

МИКРООРГАНИЗМЛАРДАН ЛИМОН КИСЛОТАСИ АЖРАТИБ ОЛИШ

Саттаров Абдумурод Саттарович,
б.ф.н., ТерДУ доценти,
Болтаева Сурайё Жўра қизи,
Камолова Нилуфар Нормўмин қизи,
ТерДУ 1-босқич магистрантлари.

Аннотация: Лимон кислотаси тиббиётда, озиқ-овқат ишлаб чиқаришда, кимёвий ва енгил саноатда жуда кенг миқёсда қўлланилади. Маълумотларга кўра, дунё миқёсида лимон кислотасининг ишлаб чиқарилиш ҳажми йилига 400 минг тоннани ташкил этади. Ушбу мақолада лимон кислотасининг олиниши, саноат асосида синтез қилиш, озуқа муҳитининг юза қисмида ўстириш ҳамда суюқ озуқа муҳитида ўстириш усулидаги ферментация босқичлари ёритилган.

Таянч сўзлар: лимон кислота, *Аспергиллус нигер* штамми, меласса, ферментация, нейтрализация, културал суюқлик, кальций цитрат, кальций оксалат, кальций глюконат.

Аннотация: Лимонная кислота широко применяется в медицине, пищевой, химической и легкой промышленности. По данным, мировое производство лимонной кислоты составляет 400 тысяч тонн в год. В этой статье описаны этапы ферментации при производстве лимонной кислоты, промышленный синтез, поверхностное выращивание в питательной среде и выращивание в жидкой среде.

Ключевые слова: лимонная кислота, штамм *Aspergillus niger*, патока, ферментация, нейтрализация, культуральная жидкость, цитрат кальция, оксалат кальция, глюконат кальция.

Annotation: Citric acid is widely used in medicine, food, chemical and light industries. According to the data, the world production of citric acid is 400 thousand tons per year. This article describes the fermentation steps in citric acid production, industrial synthesis, shallow culture, and liquid culture.

Keywords: citric acid, *Aspergillus niger* strain, molasses, fermentation, neutralization, culture liquid, calcium citrate, calcium oxalate, calcium gluconate.

Лимон кислотаси тиббиётда, озиқ-овқат ишлаб чиқаришда, кимёвий ва енгил саноатда жуда кенг миқёсда қўлланилади. Маълумотларга кўра, дунё миқёсида лимон кислотасининг ишлаб чиқарилиш ҳажми йилига 400 минг тоннани ташкил этади. Лимон кислотасининг катта миқдорда ишлаб чиқарилишига жараёнида углерод манбаи сифатида углевод ва углеводородлардан фойдаланиш мумкин эканлиги тасдиқлангандан кейингина эришилди. [1]

Лимон кислотасининг продуцент микроорганизмлари микроскопик замбуруғлар (*Aspergillus niger*), ачитқилар (*Candida lipolytica*, *Candida quilliermondii*) ва бактериялар (*Corynebacterium*, *Arthrobacter*) ҳисобланадилар.

Россияда лимон кислотаси *Aspergillus niger* микроскопик замбуруғини мелассали озуқа муҳитида ўстириб, микробиологик синтез қилиш асосида олинади. Лимон кислотасини ишлаб чиқариш жараёни ўзида микробиологик технологиянинг барча асосий босқичларини мужассамлаштиради:

Экиш материални олиш;
Меласса - хом-ашёларъни ферментацияга тайёрлаш;
Ҳавони тайёрлаш ва стериллаш;
Ферментация;
Мицелиал замбуруғ-продуцентнинг биомассаларини ажратиш;

Културал суюқликдан лимон кислотасини ажратиш ва уни кристалл ҳолатга тушириш.

Лимон кислотаси синтез қилувчи продуцентларни юза қисмга, сиртда ва суюқлик ичига экиш усуллари орқали кўпайтириш мумкин. Лимон кислотасини бу усулларда ишлаб чиқаришнинг технологик чизмаси фақатгина ферментация

босқичида фарқланади. Қолган барча босқичлар бир хилда кечади. [2]

Тажриба қисми: Экув материали тайёрлаш. Махсус микробиологик музейларда сақланадиган *Aspergillus niger* штаммлари куруқ спора кўринишида (конидий) активлаштирилган кўмир аралашмасида сақланади. Дастлабки култура, пробиркаларда агарли озуқа муҳитида ривожланади, сўнгра колба ва кюветаларда қаттиқ озуқа муҳитида ўстирилади. Ўстириш ҳарорати 32°C бўлиб, ўстиришнинг давомийлиги ҳар бир босқичда 2 суткадан 7 суткагача давом этади.

