автордың куәлігі № 3429 пайдалы модельге патент беру куәландырады.

ҚОЛДАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Валовый выпуск продукции (услуг) сельского, лесного и рыбного хозяйства в Республике Казахстан. - Статистика сельского, лесного, охотничьего и рыбного хозяйства. 3 серия. –2017. – http://stat.gov.kz/faces/wcnav_externalII дата обращения 24.08.2020
- 2 Valentin I. Popa, Irina Volf. Biomass as Renewable Raw Material to Obtain Bioproducts of High-Tech Value. - 2018. - P. 19-54.
- 3 Abbasi T., Abbasi S.A. Biomass energy and the environmental impacts associated with its production and utilization. Renewable and Sustainable Energy Reviews. Elsevier, Vol. 14(3),- 2010. - P. 919-937
- 4 Саловарова В.П., Козлов Ю.П. Эколого-биотехнологические основы конверсии растительных субстратов: Учеб.пособие. – М.: Изд-во «Энергия», 2006. – 544 с.
- 5 Базунова М.В., Прочухан Ю.А. Способы утилизации отходов полимеров // Вестник башкирского университета. - 2008. - Т. 13, № 4. – С. 875 – 885.
- 6 Дробышева С. Аграрные новости Казахстана. <http://kazakh-zerno.kz/novosti/agrarnye-novosti-kazakhstan>. 8.02.2018. дата обращения 24.08.2020
- 7 Сушкова В.И., Воробьева В.И. Безотходная конверсия растительного сырья в биологически активные вещества. – Киров: ДеЛи принт, 2007. – 204 с.
- 8 Хазипов Н.Н., Камалов Б.В., Закиров И.Р. Подготовка кормов к скармливанию // Аграрная тема. – 2012. - №1. – С. 66-69.
- 9 Безлер Н.В., Черепухина И.В. Некоторые биокаталитические процессы в почве при использовании в качестве органического удобрения соломы // Плодородие. - 2012. - №3. - С. 32-34.
- 10 Новые вызовы и возможности в области развития переработки сельскохозяйственного сырья. Пресс-служба НАО «НАНОЦ» // <http://nanoc.kz/novye-vyzovy-i-vozmozhnosti-v-oblasti-r/> дата обращения 24.08.2020
- 11 Тажина С.Ж., Алтайулы С., Оспанкулова Г.Х. Исследование качества пшеничного крахмала как сырья для получения мальтозной патоки // Сборник матер. межд. научно-практическая конф., посвященная памяти член кор. КазАСХН, д.т.н., профессора Тулеуова Е.Т. «Инновационные подходы и технологии для повышения эффективности производств в условиях глобальной конкуренции», 2016.-Т. 2.- С 531-534.
- 12 Пат. 29281 РК. Способ получения глюкозно-фруктозного сиропа из крахмала сорго / О.В. Полуботько; Г.Х. Оспанкулова; А.С. Нургазиева; опубл. 15.12.2014, Бюл. № 9. - 4 с.
- 13 Пат. 28332 РК. Способ получения этилового эфира молочной кислоты / О.В. Полуботько; Г.М. Омарова; Н.Л. Нечай; М.Л. Коптлеуова; Д.Б. Тоймбаева; Г.Х. Оспанкулова; А.С. Нургазиева; А.А. Махамбетова; опубл. 15.04.2014, Бюл. № 4.- 3 с.

14 Пат. 27159 РК. Способ получения карбоксиметилкрахмала из овсяного крахмала/ О.В. Полуботько; Д.Б. Тоймбаева; Г.Х. Оспанкулова; А.С. Нургазиева; А.А. Махамбетова; Г.М. Омарова; М.Л. Коптлеуова; Н.Л. Нечай; опубл. 15.07.2013, Бюл. № 4.- 3 с.

15 Пат. 27976 РК. Способ получения карбоксиметилкрахмала из овсяного крахмала/ Г.М. Омарова; М.Л. Коптлеуова; О.В. Полуботько; Г.Х. Оспанкулова; Д.Б. Тоймбаева; Н.Л. Нечай; А.С. Нургазиева; опубл. 25.12.2013, Бюл. № 12.- 3 с.

16 Тажина С.Ж., Байкенов А.Ө, Айтмуханбетов Д.К., Оспанкулова Г.Х. Исследование по глубокой переработке отходов зернового производства // Межд. научно-практическая конф. «Современные аспекты научно-технологического обеспечения переработки сельскохозяйственного сырья и отходов», посвященная 55-летию образования ТОО «КазНИИПСХП» 9-10 октября.- Астана 2014г.- С. 220-223.

17 Каманова С.Г., Юнусов Т.С., Полуботько О.В., Оспанкулова Г.Х. Исследование показателей качества и химического состава сока, полученного из сахарного сорго // Сборник материалов международной научно-практической конференции молодых ученых «Вклад молодых ученых в индустриально-инновационное развитие агропромышленного комплекса», 2 Т., Алматы, 21-22 апреля 2016 г, С. 217-221.

18 Коптлеуова Т.М., Тажина С.Ж., Полуботько О.В., Г.Х. Оспанкулова Выбор оптимальных режимов получения технической целлюлозы // Сборник мат. межд. научно-практ. конф. молодых ученых «Вклад молодых ученых в индустриально-инновационное развитие агропромышленного комплекса».- Алматы 2016 г.- 2 Т.- С. 221-226.

19 Пат. 30357 РК. Способ получения кристаллической глюкозы/ Д.А. Шаймерденов; О.В. Полуботько; Б.К. Булашев; Г.Х. Оспанкулова; С.Г. Каманова; Д.Б. Тоймбаева; опубл. 15.09.2015, Бюл. № 9.- 4 с.

