O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O‘RTA MAXSUS TA’LIM VAZIRLIGI

ALISHER NAVOIY NOMIDAGI SAMARQAND DAVLAT UNIVERSITETI

TABIIY FANLAR FAKULTETI BIOLOGIYA BO`LIMI FIZIOLOGIYA, GENETIKA VA BIOKIMYO KAFEDRASI

5a140104-biotexnologiya magistratura mutaxassisligi

“BIOLOGIK FAOL VA DORIVOR MODDALAR BIOTEXNOLOGIYASI” fanidan

KURS ISHI

Mavzu: ORGANIK MODDALARNI MIKROBIOLOGIK TRANSFORMATSIYALASH VA ULARNI QAYTARILISHINI BIOTEXNOLOGIK USLUBLARI

Bajardi: M.Nurmatova
Tekshirdi: ass. B.S.Aliqulov

SAMARQAND – 2014

REJA:

1. Mikrobiologik transformatsiya haqida umumiy tushunchalar. Steroidlarni mikrobiologik transformatsiyasi.
2. Sanoat miqyosida amalga oshirila boshlagan transformatsiyalar. Transformatsiyalash.
3. Mikrobiologik transformatsiya jarayonlarini amalga oshirish uslublari.
4. Karbonsuvlarni mikrobiologik transformatsiyasi.
5. Geterosiklik birikmalarni mikrobiologik transformatsiyasi.

1. Mikrobiologik transformatsiya haqida umumiy tushunchalar. Steroidlarni mikrobiologik transformatsiyasi

Mikroorganizmlardan sintetik reaksiyalar uchun foydalanishni shartli ravishda ikkita yo`nalishga ajratish mumkin:

- ma`lum komponentlardan tashkil topgan oziqa muhitida mikroorganizmlar hujayralari tomonidan muhim biologik faol moddalar va mahsulotlar (antibiotiklar, fermentlar, vitaminlar, sterinlar, aminokislotalar va boshqalar) ni biosintezini to`liq amalga oshirish;

- mikrobiologik transformatsiya, ya`ni dorivor va boshqa xalq xo`jaligi uchun zarur bo`lgan moddalarni sintezlashga qaratilgan ishlarni kimyoviy va mikrobiologik bosqichlar orqali maqsadli ravishda sintezlash yo`li bilan ajratib olish.

Mikroorganizmlar poliferment tizimlarga ega bo`lganligi sababli ekzogen organik moddalarni xilma xil foydali mahsulotlar va fiziologik faol moddalarga aylantirishi mumkin. Bu jarayon kimyoviy uslubda amalga oshirilganda 20 bosqichni o`z ichiga olsa, mikrobiologik uslubda bir bosqichni o`zi kifoya bo`ladi. Bundan tashqari bu sintez reaksiyasini mikrobiologik uslubda juda ham oson o`tkazish mumkin bo`lsa, kimyoviy yo`l bilan o`tkazish juda qiyin kechadi, qimmatga tushadi yoki umuman o`tkazib bo`lmaydi.

So`nggi yillarda mikrobiologik uslublar kimyoviy uslublardan ustun ekanligi tobora ayon bo`lib bormoqda, binobarin murakkab molekulalarning nozik o`zgarishlarga duch kelishi, uslubning qulayligi, texnologik jarayonlarning iqtisodiy samaradorligi bu fikrlarni to`liq tastiqlaydi.

Ayniqsa bu uslublarning ustunligi steroidlar kimyosi yo`nalishida o`z isbotini topdi. Steroid tabiatli dorivor moddalar sintezida mikroorganizmlar noyob reaksiyalarni, xususan 1,2-degirogenlanish, 11 beta-gidroksillanish reaksiyalarini o`tkazishga qodir bo`ladilar. Sanoat miqyosida gidrokortizon, prednizon, prednizolon, deksametazon kabi muhim dorivor moddalarni biosintezlash mikrobiologik sintez uslublari ishlab chiqilgandan keyingina mumkin bo`lib qoldi. Bu dorilar hozirgi kunda revmatizm, bronxial astma, shamollanish va xronik (surunkali) teri kasalliklarini davolashda muvaffaqiyatli ravishda qo`llanilmoqda.

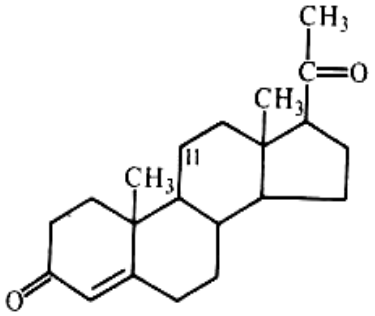
So`nggi paytda steroidlarga nisbatan oddiyroq organik moddalarni mikrobiologik almashinuvi mahsulotlari ham amaliy ahamiyatga ega ekanligi isbotlangan. Organik moddalarning asosiy sinflari uchun fermentli mikrobli almashinuv tiplari haqidagi ma`lumotlar mavjud. Ko`p mikrobiologik transformatsiya jarayonlari bitta yoki bir necha fermentlar tomonidan substrat molekulasini uncha murakkab bo`lmagan o`zgarishlarga duch keltiradi. Lekin transformatsiyaga duch keluvchi birikma tuzilmasini tubdan o`zgartirib yuboradigan mikrobiologik jarayonlar ham uchraydi.

Mikrobiologik transformatsiya jarayonlari uchun umumiylik shundan iboratki, bu jarayonlar natijasida transformatsiyaga uchrovchi moddani molekulyar tuzilmasi o`zgaradi xolos, yangidan *de novo* tarzida sintezlanmaydi. Mikrobiologik transformatsiya jarayonida geterosiklik asoslar, pentozalar va fosfatlardan ba`zi nukleotidlarning sintezlanishini ham keltirib o`tish mumkin.

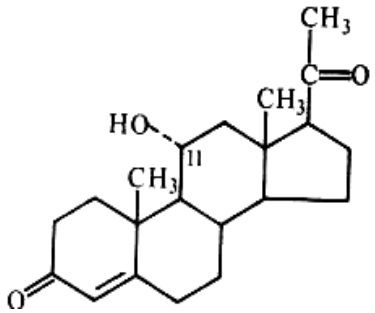
Hozirgi kungacha mikrobiologik transformatsiyani funksional guruhlarning hosil bo`lishi va ajralib chiqishiga qarab tasniflanadi. Mikrobimologik transformatsiyaga

oid asosiy jarayonlar: atsetillanish, oksidlanish, qaytarilish, dekarboksillanish, dezaminlanish, glyukozidlarning hosil bo`lishi, gidroliz, metillanish, eterifikatsiya, degidrogenlanish, disproporsiyalanish, kondensatsiya, aminlanish, amidlanish, demetoksillanish, nukleotidlanish, gologenlanish, demetillanish, asimmetrizatsiyalanish, ratsematsiya, izomerizatsiyalarni o`z ichiga oladi.

Hozirgi kunda steroid birikmalarni almashinuvida biologik katalizatorlarning ahamiyati yaqqolroq ko`zga tashlanadi. XIX-asrdayoq ichak bakterial florasi xolesterinni koprosteringa, xol kislotani dezoksixol kislotaga aylantirishi ma`lum edi. O`tgan asrning 30-yillariga kelib asosiy steroid gormonlarning tuzilishi ma`lum bo`lib qolgandan keyin bu birikmalarni ajratib olishda mikroorganizmlarning transformatsiyalovchi qobiliyatidan foydalanishga kirishila boshlanildi. 1948-yilda steroid molekulasiga mikrobiologik yo`l bilan gidroksil guruhini kiritishga erishildi. Faqat *Rhizopus nigricans* produsentining fermentatsiyali mikrobiologik transformatsiyalash yo`li bilan progesterondan 11-alfa-gidroksiprogesteronni ajratib olingandan keyin steroidlarga e`tibor kuchaydi:



Progesteron



11-alfa-gidroksiprogesteron

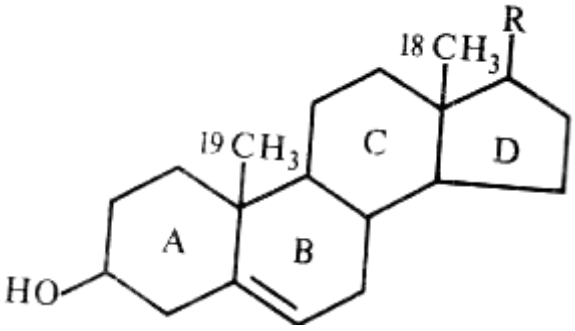
Muayyan transformatsiya mikrobiologik uslubni kimyoviy uslubdan afzalligini yaqqol namoysh qildi, chunki steroid molekulasining ma`lum bir qismi (C-11) gagina oksi guruhni joylashtirish kimyoviy uslubda olib borilganda ko`pdan ko`p reaksiyalarni amalga oshirishni talab qilsa, mikrobiologik uslubda bu ishni bir bosqichli fermentativ reaksiya yordamida amalga oshirish mumkin bo`ladi.