Қаттиқ озуқа муҳитининг сиртида ўстирилганда конидий ҳосил қилувчи мицелиал қоплам ривожланади. Етилган конидийлар вакуум ускунаси ёрдамида йиғиб олинади. Йиғиб олинган конидийлар стерил ҳолдаги қўшимчаларга (талк ёки фаол кўмир) аралаштирилади ва 32°C ҳароратда қуритилади. Тайёр экиш материали стерил шиша колбаларга ёки 0,5 дан 1 литргача бўлган сифимли банкаларга қадоқланади. Бу усулда ишлов берилган экув материални сақлаш муддати 6 ойдан кам бўлмайди.

Хом-ашёларни тайёрлаш. Лимон кислотасини саноат асосида олиш учун субстрат сифатида шакар ишлаб чиқаришнинг қолдиқ маҳсулоти бўлган меласса қабул қилинган. Меласса аниқ стандартга (таркибга) эга бўлмаган хом-ашё ҳисобланади. Шунинг учун ҳам унинг ишлаб чиқаришга яроқлилиги лаборатория шароитида кичик ҳажмда назорат ферментацияси ўтказиб, текшириб кўрилгач белгиланади.

Сифатли меласса таркибида 46% дан кам билмаган шакар сақлайди. Агарда назорат ферментация жараёнида лимон кислотанинг чиқиши, юза қисмга экиш усулида 1,25 кг/(м²·сут)

ёки суюқликда экиш усулида 12 кг/(м³·сут) ни ташкил этса, бундай меласса ишлаб чиқариш учун яроқли деб ҳисобланади.

Озуқа муҳитининг юза қисмида ўстириш усулидаги ферментация. Юза қисмда ўстириш учун озуқа муҳити махсус қозонларда қайнатиб тайёрланади. Меласса сув билан 1:1 нисбатда суюлтирилиб олинадиган сульфат кислота қўшилиб, эритманинг рН кўрсаткичи 6,8-7,2 гача олиб борилади. Темир тузлари ва оғир металлларни чўктириш учун қайнатиш давомида аниқ миқдордаги сариқ қон тузининг эритмаси-калий гексацианоферроат (ГСФК) солинади.

Меласса эритмасига 60-70°C ҳароратда, бирин-кетин азот, фосфор (калий фосфат), макро ва микроэлементлар (рух, магний, калий ва бошқалар) манбалари қўшилади. Тайёр озуқа муҳити 45-50°C ҳароратда стерил идишга ўтказилади. Озуқанинг шакар сақлаши 12-16% ни ташкил этиши лозим.

Асосий ферментация кюветалар жойлашган ёпиқ бўлмалари мавжуд бўлган махсус стелажларда (жавонлар) амалга оширилади. Кюветалар тўғри бурчак шаклидаги алюминий ёки зангламайдиган пўлатдан тайёрланган бўлади. Кюветаларнинг узунлиги 7 м, эни 1,8 м, борт баландлиги 20 см гача бўлиши мумкин. Кюветалар озуқа муҳити билан тўлдирилади ва културал суюқлик штуцер орқали кювета тубига сизиб ўтиб турадиган бўлади. Камера, қиздирилган стерил ҳаво узатгич тизим билан жиҳозланади. Янги ферментация цикли олдиндан камералар ва кюветалар тозалаб ювилади ва пароформалин аралашмаси билан стерилланади, кейин эса пароаммиакли аралашмада дегазацияланади.

