

MAHALLIY XOM ASHYOLAR ASOSIDA POLILAKTID OLISH IMKONIYATLARI

Muzaffarova B.B.*, Xudaynazarov J.O.*, Mahkamov A.M**., Tillayev S.U.*

SHarof Rashidov nomidagi Samarqand davlat universiteti

**Organik sintez va bioorganik kimyo kafedrası*

*** O‘simliklar fiziologiyasi va mikrobiologiya kafedrası*

Annotatsiya. Mazkur maqolada respublikamizda mavjud xom ashyolar asosida mikrobiologik yo‘l bilan sut kislota olish, undan katalizator ishtirokida “ring-opening polymerization” usulida poli-sut kislota (polilaktid) olish borasidagi tadqiqotlar natijalari keltirilgan. Mikrobiologik yo‘l bilan sut kislota olish uchun *Lactiplatibacillus planetarium 3G* bakteriyasidan foydalanildi. 100 ml ozuqa namunasiga nisbatan unum 6,63 gramni, qo‘llanilgan saxaroza+kraxmalning 100 g namunasiga nisbatan esa 27.6% ni tashkil etdi. Tanlangan sharoit va katalizator ishtirokida polilaktidning hosil bo‘lish unumi 80-83%.

Kalit so‘zlar: mikrobiologik usul; sut kislota; katalizator; polilaktid; polimerlanish; ring-opening polymerization;

ПОЛИЛАКТИД НА ОСНОВЕ МЕСТНОГО СЫРЬЯ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИОБРЕТЕНИЯ

Абстрактный. В статье представлены результаты исследований по микробиологическому производству молочной кислоты на основе доступного в нашей стране сырья и производству полимолочной кислоты (полилактида) методом «полимеризации с раскрытием цикла» с присутствием катализатора. Для получения молочной кислоты микробиологическим методом использовали бактерию *Lactiplatibacillus Planetarium 3G*. Выход составил 6,63 грамм на 100 мл образца корма и 27,6% на 100 г образца использованного сахарозы+крахмала. Выход полилактида составляет 80-83% в выбранных условиях и в присутствии катализатора.

Ключевые слова: микробиологический метод; молочная кислота; катализатор; полилактид; полимеризация; полимеризация с раскрытием цикла;

POLYLACTIDE BASED ON LOCAL RAW MATERIALS ACQUISITION OPPORTUNITIES

Abstract. This article presents the results of research on the microbiological production of lactic acid based on the raw materials available in our country, and the production of polylactic acid (polylactide) using the "ring-opening polymerization" method with the presence of a catalyst. *Lactiplatibacillus planetarium 3G* bacterium was used to obtain lactic acid by microbiological method. The yield was 6.63 grams per 100 ml feed sample, and 27.6% per 100 g sample of the used sucrose+starch. The production yield of polylactide is 80-83% under the selected conditions and in the presence of a catalyst.

Key words: microbiological method; lactic acid; catalyst; polylactide; polymerization; ring-opening polymerization;

Kirish. Sut kislotasidan polilaktik (PLA) kabi yuqori qo‘shimcha qiymatli kimyoviy moddalarni sintez qilish mumkin bo‘lib, PLA hozirda keng qo‘llaniladigan bioparchalanish xususiyatli materiallar olishda asosiy komponentlardan biri hisoblanadi. Sut kislotasi ishlab chiqarish xarajatlarini kamaytirish uchun ma‘lum ozuqa muhitida mutagen bakteriyalardan foydalanish eng samarali usullardan. Shu bilan birga sut kislotasi ishlab chiqarishda hozirda keng qo‘llanilayotgan makkajo‘xori uni o‘rniga arzon xom ashyolardan foydalanish ham yaxshi natijalar beradi [1]. Bakterial ozuqa sifatida shirin jo‘xori poyasidan foydalanilganda, 1 kg shirin jo‘xoriga nisbatan L-laktid kislotasi hosil bo‘lish unumdorligi 274,79 g ni tashkil etgan [2]. Optimal sharoitlarda sanoat miqyosida yuqori sifatli sut kislotasi ishlab chiqarishning asosiy ko‘rsatkichlari yuqori titr, mahsuldorlik, rentabellik va optik tozalik bo‘lib, biroq, bir vaqtning o‘zida barcha talablarga javob beradigan samarador bakterial shtammlar mavjud emas [3].