Kortizonni terapevtik ahamiyatini aniqlanishi mikrobiologlar, kimyogarlar va tibbiyot xodimlari e`tiborini mikrobiologik gidroksillanishga ko`proq jalb qilaboshladi. Steroidlarni mikrobiologik sintez yo`li bilan ajratib olishni amaliyotda joriy qilinishi farmasevtika sanoatida burilish yasadi.

Tabiiy sterinlar –qimmatbaho dori-darmon moddalar ajratib olish uchun xom-ashyo sifatida. Steroidlar sinfi vakillari molekulasi tarkibida siklopentanpergidrofenantren xalqasini tutuvchi moddalar guruhini tashkil qiladi.

Sterin (sterol) larga siklopentanpergidrofenantrenning C-3 o`rnida gidroksil guruhini tutuvchi steroidlar kiradi.

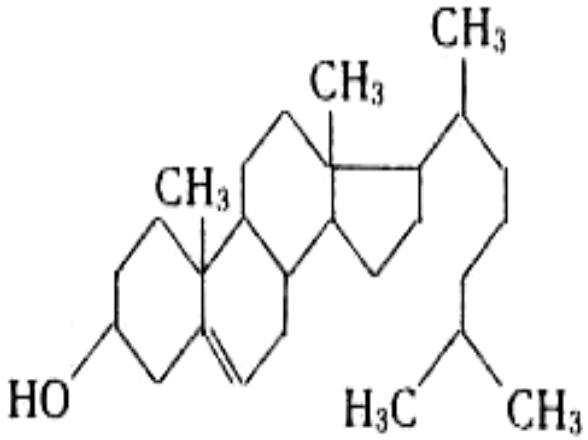
Eng muhim va yaxshi o`rganilgan sterinlar jumlasiga xolesterin (zoosterinlar sinfi) kiradi, uni umumiy formulasi $C_{27}H_{46}O$ dir. Struktura formulasi esa:



dan tashkil topgan.

Bu modda odam va hayvonlarning barcha to`qima va organlarida uchraydi. Xolesterin tirik organizmda sodir bo`ladigan fiziologik jaryonlarda qatnashadi, uning ishtirokisiz o`suvchi organizm rivojlanmaydi. Yirik shoxli hayvonlarning bosh va orqa miyasi xolesterinni ajratib olishda xom-ashyo vazifasini bajarishi mumkin. Keyingi paytda esa sterinlar o`simliklar va qizil suv o`tlari tarkibida ham bo`lishi aniqlangan bo`lib hozirgi kunda ulardan ham xomashyo sifatida foydalanilmoqda. Tabiatda uchraydigan boshqa sterinlar xolesterindan yon zanjirini uzunligi yoki to`yinish darajasiga qarab farqlanadi. O`simlik sterin (fitosterin) laridan qimmatbaho steroid preparatlarini ajratib olishda xomashyo sifatida foydalaniladi.

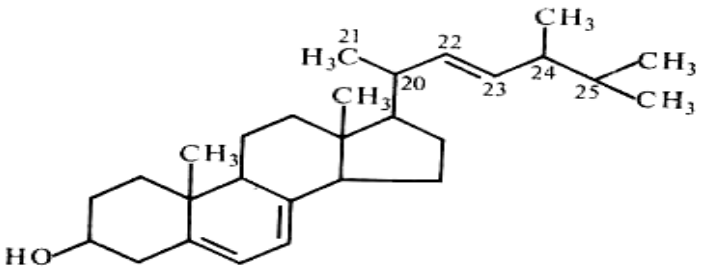
Ergosterin. Uni formulasi 1934-yilda aniqlangan bo`lib, xolesterindan C-24-o`rinda bitta metil guruh va xalqadagi C- 7 va C-8, yon zanjirdagi 22- va 23- karbon atomlari o`rtasida qo`sh bog`lar bo`lishi bilan farqlanadi.



xolesterin

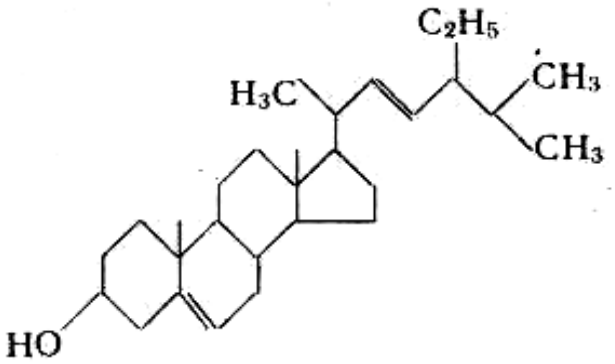
Ergosterin o`simlik olamini qator vakillari, shuningdek zamburug`lar, mikroorganizmlar organizmida uchraydi.

Ergosterin ayniqsa achitqi mikroorganizmlar tarkibida mo`l bo`ladi. Ergosterinni sanoat miqyosida ajratib olishda hamirturush zamburug`idan foydalaniladi.



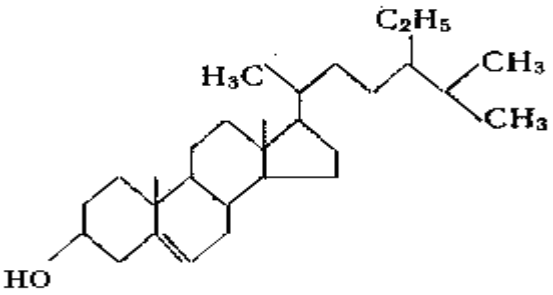
Ergosterin

Stigmasterin. Formulasi $C_{29}H_{48}O$. Bu modda tabiatda keng tarqalgan fitosterinlar jumlasiga kiradi, hamda soya yog`i va shakar qamishida ko`p bo`ladi. Uni strukturasini xolesterindan farqlanadigan jihati 22 va 23-o`rinda joylashgan karbon atomlari o`rtasida qo`sh bog`ning borligi va 24-o`rindagi karbon atomi etil guruhini tutishidadir.



Stigmosterin

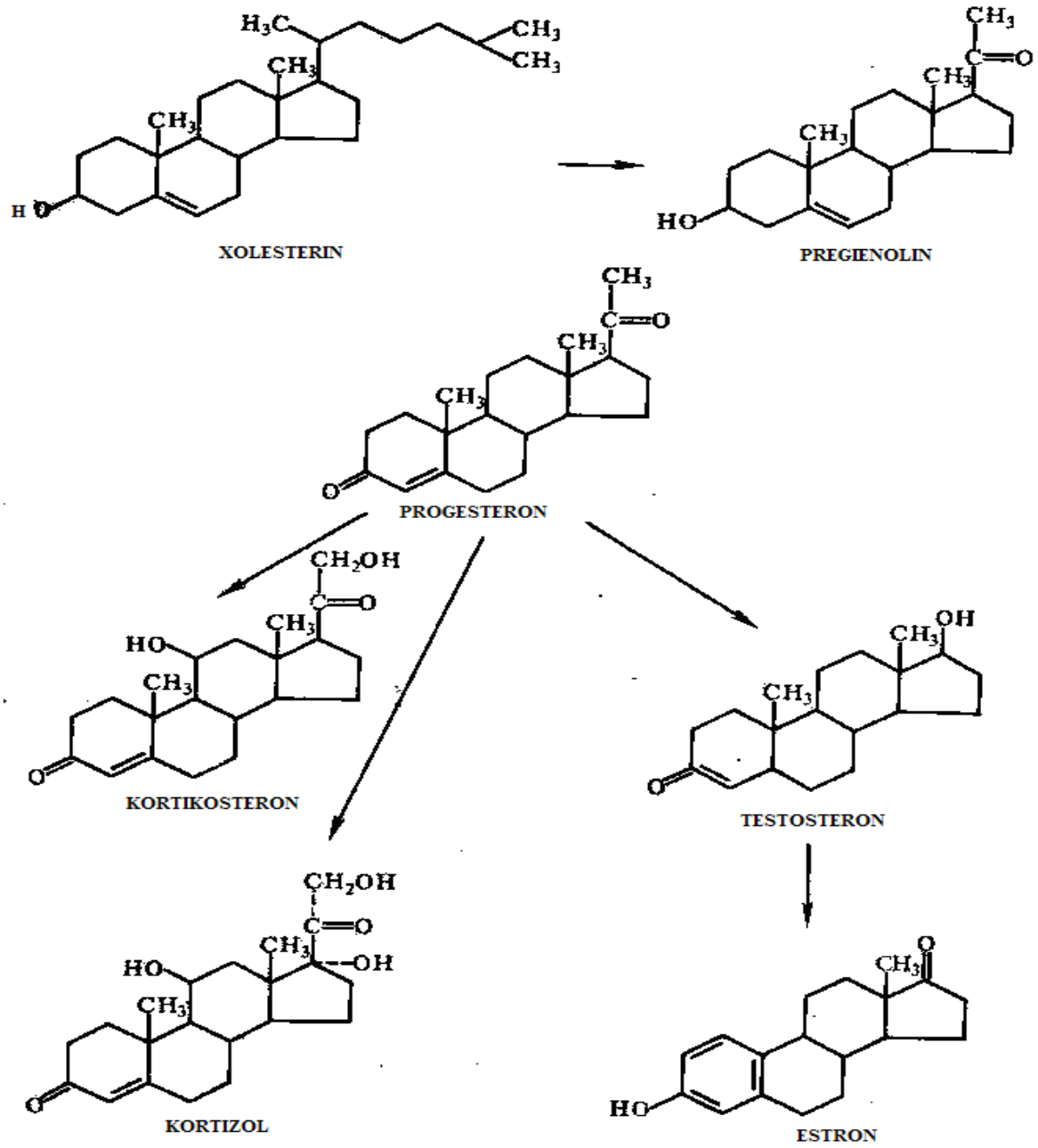
O`simlik sterinlari ichida yana ko`p tarqalgan vakillardan biri beta-sitosterin- $C_{29}H_{50}O$ dir. Uning strukturaviy tuzilishi stigmasteringa o`xshash, undan yon zanjirda qo`sh bog`ning bo`lmasligi bilan farqlanadi:



Sitosterin

Sitosterinlar paxta moyida, bug`doy maysasida tabiiy kauchuk va shakar qamishi tarkibida uchraydi. Uni sanoat miqyosida olishda xomashyo sifatida paxta yog`i va shakar qamishidan foydalaniladi. Sterinlar organizmda kechadigan fiziologik va biokimyoviy jarayonlarda ishtirok etadi. Ular hujayra va subhujayraviy elementlarning membranalarini shakllanishida, ko`p tabiiy birikmalarning toksik ta`sirini yengish bilan bog`liq bo`lgan biokimyoviy reaksiyalarda asosiy modda sifatida qatnashadi.

*Xolesterindan steroid gormonlarni sintezlanish yo`llari.* Odam va hayvonlar organizmida xolesterindan uch xil gormonlar guruhi: progestinlar, jinsiy gormonlar va buyrak usti bezini po`stloq qismini (kortikosteroidlar) gormonlari hosil bo`ladi. Bu gormonlarning biosintezlanish yo`llari 1-Rasmda ko`rsatilgan.



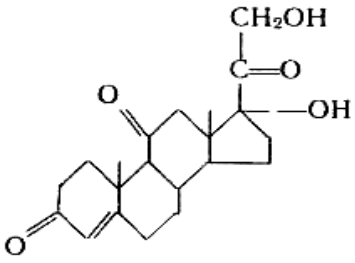
1-Rasm. Xolesterindan steroid gormonlarning sintezlanish yo`llari

2. Sanoat miqyosida amalga oshirila boshlagan transformatsiyalar. Transformatsiyalash

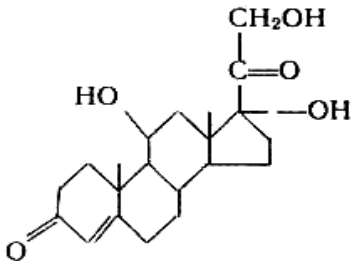
Steroid gormonlar hosil bo`lishida dastavval asosiy oraliq mahsulot-pregnenolon hosil bo`lib, undan keyinchalik steroidlar va kortikosteroidlar biosintezlanadi. Pregnenolondagi 3-OH ning C=O gacha oksidlanishi qo`sh bog`ning siljishi orqali yuz beradi, bu ketosteroidizomeraza reaksiyasining mahsuloti bachadon va sariq tana gormoni-progesteron hisoblanadi.

Pregnenolon shuningdek erkak (testosteron) va ayol (estrogenlar-estron, estradiol) jinsiy gormonlarini dastlabki manbayi vazifasini bajaradi. Buyrak usti bezini po`stloq qismida progesteron, kortikosteron va kortizol (gidrokortizon) ga aylanadi. Hozirgi kunda kortizol (gidrokortizol) va uning prednizolon yoki

deksametazon kabi analoglari tezkor terapiyada keng foydalaniladi. Bu moddalarni kimyoviy tuzilishiga qarab 11-dezoksisteroid, 11-gidroksisteroid, 11,17-digidroksisteroid (bunga kortizon va gidrokortizon kiradi) larga bo`lish mumkin bo`ladi.



Kortizon



gidrokortizon

Steroidlarning asosiy mikrobiologik almashinuvlari. Yuqorida keltirilgan qimmatli dorivor preparatlarni sanoat miqyosida ajratib olish mikrobiologik kimyoni, xususan mikrobiologik transformatsiya uslublarini ishlab chiqlishi bilan bog`liq bo`ldi. Keltirilgan dorivor moddalarni ajratib olishda xom-ashyo sifatida o`simlik mahsulotlari-diosgenin, stigmasterin va keyingi paytda beta-sitosterinlar xizmat qilmoqda. 1-Jadvalda steroidlarni transformatsiyasi natijasida sanoat miqyosida ishlab chiqariladigan ba`zi gormonlar keltirilgan.

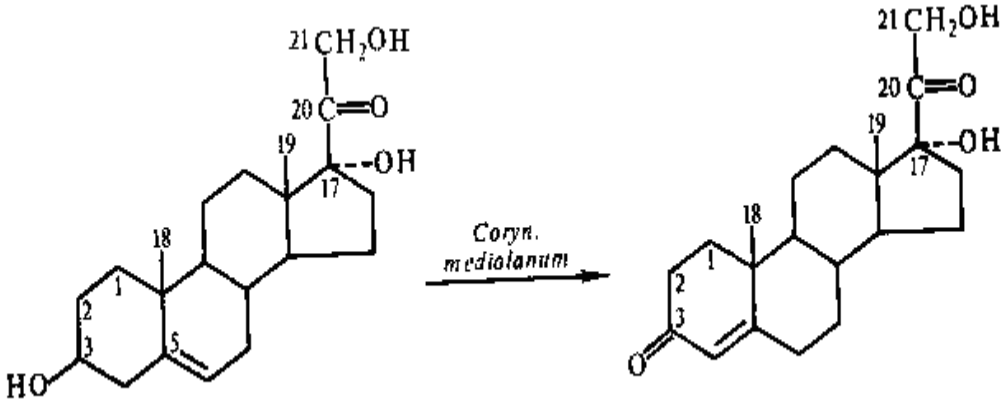
1-Jadval

Sanoat ahamiyatiga ega bo`lgan steroidlarni mikrobiologik transformatsiyasi

Reaksiya	**Substrat**	**Mahsulot**	**Transformator-mikroorganizm**
11-alfa-gidroksillanish	Progesteron	11-alfa-gidroksiprogesteron	*Rhizopus nigricans*
11-beta-gidroksilanish	S modda	Gidrokortizon	*Curvularia lunata*
16-beta-gidroksillanish	9-alfa-ftorkortizol	9-alfa-ftor-16-alfa-gidroksikortizol	*Streptomyces roseochromogenus*
1,2-degidroksillanish	gidrokortizon	prednizolon	*Arthrbacter simplex*

Yon zanjirlarning parchalanishi	Beta-sitosterin	Androstadien yoki androstendion	*Mycobacterium sp.*

Gidrokortizon, kortizon va prednizolon sintezida dastlabki mahsulot sifatida ishlatiladigan Reyxshteyn S moddasi xizmat qilib, u kimyoviy tuzilishi jihatidan 4-pregnen-17- alfa, 21-diol-3,20 dion hisoblanadi.