20 Коптлеуова Т.М., Тажина С.Ж., Оспанкулова Г.Х., Байкенов А.О. Ксилроза алу үшін жүгері собығын ферментативті гидролиздеу // Фонд первого президента Республики Казахстан – лидера нации. Инновационное развитие и востребованность науки в современном Казахстане IX Международная научная конференция.- Алматы.- 2015.- 228 с.

21 Пат. 30795 РК. Способ получения ксилита из стержней початков кукурузы / Д.К. Айтмуханбетов; С.Ж. Тажина; Г.Х. Оспанкулова; А. Ө. Байкенов; опубл. 25.12.2015, Бюл. № 12.- 3с.

22 Литвяк В.В., Росляков Ю.Ф., Оспанкулова Г.Х., Грабовская Е.В., Мельситова И.В., Полуботько О.В. Получение, Фазовый анализ нативного и криомодифицированного пшеничного крахмала // Известия ВУЗов. Пищевая технология. 2014.- №4. –С. 21-24.

23 Сарбасова Г.Т., Сакенова Б.А. Лен - высокоперспективная культура для переработки // Общественно-политическая газета «Акмолинская правда», март 2016 г. №35 от 19.03.2016 стр 5.

24 G. Philip Robertson, Katherine L. Gross, Stephen K. Hamilton, Douglas A. Landis, Thomas M. Schmidt, Sieglinde S. Snapp, Scott M. Swinton. Farming for Ecosystem Services: An Ecological Approach to Production Agriculture // Bioscience.- 2014 –P.- 64(5): 404–415.

25 Makhatov Zh.B., Kedelbaev B.Sh., Lakhanova K.M., Aimenova Zh.E., Adilkhanov S.I. Prospects of use of enzymatic treatment of wheat straw for glucose production // ICITE-2017 October 26-27, Shymkent, UKGU -2017.-P. 115-120.

26 Murzin, D., Salmi, T. Catalysis for Lignocellulosic Biomass Processing: Methodological Aspects // Catalysis Letters. – 2012. – V. 142. – N 6. – P. 676-689.

27 Van de Vyver, S., Geboers, J., Jacobs, P. A., et al. Recent Advances in the Catalytic Conversion of Cellulose // ChemCatChem. – 2011. – V. 3. – P. 82-94.

28 Роговин З.А. Химия целлюлозы. – М.: Химия, 1972. – 520 с.

29 Нуртдинов Р.М., Валеева Р.Т., Емельянов В.М., МухачевС.Г., Харина М.В. Кинетика ферментативного гидролиза растительного сырья // Биохимия и биотехнология издательство ИКЦ «Академкнига», (Москва) – 2011. - №5. – С.211-213.

30. Никитин, В.М., Оболенская, А.В., Щеголев, В.П. Химия древесины и целлюлозы – М.: Лесная промышленность, 1978. – 368 с.

31 Dadi A.P., Schall C.A., Varanasi S. Enzymatic hydrolysis of cellulose materials treated with ionic liquid // Chinese Science Bulletin. – 2007. - № 51. – P. 2432-2436.

32 Нуртдинов Р.М., Валеева Р.Т., МухачевС.Г., Харина М.В. Предварительная обработка растительного сырья и отходов сельскохозяйственного производства с целью повышения выхода редуцирующих веществ // Вестник Казанского технологического университета. – 2011. - №6. – С. 143-147.

33 Makhatov Zh.B., Kedelbaev B.Sh., Doltayeva B.Z., Orazova M.M., Taizhanova M.A., Arystanova S.D., Mamatkulova F.A. Research of enzymatic hydrolysis processes of wheat's straw by liquid cellulolytic enzymatic agents// International Conference // Actual problems of applied sciences Journal World город издательство.- 2018.-P.11-17.

34 Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды. Перевод с английского. Предисловие В.Г. Дебабова.- М: Мир.- 1987г.- 411 с.

35 Singh, R., Shukla, A., Tiwari, S., et al. A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential // Renewable Sustainable Energy Review. – 2014. – V. 32. – P. 713-728.

36 Kim, J. S., Lee, Y. Y., Kim, T. H. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass // Bioresource Technology. – 2016. – V. 199. – P. 42-48.

37 Стейнифорт А.Р. Солома злаковых культур. – М.: Колос, 1983. – 193 с.

38 Пат. 2109059 РФ. Способ пееработки растительного сырья для получения пентозный гидролизатов, содержащих, преимущественно, ксилозу/

С.Д. Блинков; Ю.Б. Букин; М.М. Неймотин; А.Л. Федоров; заявл. 30.10.1997; опубл. 20.04.1998.

39 Пат. РБ 3346. Способ получения фурфурола. МПК С 07 D 307/48. Болтовский В. С., Цедрик Т. П., Ариас А. Э. Опубл. 20.12.99.

40 Болтовский В. С. Новые технологические процессы гидролитической и биохимической переработки растительной биомассы. Минск: БГТУ, 2009.- 191с.

41 Синицын А. П., Гусаков А. В., Черноглазов В. М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов. М.: Изд-во МГУ, 1995. 224 с.

42 Синицын А.П., Колесов А.А. Влияние предобработки на эффективность ферментативного превращения хлопкового линта // Прикладная биохимия и микробиология. – 1981. – Т. 17, № 5. – С. 682-695.

43 Ponomarev A.V. Phase distribution of products of radiation and post-radiation distillation of biopolymers: Cellulose, lignin and chitin / A. V. Ponomarev, E. M. Kholodkova, A. K. Metreveli // Radiation Physics and Chemistry. - 2011. - №80(11). - P. 1186-1194

44 Chum H.L., Douglas L.J., Feinberg D.A. Evaluation of pretreatments of biomass for enzymatic hydrolysis of cellulose // Solar energy research institute. – 1985. - №1. – P. 1-64.

45 Shengdong Z., Yuaxing Wu., Ziniu Y., Xia Z., Hui L., Ming G. The effect of microwave irradiation on enzymatic hydrolyses of rice straw // Bioresource technology. – 2006. - #97. – P. 1964-1968.