Bacillus coagulans A534 shtammi bosqichli tajribalar asosida doimiy ravishda kislotasi zardobi, qand lavlagi, shinni, shakar noni, beda pressi yashil sharbati va tapioka kraxmalini ozuqa sifatida foydalanish mumkin. Uzluksiz fermentativ sharoitda olib borilgan tajribalar shuni ko‘rsatganki, shinni $10,34 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{soat}^{-1}$ qiymatida ishlatilsa, eng yuqori mahsuldorlikka erishiladi, sut kislotasini shakarga aylantirish unumi esa $0,86 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ ekanligi aniqlangan [4]. Vitamin C ning hujayra o‘sishi va L-sut kislotasi ishlab chiqarishga ta’siri *Lactobacillus thermophilus* A69 da o‘rganilgan va 75 mM C vitamini qo‘shilishi hujayra o‘sishi va L-sut kislotasi to‘planishida sezilarli yaxshilanishga olib kelgan [5].

L-sut kislotasi olishning mikrobiologik usuli o‘zining samaradorligi, qulayligi, arzon hamda olingan mahsulotning enantiomer tozalik darajasining yuqorigi singari afzalliklari bilan ajralib turadi. Shu bilan birga aksariyat bakteriyalarning faqat ma‘lum turdagi, masalan, makkajo‘xori uni, bug‘doy uni, kartoshka kraxmali singari ozuqa muhitlarida rivojlanishi singari omillar olingan sut kislotaning, binobarin undan olinadigan mahsulotlarning tannarxiga ta’sir ko‘rsatadi. Shu sababli L-sut kislotasi olishga imkon beruvchi yangi turdagi mikroorganizmlarni nisbatan arzon muhitlarda o‘stirish orqali tannarxi arzon bo‘lgan mahsulotlar olish, ularni raqobatbardoshligini oshirish dolzarb masalalardan biridir.

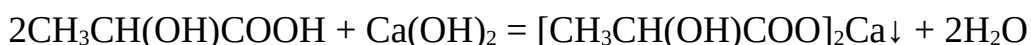
Mazkur ishda o‘simliklar fiziologiyasi va mikrobiologiya kafedrasida bazasida mavjud bo‘lgan *Lactiplatibacillus planetarium* 3G bakteriyani turli ozuqa muhitlari: kartoshka kraxmali, bug‘doy uni, makkajo‘xori uni, sharbat ishlab chiqarish korxonalari chiqindilari, sut mahsulotlari ishlab chiqarish korxonalari chiqindilari ozuqali muhitida L-sut kislotasi sintez qilish imkoniyatlarini o‘rganish hamda olingan mahsulotlardan katalizatorlar ishtirokida polisut kislotasi sintez qilish imkoniyatlarini o‘rganish natijalari keltirilgan.

Tajribaviy qism.

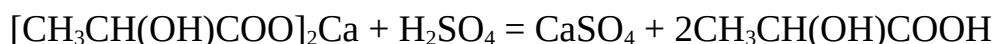
L-sut kislotasi sintezi. Sut kislotani mikrobiologik yo‘l bilan sintez qilish quyidagi asosiy bosqichlardan iborat: -bakteriyani ekish materialini tayyorlash; -ozuqa muhiti tayyorlash; -sut kislotasi biog‘ish (fermentatsiya) uchun optimal sharoit

tanlash; -yig'ilgan eritmani qayta ishlash va filtrlash; L-sut kislotani ajratish uchun kimyoviy reagent bilan ishlov berish; -cho'kmani ajratish, tozalash, parchalash jarayonlari; -sut kislotasini ajratish va tozalash.