Стерилизацияланган ва совутилган камера кюветаларига озуқа муҳити 12 дан 18 см гача қатлам қилиб қўйилади. Махсус ускуналарда *Aspergillus niger* конидийлари, яъни экиш материали озуқа муҳитига пуркаб сепилади. Экишдан кейин бир кун ўтгач, юпка оқ-сарғиш мицелий қоплами ҳосил бўлади ва уч кун ўтгач қалинлашиб бурмали, қатлам-қатлам тузилишни намоеён қилади. Замбуруғ мицелийсининг фаол ўсиши жуда кам аэрацияда, 34-36°C ҳароратда таъминланади. [3]

Фаол кислота ҳосил бўлиш босқичида ҳарорат 32-34°C гача пасаяди, ҳаво узатилиши эса 3-4 марта оширилади. Кислота ҳосил бўлишининг жадаллигини пасайиши ва ажраладиган иссиқлик миқдори камайишининг олдини олиш учун камерага берилаётган ҳавони секин-аста камайитириб борилади.

Ферментация жараёни эритмада 1-2% шакар қолганда ва културал суюқликдаги кислотанинг миқдори 12-20% ни ташкил этганда тўхтатилади. Кюветалардан културал суюқлик маҳсулот йиғичга қўйилади, сўнгра кимёвий цехга ўтказилади. У ерда лимон кислота ажратилади. Културал суюқликнинг лимон кислотани сақлаши 12-20% ни ташкил этади. Мицелий кислоталардан иссиқ сув билан ювиб тозаланган ва шундан сўнггина қорамоллар учун озуқа сифатида қўлланилиши мумкин.

Суюқ озуқа муҳитида ўстириш усулидаги ферментация. *Aspergillus niger* замбуруғларини суюқ озуқада ўстириш орқали лимон кислотаси олиш жараёни 100 м³ ҳажмдаги ферментёрларда амалга оширилади. Экиш материали сифатида 10 м³ ҳажмдаги ферментёрлардан олинган ўсувчан мицелийлардан фойдаланилади.

Меласса эритмаси экув ва ишлаб чиқариш ферментёрлари учун худди юза қисмда ўстириш усулидагидек назоратдан ўтказилади, фақатгина суюқликда ферментация учун дастлабки меласса эритмасидаги шакарнинг миқдори 4% дан кам бўлмаслиги лозим. Агар ферментация жараёнида шакар миқдори кескин камайса, 25-28% шакар сақловчи стерил меласса эритмаси ёрдамида бу кўрсаткич меъёрига келтирилади. Ушбу эритма ферментёрдаги шакар умумий миқдори

12-15% га етгунча қўшилади.

Озуқа муҳити билан тўлдирилган экув ускунасида дастлаб термостатда 32°C ҳароратда, 5-6 соат сақланган конидий суспензияси қўйилади. Култура доимий аралаштириш ва аэрацияда 34-35°C ҳароратда ўстирилади. Ўстириш жараёнида ферментёрга ҳаво узатилиши қаттиқ назорат қилинади, яъни ҳавонинг сарфи ферментация охириларида бориб деярли 10 баробар ошади.

Жадал кўпикланиш давомида кўп бўлмаган миқдордаги (пеногацител) кўпикланишни тўхтатувчи моддалар солинади (олеин кислота).

Мицелийнинг етилиш жараёни 30-36 соат давом этади. Шу давр ичида културал суюқлик таркибидаги лимон кислотанинг миқдори 1-2% ни ташкил этади ва жараён тўхтатилади. Етилган мицелийлар ишлаб чиқариш ферментёрдаги озуқа муҳитига юборилади.

Ферментёрда кислота ҳосил бўлиш жараёни узлуксиз аэрация ва 31-32°C ҳароратда 5-7 сутка давом этади. Ҳаво сарфи бошланғич даврда 400 м³/с, ферментация охирида эса 2200 м³/с гача ошиб боради. Шакар миқдорини мўтадиллаштириб туриш учун, қўйиш эритмасидан вақти-вақти билан 2-3 марта қўшиб турилади. Бунда шакарнинг умумий миқдори эритмада 12-15% ни ташкил этиши лозим. Жараён охирида эса умумий кислоталилик ва шакар миқдори аниқланади.

Ферментация жараёни тугагандан сўнг културал суюқлик 60-65°C ҳароратгача бўлган ўткир буғда қиздирилади ва йиғичга қўйилади. У ердан эса мицелий биомассаларини ювиш ва ажратиш учун вакуум-филтрга узатилади. Ювилган мицелийлар қорамол озуқаси сифатида қўлланилади.

Асосий лимон кислота эритмаси эса сув таркибида кимёвий цехга лимон кислотасини ажратиш учун узатилади.