46 Taherzadeh, M.J. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review / M.J. Taherzadeh, K. Karimi // International Journal of Molecular Sciences. - 2008. - 9(9). - P. 1621-1651

47 Linde M., Jakobsson E.L., Galbe M., Zacchi G. Steam pretreatment of delute H₂SO₄ impregnated wheat straw SSF with low yeast and enzyme loading for bioethanol production // Biomass and bioenergy. 2008 - №32. – P. 326-332.

48 Murzin, D., Salmi, T. Catalysis for Lignocellulosic Biomass Processing: Methodological Aspects // Catalysis Letters. – 2012. – V. 142. – № 6. – P. 676-689.

49 Saha B.C., Cotta M.A. Ethanol production from alkaline peroxide pretreated enzymatically accharified wheat straw // Biotechnologically progress. – 2006. - №22. – P. 449-453.

50 Харина М. В. Влияние предварительной обработки на изменение структуры целлюлозосодержащего сырья // М. В. Харина, В. М. Емельянов // Башкирский химический журнал. – 2013. - №3 – С. 119 – 121.

51 Sun X.F., Fowler F.C., Bairdd P. Characteristic of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw // Carbohydrate research. – 2005. - №4. – P.94-106.

52 Будаева, В.В. Пути полной и экологически чистой переработки возобновляемого растительного сырья / В.В. Будаева, Р.Ю. Митрофанов, В.Н. Золотухин, М.В. Обрезкова и др. // Ползуновский вестник. - 2010. – Вып. 4-1. - С. 158-167.

- 53 Samson R.A. Paecilomyces and some Allied Hyphomycetes // Studies in Mycology.- 1974. -№6.- p.105.
- 54 Панкратов Т.А. Бактериальные сообщества сфагновых болот и их участие в деструкции природных полимеров: автореф. дис. ... канд. биол. наук. / Т.А.Панкратов. – М., 2007. – 26 с.
- 55 Терехова В.А., Семёнова Т.А. Структура сообществ микромицетов и их синэкологические взаимодействия с базидиальными грибами в ходе разложения растительных остатков // ОмГМУ: Омск, Микробиология. - 2005. - Т.74.- № 1.- С. 104-110.
- 56 Salvachúa D., Prieto A., López-Abelairas M., Lu-Chau T., Martínez A., Martínez M. Fungal pretreatment: an alternative in second-generation ethanol from wheat straw // Bioresource technology. – 2011. - №10. – P. 7500-7506.
- 57 Воробьев Н.И., Свиридова О.В., Попов А.А., Русакова И.В., Петров В.Б. Графанализ генно-метаболических сетей микроорганизмов, трансформирующих растительные остатки в гумусовые вещества // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – №3. – С.88–93.
- 58 Eriksson K.E.-In: Bioconversion of cellulosic substances into energy, chemicals and microbial protein / К.Е.Еriksson// Delhi: Aroon Parie et Thomson Press,город, 1977 – 197 р.
- 59 Родионова Н.А. Целлюлазы микроорганизмов / Н.А. Родионова. - М.: Наука, 1981. – 213с.
- 60 Имшенецкий А.А. Микробиология целлюлоза / А.А.Имшенецкий. - М.:изд-во АН СССР, 1979. - 89с.
- 61 Ахмедова, З.Р. Лигнинолитические ферменты базидиальных грибов. Лигнин – пероксидазы гриба *Pleurotus ostreatus* УЗБИ-ZAX 108. II. Выделение, очистка и характеристика изоферментов / З.Р. Ахмедова // Биохимия – 1996. – Т. 61, № 8. – С. 1385 – 1394.
- 62 Болобова А.В. Сравнение эффективности гидролиза микрокристаллической целлюлозы целлюлазами бактериального и грибного происхождения / А.В. Болобова, А.А. Клесов // Прикладная биохимия и микробиология. - М.: Наука, 1990. – Т.26. - С.321-327.
- 63 Garcia J.L., Patel B.K.C., Ollivier B. Taxonomic, phylogenetic and ecological diversity of methanogenic Archaea // Anaerobe. – 2000. – No.6. – P.205–226.
- 64 Вернадский С.Н. Микробиология почв – проблемы и методы / С.Н. Вернадский. - М.: 1952. - 762с.
- 65 Ahmad, M. Development of novel assays for lignin degradation: comparative analysis of bacterial, fungal lignin degraders / M. Ahmad, 135 C.R. Taylor, D. Pink, K. Burton, D. Eastwood, G.D. Bending, T.D.H. Bugg // Molecular Biosystems. – 2010. – P. 815 – 821.
- 66 Patel S.J., Onkarappa R., Shobha K.S. Comparative Study of Ethanol Production from Microbial Pretreated Agricultural Residues // J. Appl. Sci. Environ. Manage. December, 2007.- Vol. 11(4).- P137 – 141.