Ushbu ishda sut kislota sintezi uchun *Lactiplatibacillus planetarium* 3G bakteriyasi qo'llanildi. Distillangan suv, kartoshka kraxmali va saxarozalar aralashmasidan ozuqa muhiti tayyorlandi. Tajriba uchun 1000 ml distillangan suv, 40 gr saxaroza va 200 gr kartoshka kraxmali ishlatildi. Aralashmaning pH qiymati sirka kislotasi yordamida pH=6.5 ga tenglashtirildi. Sut kislotasining hosil bo'lishi anaerob sharoitda, 38-40 °C, 3-5 kun davomida olib borildi. Hosil bo'lgan sut kislotasini cho'ktirish uchun Ca(OH)₂ eritmasidan foydalanildi.



100 ml namunadan cho'ktirilgan kal'siy laktatning miqdori 8.03 g bo'lib, bu toza sut kislotaga hisoblanganda 6.63 g bo'ladi. Kalsiy laktatdan L-sut kislotani toza holda ajratib olish uchun yuz 20% konsentratsiyali sulfat kislota bilan ishlov berildi.

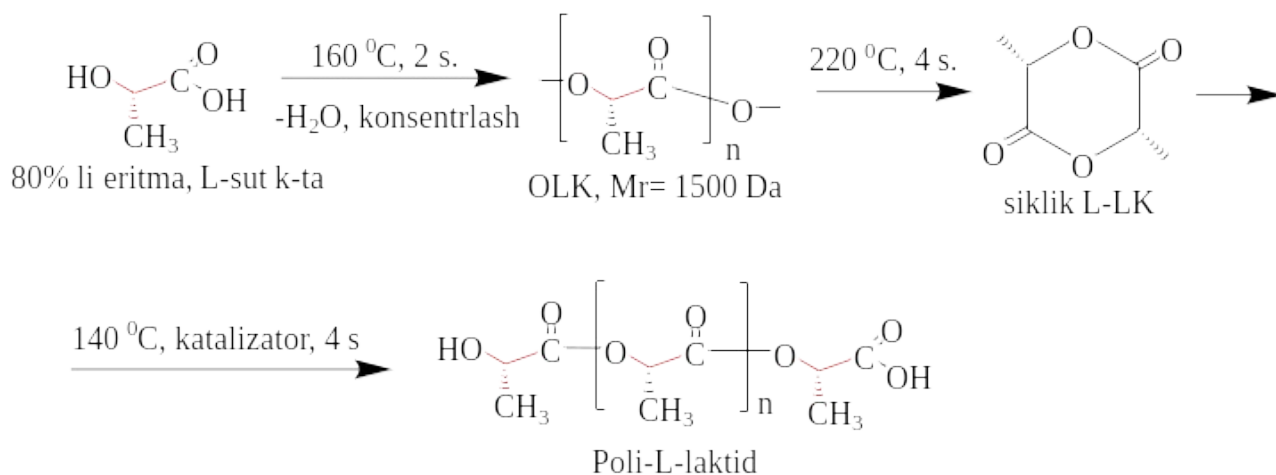


Sintez qilingan sut kislotasi IQ-spektroskopik usulda tadqiq etilib, ma'lumotlar bazasi natijalari bilan taqqoslanganda L-sut kislotasi olinganligi qayd etildi. Sut kislotasining hosil bo'lish unumi 100 ml ozuqa aralashmasiga nisbatan 6,63 gr ni yoki qo'llanilgan saxaroza+kraxmalning 100 g namunasiga nisbatan 27.6% ni tashkil etdi.

Qo'llanilgan ozuqa muhiti nisbatan qimmat bo'lgan kartoshka kraxmali bo'lib, uni arzon bo'lgan ishlab chiqarish korxonalari chiqindi mahsulotlariga almashtirish bo'yicha tadqiqotlar davom ettirilmoqda.