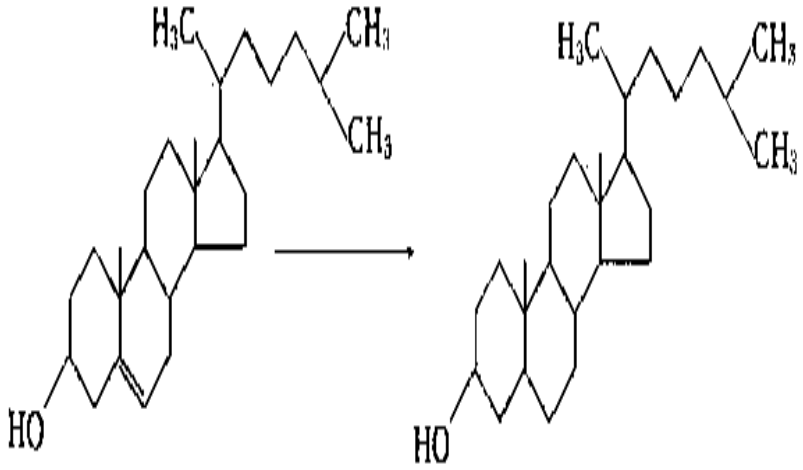
S-modda

Gidroksil guruhini kiritish. Mikrobiologik gidroksillanish muhim va ko`p qo`llaniladigan uslublar jumlasiga kiradi. Steroidning 3, 11, 16, 17 o`rinlaridagi karbon atomlarida gidroksillarning bo`lishi ko`p steroid gormonlarning fiziologik faolligini belgilaydi. Steroidlarning gidroksillanishi ko`p mikroorganizmlar ko`pincha zamburug`lar tomonidan, hattoki ba`zi zamburug`larning konidiyalari tomonidan amalga oshiriladi. *Rh. nigricans* tomonidan amalga oshiriladigan gidroksillanish mikroorganizmlar ta`sirining maxsusligi va xilma-xilligini namoyish qilish uchun yaqqol misol bo`laoladi. Tar-alfa-gidroksillanish kortizon ajratib olishda eng yaxshi o`rganilgan va sanoat ishlab chiqarishida keng qo`llaniladi hamda bunda transformatsiya mahsulotining hosil bo`lishi ko`rsatkichi ham yuqori bo`ladi. Gidrokortizonni *T.orchidis* ni *Reyxshteyn S* moddasidan chuqur o`stirish yo`li bilan ajratib olish uslubi ishlab chiqilgan. Bu produsentni eng qulay transformatsiyalovchi qobiliyati 17 soatlik muddatda o`stirishda kuzatiladi, 10 soatli muddatda o`stirishda 70 % gacha Reyxshteyn S moddasi o`zlashtiriladi va bunda mahsulot hosil bo`lishi 52 % ni tashkil qiladi. Steroidlarning molekulasida 11-beta-gidroksil guruhini bo`lishi gidrokortizon (kortizol) va prednizolonlarning fiziologik faolligini ta`minlaydi. Gidroksillanishga estranning hosilalaridan tortib, to sterinlarning murakkab molekulalari, sapogeningacha bo`lgan substratlar duch keladi. Buning sababi ko`p mikroorganizmlar substratga nisbatan gidroksilaza fermentiga oid maxsus faollikni namoyon qilishidadir. Masalan, *Cunninghamellf blakesleeana* shtammi keng steroidlar guruhi - estranning hosilalari, testesteron, korteksolon,

progesteronlarga oksiguruhni kiritishi mumkin ekan. 14-alfa-gidroksiprogesteronni *Bacillus cereus* tomonidan ajratib olinishi bakteriyalar shtammidan foydalanishning misoli sifatida keltirib o`tish mumkin bo`ladi.

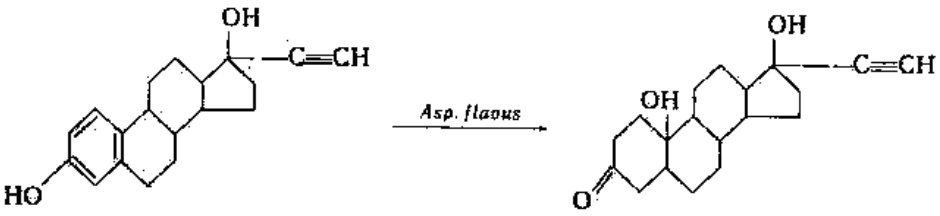
Steroidlarni degidrogenizatsiyasi. Steroid preparatlarning tuzilishida qo`sh bog`ning bo`lishi, ularning fiziologik faolligini tubdan o`zgartirib yuboradi. Bu reaksiyadan foydalanib prednizolon kabi samarali preparatni ajratib olish mumkin. Ko`pincha mikroorganizmlar 1,2 va 4,5 o`rinlarni degidrogenlaydi, lekin 7,8; 8,9; 9,11; 16,17 va 17,20 o`rinlarda qo`sh bog` hosil qilish holatlari ham ilmiy adabiyotda keltirilgan. Degidrogenizatsiya reaksiyasi bakteriyalar va aktinomitsetlar tomonidan amalga oshiriladi, ko`pincha ular *Arthrobacter, Corynebacterium, Nocardia* larning miko shakllari hisoblanadi. Degidrogenizatsiya reaksiyasi kortizondan prednizolonni, metiltestosterondan dianabolni, gidrokortizondan prednizolonni ajratib olish imkonini beradi. 1,2-o`rindagi karbon atomini degidrogenizatsiyasi tayyor mahsulot hosil bo`lishini 86 % ga yetishiga sababchi bo`ladi.

Mikrobiologik qaytarilish. Bu degidrogenizatsiyaga nisbatan kamroq foydalaniladigan uslub hisoblanadi. Bu jarayon achitqi va bakteriyalar, sutemizuvchilar ichagi mikroflorasi tomonidan amalga oshirilib, xolesterindan koprosterinni hosil bo`lishiga olib keladi:



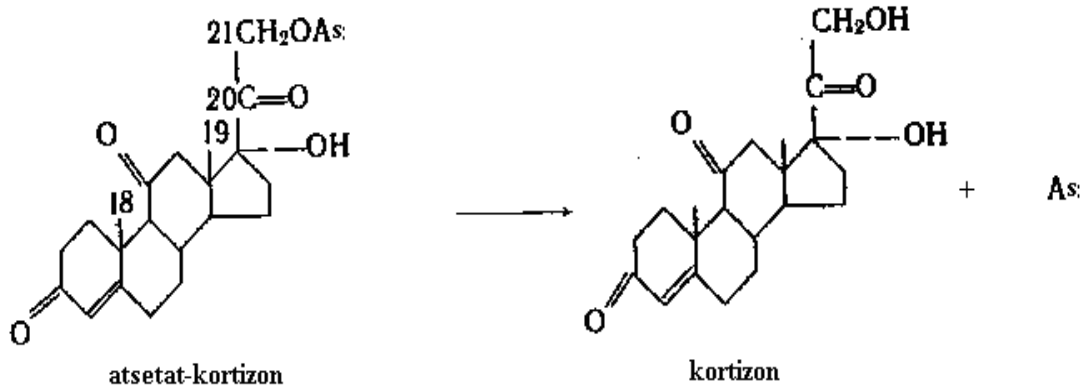
Qo`sh bog`larni to`yintirish, aerob mikroblar tomonidan ham amalga oshiriladi. Aktinomitsetlar, mikoshaklli shtammlar va hattoki, zamburug`lar orasida oksidlovchi sifatidagi vakillar uchraydi. Masalan, *Aspergillus flavus* ba`zi steroidlarning aromatik xalqalarini qaytaradi.

Gidroksil guruhni ketoguruhgacha oksidlanishi. Mikroorganizm (bakteriya, aktinomitset, zamburug`) lar tomonidan amalga oshiriladigan va ko`p uchraydigan reaksiyalardan biri hisoblanadi. Amaliy jihatdan steroid molekulasining 3,17 va 20-o`rinlarda joylashgan gidroksillarning oksidlanuvchi almashinuvi katta ahamiyatga ega. Steroidni A xalqasidagi 3-o`rindagi gidroksilning oksidlanishi, 4-o`rinda qo`sh bog` mavjud bo`lgan sharoitda juda osongina amalga oshadi. Xuddi shu xildagi reaksiya jumlasiga steroid molekulasiga ketoguruhni kiritilishi ham kiradi.



*Efirli tuzilishga ega bo`lgan steroidlaning gidrolizi.* Bu reaksiyalar mikroorganizmlar tomonidan amalga oshiriladi va katta amaliy ahamiyatga ega. Atsillanish kimyoviy sintezning odatdagi oraliq mahsuloti hisoblanadi, bunda funksional guruhlarning asl himoyalanishi sodir bo`ladi. Atsillanish kimyoviy yo`l bilan osongina amalga oshishiga qaramay, u qo`shimcha keraksiz mahsulotlarni hosil bo`lishiga olib keladi. Efir bog`larni mikrobiologik parchalanishi har xil taksonomik guruhlarga mansub bo`lgan vakillar, xususan flavobakteriyalar tomonidan amalga oshirilishi mumkin.

Bac. megaterium 21-atsetatli steroidlarga nisbatan maxsus faollikni namoyon qiladi:



Dezatsillash qobiliyati miko shakllar-mog`or zamburug`lari va aktinomitsetlarda bo`ladi. Keltirilgan reaksiyaning o`ziga xosligi shundan iboratki, bunda gidroksillanish, degidrogenizatsiya jarayonlari bir yo`la kechishi hisobga olinadi.

Steroidlarning yon zanjirini uzilishi. Bu uslub ancha arzon tabiiy manbayi hayvon va o`simlik steroidlari bo`lib, ulardan sterinlar, o`t kislotalari, sapogeninlar kabi qimmatbaho mahsulotlar ajratib olishda muhim ahamiyatga ega.