- 67 Antongiovanni, M. Variability in chemical composition of straws / M. Antongiovanni, C. Sargentini, Eds: J.-L. Tisserand, X. Alibés // *Fourrages et sous-produits méditerranéens*. – Zaragoza: CIHEAM, 1991. – P. 49–53.
- 68 Новый справочник химика и технолога. Сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ. Ч. II. – СПб.: АНО НПО «Профессионал», 2005, 2007. – 1142 с.
- 69 Yu, H. Arrangement of cellulose microfibrils in the wheat straw cell wall / H. Yu, R. Liu, D. Shen, Z. Wu, Y. Huang // *Carbohydrate Polymers*. – 2008. – № 1. – P. 122–127.
- 70 Liu, R. Structure and morphology of cellulose in wheat straw [Текст] / R. Liu, H. Yu, Y. Huang // *Cellulose*. – 2005. – V. 12. – № 1. – P. 25–34.
- 71 Hendriks, A.T.W.M. Pretreatments to enhance digestibility of lignocellulosic biomass [Текст] / A.T.W.M. Hendriks, G. Zeeman // *Bioresource Technology*. – 2009. – V. 100. – № 1. – P. 10–18.
- 72 Kim, J.W. Optimization of phosphoric acid catalyzed fractionation and enzymatic digestibility of flax shives / J.W. Kim, G. Mazza // *Industrial Crops and Products*. – 2008. – V. 28. – № 3. – P. 346–355.
- 73 Biricik, H. Study of pozzolanic properties of wheat straw ash / Biricik H., Aköz F., Berktaş I., Tulgar A.N. // *Cement and Concrete Research*. – 1999. – Vol. 29. – № 5. – P. 637–643.
- 74 Puri M., Sharma D., Barrow C.J. Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants // *Trends in Biotechnology*. – 2012. – Vol. 30. – № 1. – P. 37–44.
- 75 Блиева Р.К., Саданов А.К., Шорманова Ш.Ш. Ведущая роль мацерирующих ферментов в утилизации сельскохозяйственных отходов // *Доклады национальной академии наук Республики Казахстан*. – 2015. – №5. – С. 106–113.
- 76 Джакашева М.А. Технология получения пектолитического ферментного препарата, применяемого для улучшения органолептических показателей красных столовых вин: дис. ... док. PhD. - Алматы, 2017 г. – 139 с.
- 77 Рабинович М.А., Мельник М.С., Болобова А.В. Целлюлазы микроорганизмов (обзор) // *Прикл. биох. микробиол.* – 2002. – Т.38, №4. – С.355–373.
- 78 Bhat M.K. Cellulases and related enzymes in biotechnology // *Biotechnology Advances*. – 2000. – V. 18. – P. 355–383.
- 79 Shoseyov O., Shani Z., Levy I. Carbohydrate binding modules: biochemical properties and novel applications // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2006. – No.70. – P.283–295.
- 80 Rabinovich M.L., Melnick M.S., Bolobova A.V. The structure and mechanism of action of cellulolytic enzymes // *Biochemistry*. – 2002. – No.67. – P.850–871.
- 81 Bhat M.K., Bhat S. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications // *Biotechnol. Adv.* – 1997 – No.15. – P.583– 620.

- 82 Rawat R., Tewari L. Effect of abiotic stress on phosphate solubilization by biocontrol fungus *Trichoderma* sp. // *Curr. Microbiol.* – 2011. – Vol.62. – No.5. – P.1521–1526.
- 83 Barr B.K., Hsieh Y– L., Ganem B., Wilson D.B. Identification of two functionally different classes of exocellulases // *Biochemistry.* – 1996. – No.35. – P.586–592.
- 84 Бабунова, М.В. Способы утилизации отходов полимеров / М.В. Бабунова, Ю.А. Прочухан // *Вестник башкирского университета.* – 2008. – Т. 13. – № 4. – С. 875 – 885.
- 85 Bershak O.V. Development of a new efficient and ecologically friendly method for obtaining biologically active substances / O.V. Bershak, A.A. Politov // *International Conference on Mechanochemistry and Mechanical Alloyng.* – Novosibirsk, 2006. – P. 254.
- 86 Биотехнологическая переработка отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности / М.М. Шамцян, Б.С. Колесников, А.А. Клепиков [и др.] // *Российский химический журнал.* – 2011. – Т. LV, № 1. – С. 17 – 25.
- 87 Борисенков, М.Ф. Действие ферментов на солому злаков / М.Ф. Борисенков, А.А. Шубаков, Л.С. Кочева // *Химия растительного сырья.* – 2011. – № 4. – С. 19 – 23.
- 88 Ларина Л.Н., Павлова Н.М., Шишкова Э.А., Бравова Г.Б. Оптимизация биосинтеза ксиланазы микроскопическим грибом *Trichoderma viride* // *Биотехнология.* - 2005. - № 4. - С.29-37.
- 89 Бутова, С.Н. Биотехнологическая деградация отходов растительного сырья / С.Н. Бутова. – М.: Россельхозакадемия, 2004. – 320 с.
- 90 Гнеушева, И.А. Биотехнологические подходы для получения белково-углеводных кормовых добавок для животноводства / И.А. Гнеушева, И.В. Горькова, В.Н. Дедков // *Развитие инновационного потенциала агропромышленного производства: Мат. Всероссийской научно-практ. конф.- 24 ноября 2010 года.* – Орел: Изд-во ОрелГАУ, 2010. – С. 45 – 48.
- 91 Ларина Л.Н. Направленный биосинтез ксиланазы микроскопическим грибом *Trichoderma viride* 44-11-62/3 и разработка технологии получения ферментного препарат: автореферат...канд.биол. наук.05.02.03-Алматы, 2013-78с.
- 92 Родионова Н.А., Безбородов А.М. О локализации систем ферментов, катализирующих расщепление полисахаридов растительных клеточных стенок у высших растений. Пектиназы: Обзор // *Прикладная биохимия и микробиология.* – 1997. - №5. - С.467-487.
- 93 Яруллина Л.Г., Ахатова А.Р., Касимова Р.И. Гидролитические ферменты и их белковые ингибиторы в регуляции взаимоотношений растений с патогенами // *Физиология растений.* – 2016. - №2. – С. 205-217.
- 94 Рубцова А.Е., Бушина Е.В., Рожкова А.М., Короткоа О.Г., Немашкалов В.А., Кошелев А.В., Сеницын А.П. Новые ферментные препараты с высокой активностью пектиназ и гемицеллюлаз на основе штаммов-

продуцентов *Penicillium canescens* // Прикл. хим. и микробиол. – 2015. – Т. 51, №.5. – С. 502-510.

95 Philippe R., Martine M., Gilbert B., Martine B. Pectin methylesterase from *Botrytis cinerea*: physiological, biochemical and immunochemical studies // Microbiology. – 1994. – Vol. 140. – P. 3249-3255.