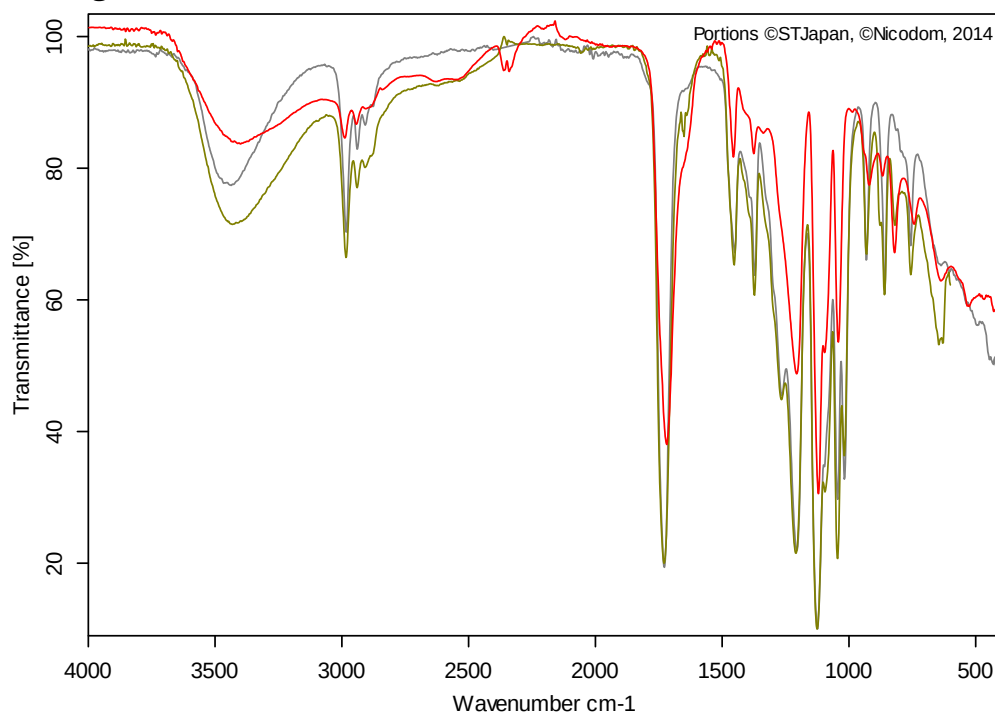
Polilaktid sintezi uchun katalizator tanlash. Yuqorida qayd etilganidek, polilaktid sintezi uchun turli birikmalardan katalizator maqsadida foydalanilgan biroq bu tajribalar ma'lum tizimga solinmagan. Shu sababli tadqiqotlarda Lyuis kislotalarining ta'sirini o'rganish maqsadida ularning individual hamda turli nisbatlardagi aralashmalaridan iborat sistemalar polilaktid olish jarayoniga ta'siri o'rganildi. Bunda Zn, Al, Fe, Sn, Sb metallarining tuzlari qo'llanildi. Adabiyotlarda qalayning turli tuzlari, xususan, qalay oktanoatining faolligi eng yuqoriligi qayd etilgan. Biroq, qalay birikmalarining zaharli ekanligidan, oziq-ovqat mahsulotlarini qadoqlash maqsadida qo'llaniladigan materiallar olishda cheklovlarni keltirib chiqaradi. Tajribalarda zaharliligi kam bo'lgan, rux va alyuminiy tuzlarining faolligi qalay birikmalaridan kam bo'lsa ham, ma'lum promotorlar ishtirokida nisbatan yuqori faollikka ega bo'lish mumkinligi aniqlandi.

Polilaktid sintez qilish. Polilaktid olishning keng tarqalgan usuli zanjirning ochilishi bilan boruvchi polimerlanish (ring-opening polymerization) usuli hisoblanadi [6]. Ushbu ishda polilaktid sintezi uchun L-sut kislotaning 80% li eritmasi (AO "Baza № 1 Ximreaktivov", Moskva) qo'llanildi. Polilaktid sintezi [7] ishda keltirilgan usul bo'yicha uch bosqichda amalga oshirildi.