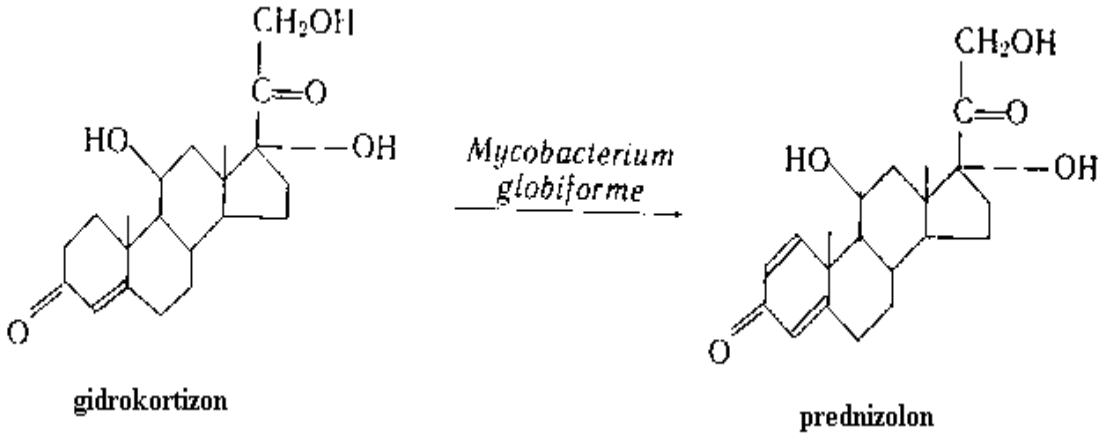
3. Mikrobiologik transformatsiya jarayonlarini amalga oshirish uslublari

Steroidlarni biotransformatsiyasini xilma xil bo`lishiga qaramay, mikrobiologik reaksiyalarni amalga oshirish yo`llari bir xildir. Izlanishlar olib borishda ko`p xom-ashyo moddalardan foydalanishning imkoniyatlari yo`q, bu ishlar kolbalarda doimo chayqatiladigan turgan holda, steroidning miqdori bor-yo`g`i 100-200 mg gina bo`ladigan sharoitda amalga oshiriladi. Tizimga 1-2 gramm steroidni yuklash uchun shisha fermentyordan foydalaniladi. Bu ishni sanoat miqyosida va tajriba qurilmalarida amalga oshirishda aeratsiyalanuvchi va aralashtirish moslamali po`latdan tashkil topgan apparaturalardan foydalaniladi. Oldindan produsent kiritib

yig`ilgan shisha fermentyorni sterillab, uni oziqa muhiti bilan yuklanadi. Hamma operatsiyalarni bajarishda aseptikaga qat`iy rioya qilinadi. Sterilizatsiyani bakteriosid lampalar bilan yoritiladigan bokslarda 110-120 ^{0}C da oziqa muhitini avtoklavlash yo`li bilan olib boriladi. Fermentyorga namunani kiritish va tanlash gaz alangasida o`tkaziladi. Fermentyorga oziqa muhitini kiritish esa, odatda steril qizdirilgan havo yordamida amalga oshiriladi. Mikroorganizm-transformatorni o`stirish muddati esa, uning maksimal transformatsiyalovchi faolligini aniqlash orqali belgilanadi va ba`zilari bir necha soatdan, boshqalari bir necha kungacha davom etishi mumkin. Ko`p mikroblar uchun transformatsiyalovchi maksimal faollik uning o`sishini pasayishi davriga to`g`ri keladi. Sterinlarni suvda eruvchanligi juda past. Hozirgi kunda oksidlanishga duch keltiriladigan sterinlarni muhitga kam toksik tavsifli erituvchilar (atseton, spirt, dimetilformamid) da kam konsentratsiyali (1g/l atrofida) miqdorda eritib so`ng kiritiladi. Sterinlarni muhitga yuqoriroq konsentratsiyada (1 g/l dan yuqori) kiritish uchun sterin kristallarini maxsus apparatlarda maydalab yoki ultratovush yordamida parchalab unsimon kukunga aylantirib kiritiladi. Mikroorganizmlar tomonidan sterinlarni transformatsiyalanishi ularni o`sishini stimullash orqali sodir bo`lib, o`sish jadalligi qancha yuqori bo`lsa, sterinlar parchalanishidan hosil bo`lgan mahsulotning miqdori shuncha ko`p bo`ladi. Jarayon muhitni kislorodga to`yintirish sharoitida samarali bo`lib o`tadi. Oziqa muhitiga ba`zi moylar (soya, yeryong`oq, raps, chakanda moylari) ni 1-3 % gacha kiritish transformatsiya mahsuloti miqdorini oshiradi. Aynan shunday natijalarga oziqa muhitiga hayvon va o`simlikdan olingan glitseridlar (tristearin, triolein, tripalmetin) ni kiritganda ham erishiladi. Steroidlarni mikrobiologik transformatsiyalashning harorat rejimi boshqa mikrobiologik jarayonlardagidan farq qilmaydi va 24-33 ^{0}C chegarasini tashkil qiladi. Vodorod ionii ko`rsatkichi transformator-shtammni turiga bog`liq bo`ladi va ancha keng doiradagi o`zgarishlarga ega. Mikrobiologik nazorat faqat transformatsiyalovchi produsentni o`sish bosqichidagina amalga oshiriladi. Jarayonni kechishini analitik nazoratini amalga oshirishda ma`lum vaqt birligi oralig`ida reaksion muhit namunasini olib, uni «guvoh» sterinlar ishtirokida silufolli yuzada yupqa qavatli xromatografiya o`tkazish orqali aniqlanadi. Transformatsiya nihoyasiga etgandan keyin mikrob o`stirilgan suyuqlik miseliy (yoki boshqa biomassa) dan ajratilib, tegishli steroidni erishini ta`minlaydigan suvda erimaydigan organik erituvchi (etil atsetat, metilenxlorid yoki xloroform) da ekstraksiyalanadi. Suvli fazadan ajratib olingan ekstrakt keyingi tozalash bosqichidan o`tkaziladi (bo`yoqli chiqindilarni faollashtirilgan ko`mir bilan ishlov berib keyin filtrlanadi); keyin uni vakuumda konsentrlanadi va hosil bo`lgan steroid cho`kmasi ajratib olinib, uni tegishli organik erituvchi yordamida qayta kristallanadi. Steroidlarni davomli ravishda ko`p miqdorda preparativ yo`l bilan ajratib olish uchun ekstraktni kolonkali xromatografiyadan o`tkaziladi.

Mikrobiologik transformatsiyani sanoat miqyosida amalga oshirishga oid misollar. S moddadan *Survularia lunata* yordamida gidrokortizon (kortizol) ajratib olish jarayoni quyidagicha amalga oshadi:

Bunda transformatsiya uch bosqich orqali amalga oshadi. Birinchi bosqichda produsent tarkibida saxaroza, achitqi qoldig`i va anorganik tuzlarning murakkab yig`indisida o`stiriladi. Ikkinchi bosqichda S modda transformatsiyalanadi. Uchinchi bosqichda tranformatsiya mahsuloti gidrokortizon muhitdan ajratib olinadi:



Transformatsiyani amalga oshiruvchi produsent *M. globiforme*ni o`stirish yuqorida keltirilgan sharoitlarda va shu xildagi apparatlarda amalga oshiriladi. Tayyor mahsulot prednizolonni ajratib olish ham yuqorida keltirilgan ekstraksiya-separatsiya uslubida amalga oshiriladi va bunda faqat foydalaniladigan erituvchilardagina farq bo`ladi.

Mikrobiologik transformatsiya jarayonlarini jadallashtirish. Transformatsiya jarayonini jadallashtirishning muhim yo`llaridan biri o`stiriladigan transformator-produsentni dastlab tegishli substrat yoki uning analogi bilan indusirlash hisoblanadi. Bu uslub produsentning tegishli ferment tizimini indusirlash orqali amalga oshirilib, ayniqsa mikrobiologik degidrogenizasiya jarayonlarida keng qo`llaniladi. Ayniqsa mikroorganizmlarning tirik hujayralaridan ma`lum bir asosga biriktirilgan (immobilizatsiyalangan) holda foydalanish istiqbolli hisoblanadi. Immobilizatsiyalangan mikroorganizmlar hujayralaridan foydalanishning afzallik jihatlari jumlasiga:

- fermentlarni ajratish va tozalash uchun mablag` sarf etilmasligi;
- immobilizatsiyalangan fermentlarning o`zidan foydalanishga qaraganda faollikning yuqori bo`lishi;
- reaksiya mahsulotlari biomassadan va ba`zi almashinuv mahsulotlaridan xolis bo`lganligi sababli ularni ajratib olish va tozalashga sarfning kam bo`lishi;

- jarayonni uzluksiz avtomatlashtirilgan tarzda tashkil qilish imkoniyatlarini mavjudligi;

- poliferment tizim va kofaktorlarni regeneratsiyasini uzoq vaqt davomida ishlashi kabilar kiradi.