96 Марков А.В., Гусаков А.В., Кондратьева Е.Г., Окунев О.Н., Беккаревич А.О., Синицын А.П. Новый эффективный метод анализа компонентного состава ферментных комплексов *Trichoderma reesei* // Биохимия. - 2005. -Т. 70.- № 6. - С. 796–804.

97 Rajendran R., Karthik Sundaram S., Radhai R., Rajapriya P., Balakumar C. Production and optimization of fungal pectinase from *Fusarium* sp. // International Journal of Current Research. -2011. -Vol. 3, issue 4. - P.254-258.

98 Channel P. S., G. Shewale. Pectinase production by *Sclerotium rolfsii*: Effect of culture conditions // Folia Microbiologica. – 1995. –Vol. 40.- issue 1. – P. 111–117.

99 Skare N. H., Paus F., Raa J. Production of pectinase and cellulase by *Cladosporium cucumerinum* with dissolved carbohydrates and isolated cell walls of cucumber as carbon sources // Physiologia plantarum. -1975. – Vol.33.- issue 3. – P. 229-333.

100 Сафронова Л.А., Осадчая А.И., Иляш В.М., Мишак Е.В. Бактерии рода *Bacillus* – активные продуценты гидролитических ферментов // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. Біологія. – 2006. –Вип. 19. – С. 155-159.

101 Калунянц К.А., Голгер Л. И. Микробные ферментные препараты (технология и оборудование). - М.: Пищевая промышленность, 1979. -304 с.

102 Nissinen R.M. Analyses of the secretomes of *Erwinia amylovora* and selected hrp mutants reveal novel type III secreted proteins and an effect of HrpJ on extracellular harpin levels //Molecular Plant Pathology. - 2007. -Vol. 8, № 1.- P. 55–67.

103 Uhlig H. Industrial enzymes and their applications. –New York: Wiley, 1998 - 454 p.

104 Martinez A.T., Speranza M., Ruiz–Duenas F.J., Ferreira P., Camarero S., Guillen F., Martinez M.J., Gutierrez A., del Rio J.C. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin // Int. Microbiol. – 2005. – No.8. –P.195–204.

105 Martinez D., Challacombe J., Morgenstern I., Hibbett D., Schmoll M., Kubicek C.P., Ferreira P., Ruiz–Duenas F.J., Martinez A.T., Kersten P. Genome, transcriptome, and secretome analysis of wood decay fungus *Postia placenta* supports unique mechanisms of lignocelluloses conversion // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – No.106. – P.1954–1959

106 Grant, W. D., Long, P.E. Environmental Microbiology. – US: Springer, 1981. – 226 p.

107 Грачева И.М., Биотехнология биологических активных веществ / И.М. Грачева, Л.А. Иванова. – М.: Элевар, 2006. – 453 с.

- 108 Грачева, И.М. Технология микробных белковых препаратов, аминокислот и биоэнергия / И.М. Грачева, Л.А. Иванова, В.М. Кантере. М.: Колос, 1992. – 383 с.
- 109 Wilson D.B. Microbial diversity of cellulose hydrolysis // Current Opinion in Microbiology. – 2011. – No.14. – P.259–263.
- 110 Irwin D.C., Spezio M., Walker L.P., Wilson D.B. Activity studies of eight purified cellulases: specificity, synergism, and binding domain effects // Biotechnol. Bioeng. – 1993. – No.42. – P.1002– 1013.
- 111 Грачева И.М., Кривова А.Ю. Технология ферментных препаратов. – М.: Изд-во «Элевар», 2000. - 512с.
- 112 Джакашева М.А., Кедельбаев Б.Ш., Елеманова Ж.Р., Балхибеков Р.М. Получение мультиэнзимного комплекса для виноделия // Вестник государственного университета им. Шакарима г. Семей. – 2016. – Т. 1.- № 4 (76). – С. 130-135.
- 113 Донцов А.Г., Шубаков А.А. Пектинолитические ферменты: очистка, активация, микробиологический синтез. - Екатеринбург: УрО РАН, 2010. –164 с.
- 114 Волчок А.А., Рожкова А.М., Зоров Н.Н., Щербаков С.С., Сеницын А.П., Пушина Е.В. Использование ферментных комплексов нового поколения для обработки различных плодово-ягодных субстратов // Виноделие и виноградарство. – 2012. - №1. - С. 20-21.
- 115 Алеева С.В., Лепилова О.В. Комплексный подход к ферментативному разрушению полимерных примесей при облагораживании льняных тканей // Текстильная химия. – 2005. – №1. – С. 28-35.
- 116 Doi R.H., Tamaru Y. The *Clostridium cellulovorans* cellulosome: an enzyme complex with plant cell wall degrading activity // Chem. Rec. – 2001. – No.1. – P.24–32.
- 117 Джакашева М.А., Либерцайт П. Иммобилизация комплекса экзоферментов в криогель поливинилового спирта // Eurasian journal of applied biotechnology. – 2017. - № 1. - С. 51-57.
- 118 Makhatov Zh.B., Kedelbayev B.Sh., Lakhanova K.M. Study of the process of sorbitol production from wheat straw // News of the national academy of sciences of the republic of Kazakhstan of the Institute of Plant Biology and Biotechnology // Series of Biological and medical // 2018. №1(325) p. 51-57.
- 119 Li L.L., McCorkle S.R., Monchy S., Taghavi S., van der Lelie D.: Bioprospecting metagenomes: glycosylhydrolases for converting biomass // Biotechnol. Biofuels. – 2009. – No.18. –P.2–10.
- 120 Wilson D.B. Microbial diversity of cellulose hydrolysis // Current Opinion in Microbiology. – 2011. – No.14. – P.259–263.
- 121 Алимова Ф.К., Тазетдинова Д.И., Тухбатова Р.И. Биотехнология. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma*. – Казань: Казан. гос. ун-т, 2007. – 229 с.