1-bosqich: 2 soat davomida $160 \pm 5^\circ\text{C}$ da laktat kislota konsentrlandi va suv yo‘qotish orqali sut kislotaning oligomeri ko‘rinishga o‘tadi. Suvni yo‘qotish inert gaz – azot (“Generator azota”, Xromatek-Kristall) atmosferasida, normal bosimda o‘tkazildi. Inert muhit hosil qilinmasa hosil bo‘lgan oligomer yoki siklik laktid mahsulotlari oksidlanishi mumkin. Shu sababli azot muhitida jarayon amalga oshirildi. Azot muhitini saqlab turish uchun oqim tipida jarayonni olib borish yoki azot bilan to‘ldirilgan sharlardan foydalanish mumkin. Ishda ikki usul: a) doimiy azot oqimi o‘tkazib turish hamda b) azot bilan to‘ldirilgan sharlardan ham foydalanildi.

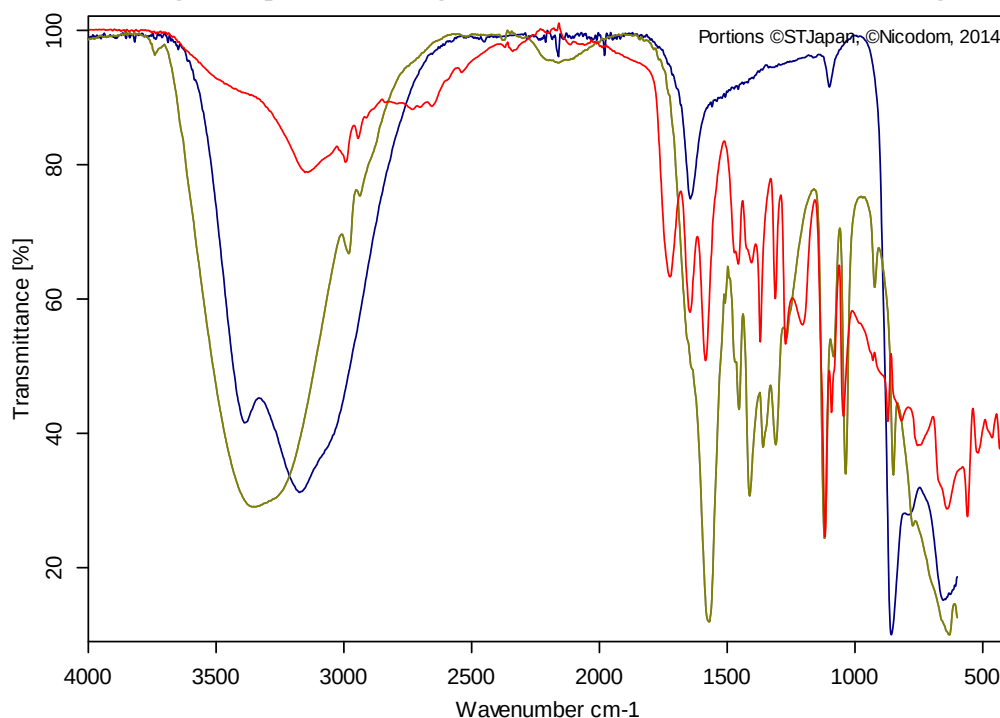
Har bir bosqichda olingan mahsulotlar IQ-spektroskopik (Bruker) usulda nazorat qilib borildi. Olingan IQ-spektrlar ATR-LIB-PHARMA-2-472-2.S01 hamda DEMILIB.S01 biblioteka bazalari ma’lumotlari bilan taqqoslanib, moddalar identifikatsiya qilindi. IQ-spektr natijalarini taqqoslab sut kislotaning dastlab oligomer laktidga, keyin siklik laktidga, undan esa polilaktidga aylanganligi to‘g‘risida xulosa qilish mumkin. Quyidagi rasmda (1-rasm) olingan oligomerning IQ-spektri keltirilgan.