Hujayralarni immobilizatsiyalashni-adsorbsiya, kovalent va ko`ndalang bog`lanishlarga erishish orqali, har xil polimer moddalarni qo`shish, mikrokapsullash kabi uslublar vositasida amalga oshiriladi.

Hozirgi kunda immobilizatsiyalangan mikroorganizmlarning tirik hujayralari tomonidan 1,2 degidrogenlash; 1,2-qaytarilish; 20-qaytarilish (*Arthobacter globiforme*), steriomaxsus 17-beta-qaytarilish (*Sacch.cerevisiae*), 20-alfa va 20-beta-qaytarilish (*B. megaterium*), 11-alfa va 11-beta-gidroksillanish (*Tieghemella orchidis*) reaksiyalarini o`tkazish ishlari amalga oshirilmoqda.

4. Karbonsuvlarni mikrobiologik transformatsiyasi

Ko`p mikroorganizmlar uchun karbonsuvlar deyarli universal tabiiy va eng asosiy substrat hisoblanadi. Karbonsuvlarning fermentativ almashinuvi mahsulotlari ko`p mikroorganizmlarga energiya manbayi va hujayra oraliq tuzilmalari uchun material sifatida xizmat qiladi. Mikroorganizmlar karbonsuvlar bilan to`qnash kelganda juda ko`p reaksiyalarni amalga oshirishi mumkin. Karbonsuvlarga fermentativ ta`sir ko`rsatish o`zining jadalligi va u bilan bog`liq bo`lgan holda karbonsuvlarning mikrobiologik transformatsiyasini rentabilligini ta`minlashi bilan ajralib turadi. Ko`p sirka kislotali achishni yuzaga keltiruvchi bakteriyalar ba`zi zamburug`lar va psevdomonadalar karbonsuvlarni transformatsiyasini amalga oshirish uchun xizmat qilishi mumkin. Bu narsa ko`p mikroorganizmlarning fermentativ faolligidan foydalanib karbonsuvlar hosilalarini preparativ tarzda ajratib olish imkonini yaratadi. Mikroorganizmlar tomonidan karbonsuvlarning almashinuv o`zgarishlari quyidagilardan iborat bo`ladi:

- karbonsuvlarning oksidlanuvchi transformatsiyasi (poliollarni oksidlanishi, aldon kislotalarni hosil bo`lishi);

- karbonsuvlarni qaytarilishi;

- karbonsuvlarni izomerizatsiyalanishini xima-xil yo`nalishlari.

Dastlab polispirtlar (poliollar) ning oksidlanishi Braun (1886) va Bertran (1896) ishlarida bayon qilingan bo`lib, bunda *A.aceti* va *A.xylinum* mikroorganizmlari ishtirokida mannitni fruktozagacha va sorbitni sorbozagacha oksidlanishi amalga oshirilgan edi. Keyinchalik bu jarayonni yanada jadalroq amalga oshirish (*A. suboxydans*) yo`lga qo`yildi. Polispirlarni ketozalargacha oksidlanish jarayoni ketogen fermentatsiya jarayoni deyiladi. Bu reaksiya:

tarzida bo`lib o`tadi.

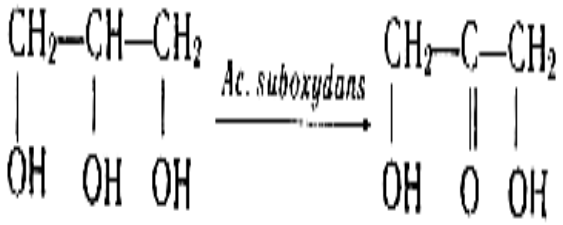
Reaksiya mahsulotining sifati va unumdorligi dastlabki substratga va mikroorganizm-produsentning ferment tizimiga bog`liq bo`ladi.

Karbonsuvlarning transformatsiyalanishini misollari. Sanoat miqyosida polispirtlarning ikki xil oksidlanishidan foydalaniladi:

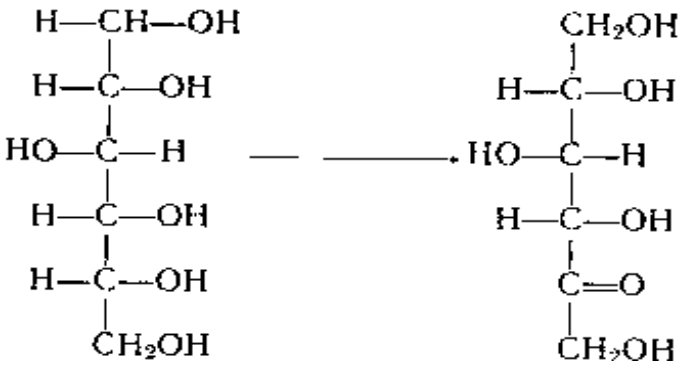
- glitserinni dioksiatsetonga aylanishi;
- D-sorbitni L-sorbozaga aylanishi.

Ayniqsa D-sorbitning L-sorbozaga aylanishi askorbin kislotani sintezlanishini bosqichlaridan biri sifatida muhim ahamiyatga ega.

Glitserinning dioksiatsetonga aylanishi *Ac.suboxydans* tomonidan amalga oshiriladi:



Dioksiatseton qimmatli mahsulot bo`lib, undan tibbiyotda, parfyumeriya va farmasevtika sanoatlarida keng foydalaniladi. Keyingi yillarda *A.suboxydans* hujayralari tomonidan mikrobiologik oksidlanish yo`li bilan ajratib olinadi. Ko`paymaydigan hujayralarni, jumladan gelda immobilizatsiyalanganlarini ham glitserin, monokalsiyfosfat va 10 % li (hajm bo`yicha) achitqi suvi muhitida o`stirib, undan ko`p karra foydalanish uslubi ishlab chiqilgan. Jarayon 28 ^{0}C da 36 soat davomida kechadi. Bu fermentatsiyalar uchun eritmada kislorodning mo`l bo`lishi, oziqa muhitida U guruhi vitaminlari, non achitqisi ekstrakti achitqi avtolizati, makkajo`xori ekstrakti va neytrallash uchun kalsiy karbonatning bo`lishi talab qilinadi. D-sorbozaning L-sorbozaga aylanishi quyidagi reaksiya asosida yuz beradi:

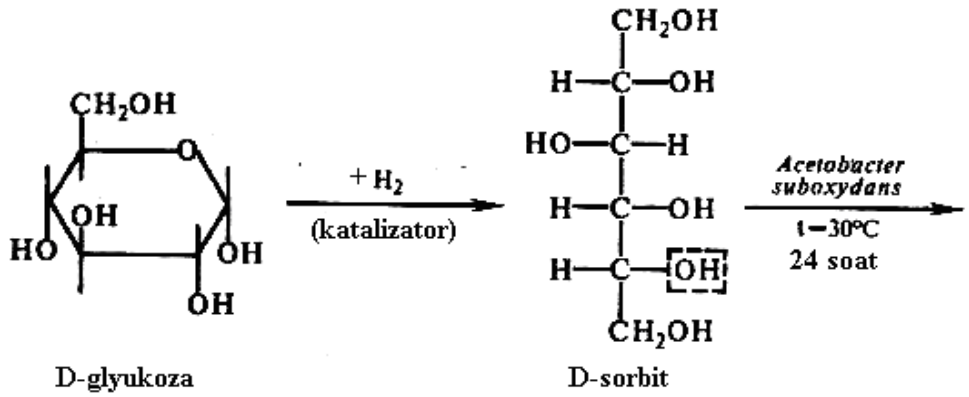


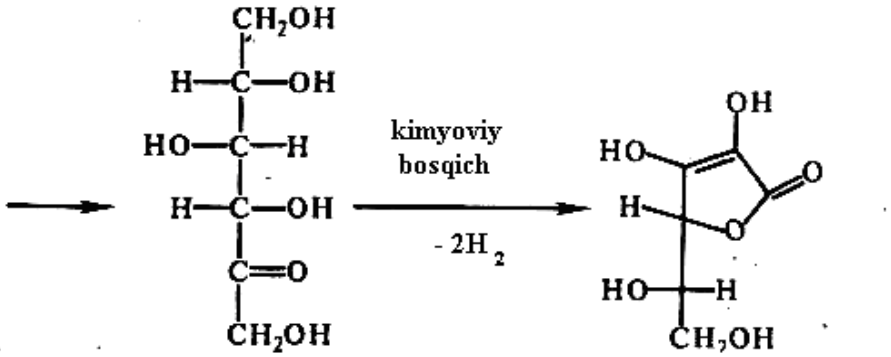
D-sorbit sorboza

Sanoat ishlab chiqarishida bu jarayonni amalga oshirishda chuqur o`stirish uslubidan foydalaniladi. *Ac.suboxydans* hujayralari suspenziyasini tarkibida sorbit, glyukoza, achitqi ekstrakti va kalsiy karbonat bo`lgan muhitda o`stiriladi. Tarkibida transformatsiyani amalga oshiruvchi produsent, 15-20 % li sorbit eritmasi va o`sish uchun zarur vitaminlar bo`lgan muhitga purkagich tizim orqali havo yuboriladi. Harorat 30 $^0$C bo`lganda 24 soatdan keyin L-sorbozani muhitdan ajratib olish