122 Soliman H.M., Sherief A.-D.A., EL-Tanash A.B. Production of xylanase by *Aspergillus niger* and *Trichoderma viride* using some agriculture residues // Int. J. Agricult. Res. –2012. – V. 7, No 1. – P. 46–57. – doi: 10.3923/ijar.2012.46.57.

123 Буй Тхи Тху ха, Гернет М.В. разработка технологии мультиэнзимной композиции для биоконверсии растительного сырья на основе совместного культивирования микроскопических грибов. – М., 1993. -9 с. Деп. в ЦНИИТЭИ пищепрома, 21 декабря. 1993, №2545(27).

124 Штамм мицелиального гриба *Penicillium verruculosum* - продуцент комплекса целлюлаз, ксиланазы и ксилоглюканазы и способ получения ферментного препарата комплекса целлюлаз, ксиланазы и ксилоглюканазы для гидролиза целлюлозы и гемицеллюлозы. Синицын аркадий пантелеймонович, окунев олег николаевич, черноглазов владимир михайлович, синицына ольга аркадьевна, попов владимир олегович Тип: патент на изобретение Номер патента: 2361918 Страна: Россия Год: 2009 Дата регистрации: 26.02.2008 Номер заявки: 2008106829/13 Патентообладатели: Общество с ограниченной ответственностью Научно-производственная компания "Фермтек" Адрес: 123368, Москва, а/я 84, Е.Б. Дульневой МПК: С 12 N 9 42, С 12 Р 19 00, С 12 R 1 80.

125 Сушкова В.И., Устюжакнинова Л.В. Ферментативный гидролиз отходов от переработки растительного сырья // Общество, наука, инновации (НТК-2011): Материалы Всероссийской научно-технической конференции. Киров 2014. С.20-23.

126 Махатов Ж.Б., Кедельбаева Б.Ш., Калымбетов Г.Е., Кайпова Ж.Н., Омирбаева А.Е., Ихтиярова Г.А. Бидай сабанын полисахаридтерінен глюкоза алу үшін оптималды каталитикалық жүйелер жасау // Международной научно-практической конференции для магистрантов и студентов «Научные исследования – инструмент для новых возможностей развития» Том 2 // Шымкент 27.04.2018г. стр. 195-199.

127 Махатов Ж.Б., Кедельбаев Б.Ш., Лаханова К.М. Исследование процесса получения полисахаридов из отходов переработки пшеницы // Вестник // Евразийского национального университета имени Л.Н. Гумилева// Серия Биологические Науки // №1(122)/2018//стр.41-47.

128 Махатов Ж.Б., Кедельбаев Б.Ш., Лаханова К.М., Тайжанова М.А., Жаксыбаева Ж.Б., Тойжанова Б.К., Жаксылык А.А. Исследование процесса химического гидролитического гидрирования целлюлозы соломы пшеницы с целью получения сорбита // Материалы V Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации», г. Шымкент, Республика Казахстан 8-9 декабря 2017 года, Том I, №4(81), 2017, Стр. 89-91.

129 ГОСТ Р 55293-2012. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения целлюлазной активности. – Введ. 2014-01-01. – М.: Стандартинформ, 2014.

- 130 ГОСТ Р 54905-2012. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения β -глюканазной активности. – Введ. 2013-06-01. – М.: Стандартиформ, 2014.
- 131 ГОСТ Р 55302-2012. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Метод определения ксиланазной активности. – Введ. 2014-01-01. – М.: Стандартиформ, 2014.
- 132 ГОСТ Р 55298-2012. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения пектолитической активности. – Введ. 2014-01-01. – М.: Стандартиформ, 2014.
- 133 Иерусалимский Н.Д. Основы физиологии микробов. – М.: Изд-во АН СССР, 1963. – 195 с.
- 134 Lowry O.H., Roserbrough N.J., Fan A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. - 1951. - Vol. 193. - P. 265-275.
- 135 Пат. 2366931 Российская Федерация, МПК7 G 01 N 21/78. Способ определения содержания редуцирующих веществ в сахаросодержащих средах / Ю.Г. Хабаров, В.А. Вешняков, Н.Д. Камакина; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО Архангельский гос. технический университет Федерального агентства по образованию (Рособразование) (АГТУ). – № 2008108650/04; заявл. 05.03.08; опубл. 10.09.09, Бюл. № 25. – 7 с.
- 136 Karmakar M., Ray R.R. Current trends in research and application of microbial cellulases // Research J. Microbiology. – 2011. – Vol. 6, № 1. – P. 41–53.
- 137 Бабицкая В.Г. Грибы-продуценты физиологически активных веществ на лигниноцеллюлозе: биология и культивирование: дис. ... док. биол. наук. - Минск, 1991 г. – 346 с.
- 138 Саловарова В.П. Использование труднометаболизируемых отходов энзиматической конверсии растительных субстратов для получения внеклеточных целлюлаз/ Саловарова В.П., Мелентьев В.А. - "Бюллетень ВСНЦ СО РАМН", 2003, №7, с.85-88ю
- 139 Godfrey T., West S. Industrial enzymology: 2nd edition. – Hampshire: Macmillan Press Ltd., 1996. - 609 с.
- 140 Пат. 2018534 РФ. Способ получения комплекса целлюлолитических ферментов: МПК C12N9/42 / Н.А. Острикова; Н.М. Павлова; Э.В. Удалова; М.М. Малиновская; заявитель и патентообладатель Акционерное общество «Биотехнология». - № 5044358/13; заявл. 27.05.1992; опубл. 30.08.1994.
- 141 Джакашева М.А., Абубакирова А.А., Есимова А.М., Елеманова Ж.Р., Абилдаева Р.А. Сравнительный анализ способов культивирования мицелиального гриба *Aspergillus awamori* F-RKM 0719 / Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. - 2017. - №5 (323). - С. 144-150.
- 142 Джакашева М.А., Рысбаева Г. С., Есимова А. М., Нарымбаева З. К., Елеманова Ж. Р. Селекция штамма *Aspergillus awamori* для получения высокоактивного продуцента комплекса пектолитических ферментов / Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. - 2017. - №5 (323). - С. 165-173.