Лимон кислотасини ажратиш ва уни кристалл ҳолда олиш. Мицелийлар ажратилгандан сўнг културал суюқлик ўз таркибида лимон, глюкон ва оксалат кислота (шавел (қаҳраб) кислота)ларни аралашмаси, шакар чўкмалари ва минерал аралашмаларини сақлайди.

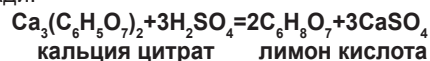
Културал суюқликдан лимон кислотани ажратиш олиш, унинг лимон кислотасининг уч кальцийли тузида кам эрувчанлик хусусиятини ҳосил қилишига асосланади.

Нейтрализация жараёни махсус ускуна – нейтрализаторда амалга оширилади, у ўз навбатида аралаштиргич ва буғли батареялар билан жиҳозланган бўлади. Културал суюқлик қайнаш даражасигача қиздирилади ва оҳақли ёки бўрли сут узлуксиз аралаштириш остида оз-оздан қўшиб борилади.

Нейтрализация озуқа муҳитининг рН кўрсаткичи 6,8-7,5 га тенг бўлганда тугалланади. Бунда барча - уч кислотанинг тузлари ҳосил бўлади. [4]

Кальций цитрат ва оксалат бунда чўкмага тушади, кальций глюконат ва минерал тузлар эритмада қолади. Кальций цитрат ва оксалат вакуум-филтрда эритмадан ажратилади ҳамда яхшилаб иссиқ сувда ювиб ташланади. Кальций цитрат аниқ миқдордаги сув билан аралаштириб, реакторга солинади ва унга фаол кўмир қўшилади (тиндиригич сифатида). Сўнгра реактор 60°C гача ҳароратда қиздирилади ва унга аралаштириш давомида аниқланган миқдордаги сульфат кислота қўйилади.

Аралашма 10-20 минут давомида қайнатилади. Кальций цитрат билан сульфат кислота орасида қуйидаги тенглама бўйича реакция кетади ва лимон кислотаси соф ҳолда ажралиб чиқади:



Кальций оксалат бу шароитда ажралмайди. Кальций цитрат тўлиқ ажралгандан сўнг, реакторга оғир металлларни чўктириш учун грануланган барий сульфат солинади. Лимон кислота эритмаси гипс, кальций оксалат, кўмир ва оғир металл тузларининг қолдиқларидан вакуум-филтр орқали ажратилади. Филтрланган лимон кислота эритмаси буғлантиришга йўналтирилади. Вакуум-ускунада буғлантириш икки босқичда амалга оширилади.

Биринчи ускунада эритма 1,24-1,26 г/см³ зичликкача буғлантирилади ва бунда гипс қолдиқлари чўкмага тушади. Зич-филтрда гипс ажратиб олингандан сўнг, тиниқ эритма иккинчи ускунада 1,35–1,36 г/см³ зичликкача буғлантирилади. Бунда эритмада лимон кислотанинг миқдори 80% ни ташкил этади.

Хулоса. 70°C ҳароратда вакуум-ускунада буғлантирилган эритма кристаллизаторга берилади. Кристаллизаторда эритма 35-37°C ҳароратгача совутилади натижада лимон кислота кристаллари пайдо бўла бошлайди. Кристаллизация тўхтовсиз аралаштириш ва босқичма-босқич 8-10°C гача совутиш орқали амалга оширилади. Ҳосил қилинган лимон кислота кристаллари центрифугалаш орқали ажратилади ва кўп бўлмаган миқдордаги совуқ сувда ювилиб қуриштиришга йўналтирилади.

Кристалл ҳолатдаги лимон кислотасини қуриштириш лентали ёки барабанли пневматик қуришгичда, 35°C дан ошмаган ҳароратли ҳавода амалга оширилади.

Тайёр препарат таркибида 99,5% дан кам бўлмаган миқдордаги лимон кислотасини (моногидратга ҳисоблаганда) сақлаши лозим.

АДАБИЁТЛАР:

1. К. Д. Давранов Биотехнология: Илмий, амалий ва услубий асослари. Ташкент, Патент-пресс 2008, 504 бет.
2. Alexander N. Glazer., Hiroshi Nikaido. Microbial biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology. Second Edition. Cambridge University Press. 2007. 554 p.
3. Nduka Okafor. Modern Industrial Microbiology and Biotechnology. India: Science Publisher. 2007. 523 p.
4. Қ.Д. Давранов. Саноат микробиологияси. "Фан ва технологиялар" нашриёти. Тошкент. 2013. 196 бет.