mumkin bo`lgan miqdori 93 % ni tashkil qiladi. Fermentatsiyani oxirida sorbozali eritmani faollashtirilgan ko`mir yordamida rangsizlantiriladi, keyin filtr presda filtrlanadi; filtratni quyuq shinnisimon shaklga kelguncha vakuumda konsentrlanadi, so`ng 15 $^0$C da kristallanadi. Bundan keyin bu kristallar muzday suv bilan yuviladi va quritiladi. Hozirgi paytda gelga immobilizatsiyalangan sirka kislotali achituvchi bakteriyalardan oksidlanuvchi tranformasiyani amalga oshirishga asosiy e`tibor qaratilgan. Shuningdek *Gluconobacter oxydans* hujayralarini gelga immobilizatsiyalash yo`li bilan glitserindan dioksiatsetonni ajratib olish mumkinligi isbotlangan. Bundan tashqari bu immobilizatsiyalangan hujayralar ko`p karbonsuvlarni, masalan, sorbit kabi spirtlarni oksidlantirishi mumkin.

D-sorbitni L-sorbozagacha oksidlanishi. Bu reaksiya L-askorbin kislotani hosil bo`lishini asosiy bosqichi hisoblanadi. Jarayon sanoat ishlab chiqarishi darajasidagi ahamiyatga ega va u quyidagicha bo`lib o`tadi:





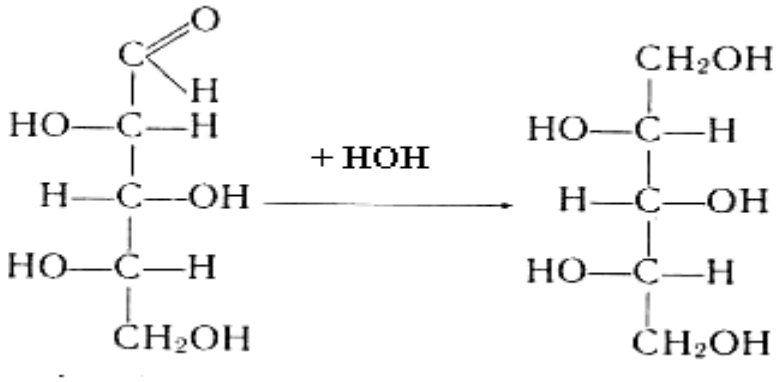
Askorbin kislotani sintezida dastlabki xomashyo mahsulot D-glyukoza hisoblanadi. Har xil mamlakatlarda D-glyukozadan foydalanib askorbin kislotani sintezlash L-sorboza va diatseton-2- keto-L-gulon kislota hosil qilish yo`li bilan amalga oshiriladi. Bu xil sintez quyidagi oraliq mahsulotlarni hosil bo`lishi orqali amalga oshiriladi:

D-glyukoza--→D-sorbit--→D-sorboza--→diatseton-L-sorboza-→diatseton-2-keto-L-gulon kislota-→ 2-keto-L-gulon kislota--→ askorbin kislota.

D-glyukozani D-sorbitga aylanishi birinchi bosqich bo`lib, kimyoviy katalitik gidrogenlanish reaksiyasi kabi yuz beradi. Keyingi bosqich-mikrobiologik

transformatsiya jarayoni bo`lib, uni sirkali achishni ta`minlovchi *Acetobacter* (yoki *Gluconobacter suboxydans*) tomonidan amalga oshiriladi. Sorbitni sorbozagacha oksidlash qobiliyati sirkali achituvchi bakteriyalar: *Ac.melanogenium, Ac.ketogonum, Ac.glukonicum,* shuningdek boshqa mikroorganizmlar *Bacterium orleanense, Bacterium xylinoides* va boshqalarda bo`ladi. Keyingi bosqich oksidlanishga duch kelmaydigan gidroksil guruhlarini diatsetonli himoyasi ham kimyoviy bosqich hisoblanadi, chunki C-1dagi birlamchi spirt guruhini karboksil guruhga aylanishi (keyinchalik L- sorboza askorbin kislotaga o`tishi) yuz beradi.

Ksilozani ksilitga qaytarilishi. Ksilitni kimyoviy yo`l bilan hosil qilish yuqori bosimda ksilozani gidrogenlash orqali amalga oshiriladi, bu ancha murakkab jarayon bo`lib, undan ksilitni mikrobiologik uslubda olish ancha ustun turadi. Ksilit-qimmatli mahsulot hisoblanib, oziq-ovqat sanoatida keng qo`llaniladi; bundan tashqari qandli diabetda shakarning o`rnini bosadi. Unga bo`lgan ehtiyoj juda yuqori. Ksilozani ksilitga aylanishi quyidagicha yuz beradi:



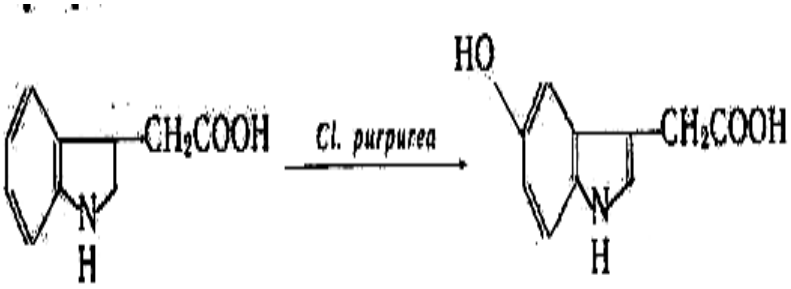
ksiloza ksilit

Sanoatda ksilozani ksilitga qaytarilishini amalga oshirishda *C.utilis* dan foydalaniladi. Achitqini ksilozani tuzli eritmasi muhitida o`stiriladi, bunda ksilozadan karbon va energiya muhiti sifatida foydalaniladi. Metabolizm jarayonida u ksilitgacha qaytarilib reaksion muhitda yig`iladi. Ksilozani qaytarilishini oldindan ksilozali muhitda o`stirilgan va fosfatli (pH -7,0) muhitda inkubatsiyalangan achitqini yuvilgan hujayralari ham amalga oshiradi. Maksimal holda ksilitning 60 % gacha miqdorini muhitdan ajratib olish mumkin bo`ladi.

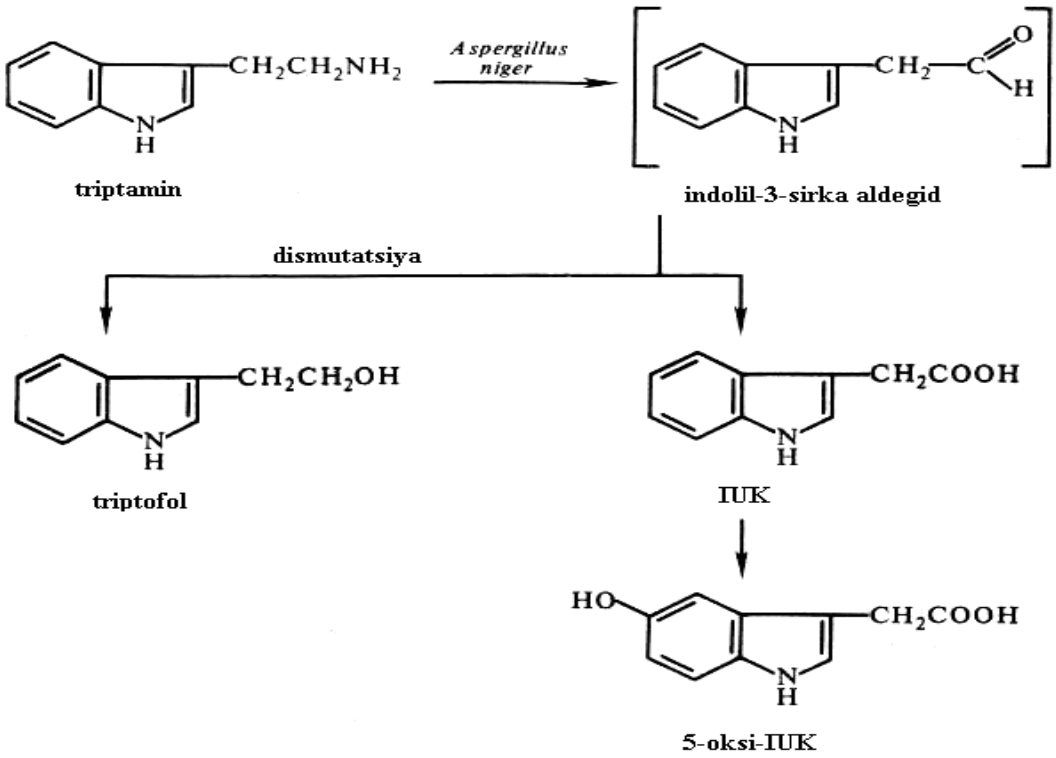
5. Geterosiklik birikmalarni mikrobiologik transformatsiyasi

Mikroorganizmlarning biokimyoviy faolligidan foydalanib, ba`zi geterosiklik birikmalar, xususan indol qatorli birikmalarni transformatsiyalash yo`li bilan ajratib olish mumkin. Indol qatorli birikmalar orasida triptofan, triptamin, serotonin, ularning analoglari, shuningdek triptofol va indolil-3-sirka kislotalar muhim ahamiyatga ega.