- 143 Джакашева М.А., Кедельбаев Б.Ш., Айткулова Р.Э., Махатов Ж.Б., Махатов Б.К. Изучение морфологических и биохимических особенностей штамма *A. awamori* F-RKM 0719 – продуцента пектиназ / Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік фармацевтика академиясы хабаршы. – 2017. – Т. V.- №4 (81). - С. 92-94.
- 144 Makhatov Zh.B., Kedelbayev B.Sh., Lieberzeit Peter, Dzhakashyeva M., Elemenova Zh., Abildayeva R., Altynbekov R., Akhanov U., Doltayeva B., Omirbayeva A., Akhmedova Z. Biosynthesis of cellulase with *Trichoderma viride* and *Aspergillus awamori* micromycetes in co-cultivation // *EurAsian Journal of BioSciences Eurasia J Biosci* 13, ISSN 1521-1526.- 2019.- P.1521-1526.
- 145 Prasanna B.D., Sathyanarayana N. Gummadi, Praveen V. Vadlani. *Biotechnology and Biochemical Engineering. Select Proceeding of ICACE.* Singapore: Springer.-и2015. - p.239 .
- 146 Wang Y., Song X., Zhang S., Shu Z., He C., Huang Q., Yao L. Improving the activity of *Trichoderma reesei* cel7B through stabilizing the transition state. *Biotechnol Bioeng.* doi: 10.1002/bit.25887.- 2016.P. -113(6).
- 147 Karapinar, E. Scouring of cotton with cellulases, pectinases and proteases / E. Karapinar, M. Sariisik // *Fibres & textiles in Eastern Europe.* – 2004. – V. 12.– № 3(47).– P. 79-82.
- 148 Рабинович, М. Л. Синергизм при совместном действии эндоглюканаз с высоким и низким сродством к целлюлозе / М.Л. Рабинович, Нгуен Ван-Вьет, А.А. Клесов // *Прикл. биохим. и микробиол.* – 1986. – Т. 2. – №1. – С.70-79.
- 149 Булахов А.Г., Чекушина А.В. Сравнение эффективности процессов биоконверсии растительного сырья ферментными препаратами продуцентов *Trichoderma* и *Penicillium*// *Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов», 8-13 апреля.- М.- 2013.- 203-209стр*
- 150 Яковлева М.Б., Никитина З.К. Скрининг-методы в биотехнологии: обзор. Часть I. Поиск микроорганизмов продуцентов ферментов // *Вопросы биологической, медицинской, фармацевтической химии.* – 2016. - №4. – С.23-32.
- 151 Hrmova M., Fincher G.B. Plant enzyme structure. explaining substrate specificity and the evolution of function // *Plant physiology.* – 2001. – Vol.125. - №1. – P. 54-57.
- 152 Махатов Ж.Б., Кедельбаев Б.Ш., Кудасова Д.Е., Елеманова Ж.Е., Махатов Б.Қ., Бұхарбаева А.Е. Бидай сабанын қантандыру процесін зерттеу // *Материалы международной научно-практической конференции «Инновационные достижения в современной фармации и медицине» 21-22 апреля 2017 года.-Шымкент, 2017.- Том I.- №1(78), С. 119-123.*
- 153 Махатов Ж.Б., Кедельбаев Б.Ш., Махатов Б.К., Патсаев А.К., Бухарбаева А.Е. Определение влажности соломы пшеницы // *Мат. IV Международной научной конференции молодых ученых и студентов*

«Перспективы развития биологии, медицины и фармации», г. Шымкент, 9-10 декабря 2016 года.- 2016.- Том I.-, №4(77), С.7-8.

154 Махатов Ж.Б., Кедельбаев Б.Ш., Махатов Б.К., Патсаев А.К., Бухарбаева А.Е. Определение редуцирующих веществ соломы пшеницы фотоколориметрическим методом // Материалы международной научно-практической конференции «Инновационные достижения в современной фармации и медицине» 21-22 апреля 2017 года, г. Шымкент, 2017.-Том I.- №1(78).- С 154-156.

155 Kuznetsov B.N., Chesnokov N.V., Yatsenkova O.V., Sharypov V.I. New methods of heterogeneous catalysis for lignocellulosic biomass conversion to chemicals // Russian Chemical Bulletin.- 2013. -Vol. 62. N 7.- P. 1493-1502.

156 Kushnir E.Y., Autlov S.A., Bazarnova N.G. Preparation of microcrystalline cellulose directly from wood under microwaveradiation // Russian journal of bioorganic chemistry. 2015.- Vol. 41. -№ 7.- P. 713-718.

157 Королев М.Г., Ломовский О.И., Рожанская О.А., Васильев В.Г. Химия природных соединений.-город издательство, 2003.- Т.39.- С. 366-372.

158 Arai K Toward biotechnology/: The mission of IUBMB in the 21st century. IUBMB Life.- издательство город,-2006.-Р. 267-268.

159 Махатов Ж.Б., Кедельбаев Б.Ш., Балабаева Э.Н., Назарбекова А.А. Исследование процесса получения сорбита из пшеничной соломы // Сборник научных трудов магистрантов, PhD докторантов и молодых исследователей ЮКГУ им.М.Ауэзова.- Шымкент, 2016.- С. 20-23.