УЎТ: 504.062.2

ТАДҚИҚОТ САМАРАСИ

PLEUROTUS OSTREATUS ҚЎЗИҚОРИНИНИ СОФ КУЛЬТУРАСИНИ АЖРАТИШ ВА УРУҒЛИК МИЦЕЛИЙСИНИ ТАЙЁРЛАШ

Камалова Зулайхо Шавкатжон қизи, магистр,
Рахмонов Убайдулла Нормуродович, PhD,
Зупаров Миракбар Абзалович, б.ф.н., доцент,
Мамиев Мухиддин Саламович, б.ф.н., доцент, ТошДАУ

Аннотация: Мақолада *P.ostreatus* қўзиқорини мева таналари 5 та дарахт *Acer negundo* L.- заранг, *Morus alba* L. –тут, *Populus alba* L.- терак, *Salix excelsa* S.G.Gmel- тол ва *Ulmus uzbekistanica* Drob.- қайрағоч тўнкаларида учраши қайд этилган ва дарахтларда қўзиқорин ҳосил қилган меватаналардан унинг соф культурасини ажратиш олишда қўлланилган усуллар келтирилган. *P.ostreatus* тури замбуруғлар дунёсининг *Basidiomycota* бўлими, *Agaricomycetes* синфи, *Agaricomycetidae* кенжа синфига кириши аниқланди.

Калим сўзлар: *Pleurotus ostreatus*, *Basidiomycota*, *Agaricomycetes*, *Agaricomycetidae*, *Acer negundo* L., *Morus alba* L., *Populus alba* L., *Salix excelsa* S.G.Gmel, *Ulmus uzbekistanica* Drob., қўзиқорин, спора, замбуруғ, микроорганизм, озиқа муҳит, қалпоқча, мицелий, субстрат.

Жаҳон бўйича қўзиқоринларнинг 20 турга яқини саноат асосида кўпайтирилади ва уларни дунё бўйича ҳар йили етиштирилиши 30 млн тоннадан ортиқ. Булар орасида етиштирилдиган *P.ostreatus* - чиғаноқ қўзиқоринининг миқдори 6 млн тоннани ташкил этади. Бугунги кунда етакчи илмий марказларда *P.ostreatus* ни етиштириш бўйича замонавий технологияларни ишлаб чиқиш ва янги штаммларни яратиш бўйича илмий тадқиқот ишлари олиб борилмоқда. Республикамиз учун *P.ostreatus* биологиясини ўрганиш ҳамда ҳимояланган жой ноанъанавий сабзавотчилиги учун истиқболли замбуруғ штаммларини ажратиш, маҳаллий шароитга мос уруғлик мицелийсини етиштириш жуда муҳимдир.

P.ostreatus нинг штаммларини ажратиш мақсадида Тошкент вилоятининг Қибрай, Паркент, Бўстонлиқ туманлари

ҳудудида ва Тошкент шаҳрининг истироҳат боғларида кузатиш ишлари амалга оширилди.

P.ostreatus тури қуриган терак, тол, тут, қайрағоч ва заранг дарахтларида ҳамда уларнинг тўнкаларида ўсиши кузатилди ва улардан намуналар олинди. *P.ostreatus* замбуруғи мева таналари 5 та дарахт *Acer negundo* L.- заранг, *Morus alba* L. –тут, *Populus alba* L.- терак, *Salix excelsa* S.G.Gmel- тол ва *Ulmus uzbekistanica* Drob.- қайрағоч тўнкаларида қайд этилди

Бу дарахтларда *P.ostreatus* қўзиқоринининг мева таналари бир нечтадан тортиб бир неча ўн донагача ҳосил бўлиши ва улар биргаликда тўда бўлиб, ёнма-ён ёки бирин-кетин, устма-уст жойлашганлиги аниқланди. Кам ҳолларда якка ҳолдаги мева таналарни ҳосил қилди. Мева тананинг қалпоқчасини диаметри асосан 4-22 см гача бўлди, лекин жуда кам ҳолларда ундан ҳам катта бўлиши кузатилди.