Indol hosilalarini mikrobiologik transformatsiyalash. Bu xil transformatsiyalanish jarayonlari asosan gidroksillanishni o`z ichiga oladi. Masalan, indolil-3-sirka kislota (ISK) ni *C.purpurea* zamburug`i tomonidan oksidlanishi tufayli 5-oksiindolil-3-sirka kislota hosil bo`ladi:

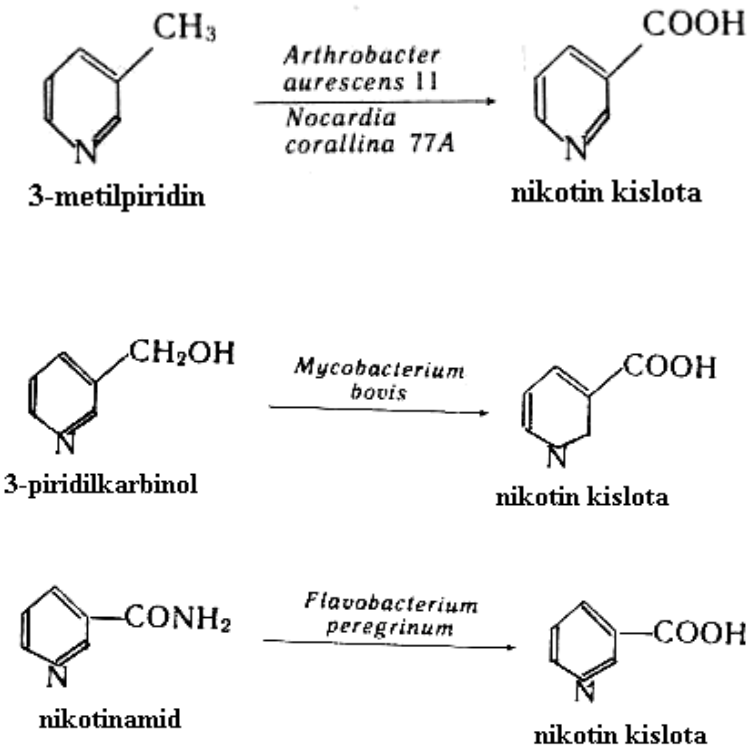


Indolilsirka kislota *Asp.niger* zamburug`i tomonidan xalqaning C-5 joyida gidroksillanadi. Lekin bu zamburug` tomonidan qator indolil moy qatorli kislotalar, xususan-indolil-3-propion, indolil-3-valerian, indolil-3-kapron, indolil-3-enant kislotalaridan tegishli 5-oksihosilalar hosil qilaolmaydi, bu hodisa esa gidroksillanishning o`ziga xos jihatlari mavjudligidan dalolat beradi. *Asp.niger* zamburug`i tomonidan triptaminning almashinuviga oid reaksiyalar sxemasi quyidagicha yuz beradi:

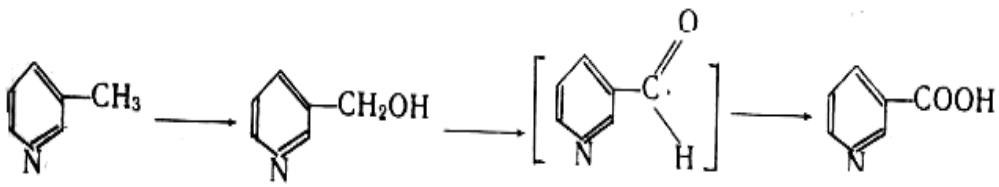


Sxemadan ko`rinib turibdiki, triptaminning dastlabki almashinuvi dezaminlanish reaksiyasidan boshlanadi. Indolil -3-sirka aldegiddan ham qaytarilish (triptofol), ham oksidlanish (ISK) mahsulotlari hosil bo`ladi. Keyingi bosqichda ISK oksidlanib 5-oksiindolilsirka kislotaga aylanadi. Jarayon odatdagi oziqa muhitida, ancha qisqa vaqt oralig`ida, osongina amalga oshadi.

Pirimidin hosilalarini mikrobiologik transformatsiyalash. Nikotin kislota va uning amidi (vitamin PP yoki B_5 vitamini) kimyoviy sitntez yo`li bilan olinadi, lekin tegishli substratlardan foydalanib mikrobiologik transformatsiya uslubi yo`li bilan ham ajratib olish uslubi ishlab chiqilgan:



Nocardia produsenti tomonidan 3-metilpiridinni oksidlanishi dastlab spirt (3-oksimetil piridin), so`ng aldegid va nihoyat kislota hosil bo`lish orqali yuz berishi aniqlandi:



Bu jarayonlarni sanoat miqyosida amalga oshirish hali yo`lga qo`yilmagan bo`lsada, kelajakda kimyoviy transformatsiyani qisman bo`lsada mikrobiologik uslubda amalga oshirish imkoniyatlari yaratiladi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Бекер М.Е. и друг. Биотехнология. – М: Агропромиздат, 1990. 354 с.
2. Биотехнология лекарственных средств. Учебное пособие/ Под ред. Быкова В.А. и Далина М.В. – М.: Медбиоэкономика. - 1991. – 303с.
3. Биотехнология. Принципы и применения. – Пер. с англ./ Под ред. И.Хиггинса, Д.Беста, Дж. Джойса. – М.: Мир. – 1988.

4. Биотехнология: Учебное пособие для ВУЗов. В 8 кн./ Под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М.: Высшая школа. – 1987.
5. Молекулярные и клеточные аспекты биотехнологии/ Под ред. Инге-Вечтомова С.Г. – Л.: Наука. - 1986.- 256с.
6. Синицин А.П., Райнина Е.И., Лозинский В.И., Спасов С.Д. Иммобилизованные клетки микроорганизмов. – М.: Изд-во МГУ.- 1994.- 288с.
7. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. – М.: Изд-во МГУ. – 1994. – 512с.
8. Егоров Н.С. Биотехнология. Проблемы и перспективы. – М.: Высшая школа. – 1987.
9. Ешков Н.П. Основы биотехнологии. – СПб.: Наука. – 1995.
10. Седых Н.В. Контроль качества биотехнологической продукции. – Рига.: Зинатна. – 1990.
11. Стакишкис. Оптимизация управления биотехнологическими процессами. – Вильнюс.: Мокалос. – 1984.
12. Бартошевич Ю.Е. и др. Современное состояние и перспективы биокатализа в производстве β-лактамных антибиотиков. – Антибиотики и медицинская биотехнология. – 1986. - № 2. – С 101.
13. Основы биотехнологии: Методические рекомендации к занятиям/ Сост. Гурина С.В., Потехина Т.С. – СПб.: СПХФИ. – 1997. – 44с.
14. Иммобилизованные ферменты. Современное состояние и перспективы/ Под ред. Березина И.В., Антонова В.К., Мартинека К. – Т. 1,2.- М.: Изд-во МГУ. – 1976.
15. Экологическая биотехнология/ К. Форстер. – Л.: Химия. – 1990.- 320с.
16. Биотехнология – сельскому хозяйству/ Под ред. Лобанка А.Г. – Минск: Ураджай. – 1988. – 198с.
17. Основы биотехнологии: Методические рекомендации к занятиям/ Сост. Гурина С.В., Потехина В.Г. Биотехнология.
18. Мосичев М.С. Общая технология микробиологических производств
19. Воробьева Л.И. Промышленная микробиология: Учебник для вузов. – М.: МГУ. – 1989. – 293с.
20. Вакула В.Л. Биотехнология, что это такое? М.: Молодая гвардия – 1989. – 301с.
21. Мишустин Е.Н. Биотехнология. Сб.: Знание. – 1988. – 64с.
22. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды/ Пер. с англ. Мехедова С.Л., Миркина С.М. – М.: Мир. – 1987. – 410с.
23. http://www.biotechnologii.narod.ru
24. http://www.nauka.ru
25. http://www.wikipedia.ru