160 Патент РФ. Способ ферментативного осахаривания лигноцеллюлозных материалов. Бычков Алексей Леонидович, Ломовский Олег Иванович.- подача заявки: 2012-08-28. публикация патента: 27.04.2014

161 Makhatov Zh.B., Kedelbayev B.Sh., Lieberzeit Peter, Rysbayeva G.A., Kaipova Zh.N. Study of the combined hydrolysis-hydrogenation of wheat straw cellulose in order to obtain sorbitol // News of the national academy of sciences of the republic of Kazakhstan of the Institute of Plant Biology and Biotechnology // Series of Biological and medical.- 2018.-№3(327).- P. 36-40.

Қосымшалар

Қосымша А
Пайдалы модельге патент



ВЫПИСКА ИЗ ГОСУДАРСТВЕННОГО РЕЕСТРА ПОЛЕЗНЫХ МОДЕЛЕЙ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Статус: Действует

(11) № охранного документа	3429
(13) Охранный документ	Патент на Полезную Модель
(21) Номер заявки	2018/0277.2
(22) Дата подачи заявки	21.04.2018
(51) МПК	C13K 1/02 (2006.01)
(54) Название	Способ получения растворов глюкозы из соломы пшеницы
(73) Патентообладатель	Махатов Жаксылык Бауманұлы
(72) Автор(-ы)	Махатов Жаксылык Бауманұлы, Makhatov Zhaksylyk Baumanuly
(45) Номер и дата бюллетеня	№ 45 - 30.11.2018
Срок действия	30.07.2019

Дата формирования выписки: 29.01.2019





1862730

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ӘДІЛЕТ МИНИСТРЛІГІНІҢ
"ҰЛТТЫҚ ЗИЯТКЕРЛІК МЕНШІК
ИНСТИТУТЫ"
ШАРУАШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУ
ҚҰҚЫҒЫНДАҒЫ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
МЕМЛЕКЕТТІК КӘСІПОРНЫ



РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ НА ПРАВЕ
ХОЗЯЙСТВЕННОГО ВЕДЕНИЯ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ»
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Қорғалжын тас жолы, 3Б ғимараты, Астана қ. Қазақстан Республикасы, 010000
<http://www.kazpatent.kz>, e-mail: kazpatent@kazpatent.kz

шоссе Қорғалжын, здание 3Б, г. Астана, Республика Казахстан, 010000
<http://www.kazpatent.kz>, e-mail: kazpatent@kazpatent.kz

Дата поступления заявки: 21.04.2018

Махатов Жаксылык Бауманұлы
мкр. Нурсат, д. 198, кв. 23, г.
Шымкент, 160023 mjasik92@mail.ru

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о выдаче патента на полезную модель

(21) Заявка № 2018/0277.2
(22) Дата подачи заявки 21.04.2018

ПРИОРИТЕТ УСТАНОВЛЕН:



☒ (22) по дате подачи заявки

☐ (23) по дате поступления

☐ дополнительных материалов от к более ранней заявке №

☐ (66) по дате подачи ранее поданной заявки № от

☐ (62) по дате подачи первоначальной заявки № от

☐ по дате подачи первой заявки в государстве-участнике Парижской конвенции

(31) № приоритетной заявки (32) Дата подачи приоритетной заявки (33) Код страны приоритетной заявки

(85) Дата перевода международной заявки на национальную фазу

(86) Регистрационные данные заявки РСТ

(71) Заявитель(и) Махатов Жаксылык Бауманұлы (KZ)

(72) Автор (ы) Махатов Жаксылык Бауманұлы (KZ)

(73) Патентообладатель (и) Махатов Жаксылык Бауманұлы (KZ)

(51) МПК C13K 1/02 (2006.01)

(54) Название полезной модели Способ получения растворов глюкозы из соломы пшеницы
Бидай сабанынан глюкоза ерітіндісін алу тәсілі

Қосымша Б Акт

Ф.7.07-14

Согласовано:
Проректор по ИР и И
М.И. Сатаев
(Ф.И.О., подпись)
«29» 04 2018 г.

Утверждаю:
Проректор по У и УМР
К.С. Байболов
(Ф.И.О., подпись)
«29» 04 2018 г.

АКТ

№375 31.05.2018

Внедрения результатов диссертационной работы Махатова Ж.Б. «Разработка ферментативной деполимеризации полисахаридов соломы пшеницы с целью получения глюкозы и сорбита» и в соответствии с темой НИР Б-16-07-02 «Исследование биологически активных веществ для получения лекарственных препаратов, а также разработка методов переработки растительного сырья».

Настоящий акт составлен по итогам диссертационной работы, выполненной докторантом PhD на кафедре «Биотехнология» в 2015-2018 гг.

Настоящим актом подтверждается, что результаты диссертационной работы «Разработка ферментативной деполимеризации полисахаридов соломы пшеницы с целью получения глюкозы и сорбита», выполненные Махатовым Ж.Б. - докторантом группы ДХТ-15-1р под руководством д.т.н., профессора Кедельбаева Б.Ш. внедрены в учебный процесс на кафедре «Биотехнология» в лабораторные занятия дисциплины «Biotechnology of microorganisms», модуль «Products manufactured demicrobiological methods: amino acids, enzymes, vitamins, polysaccharides and lipids», тема: «Study of fermentation activity of microorganisms».

Результаты диссертационной работы Махатова Ж.Б. опубликованы в изданиях:

1. Глубокая переработка углеводсодержащих сельскохозяйственных и промышленных растительных отходов. Монография «Мини типография ЮКГФА», 2017г. ISBN 978-601-305-243-4 / стр. 121

2. Бидай сабадын полисахаридтерен глюкоза алу үшін оптималды каталитикалық жүйелер жасау. Международной научно-практической конференции для магистрантов и студентов «Научные исследования - инструмент для новых возможностей развития» Том 2 // Шымкент 27.04.2018г. стр. 195-199.

Научный руководитель
Кедельбаев Б.Ш.

Доктор PhD
Джакашева М.А.
Преподаватель
Кудасова Д.Е.

Директор ДАВ
Назарбекова С.П.

Директор НИУ
Назарбек У.

Начальник отдела технических наук
Серкебаев М.К.