1-rasm. Sut kislota oligomerining IQ-spektri (qizil rang)

2-bosqich: bunda 220 ± 10 °C da 0.02 MPa vakuum (vakuum nasosi, KNF, Germaniya) sharoitida oligomer mahsulot siklik laktidga aylanadi hamda haydash yo'li bilan kondensatsion kolbaga yig'ildi; yig'gich kolba temperaturasi 4 soat davomida 90 ± 3 °C da ushlab turildi, agar temperatura past bo'lsa laktid qotib qoladi; keyin qattiq holdagi laktid kolbadan chiqarib olindi, mahsulot sovuq suv bilan yuvildi, filtrlandi va bir kecha davomida 40 ± 2 °C da quritildi

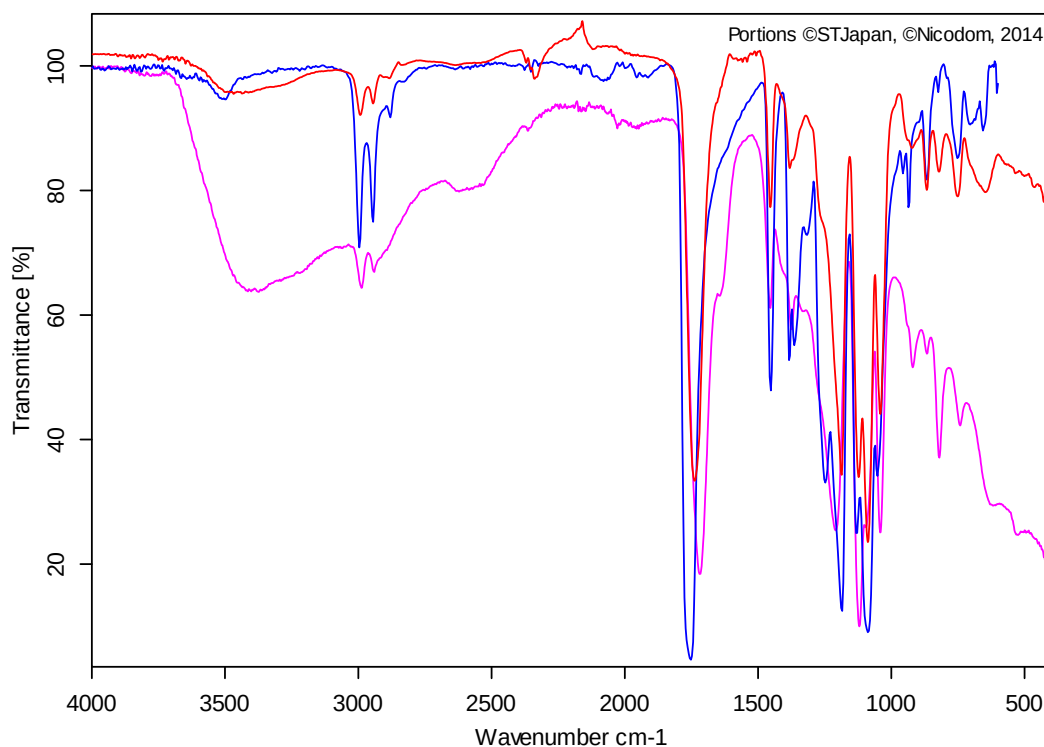
Olingan siklik laktid IQ-spektroskopik usulda tadqiq etildi va qayd etilgan spektrlar ma'lumotlar bazasi bilan qiyosiy o'rganilganda uning haqiqatan ham siklik laktidga tegishli ekanligi aniqlandi. Olingan ma'lumotlar 2-rasmda keltirilgan.



2-rasm. Siklik laktidning IQ-spektri (qizil rang) (qolgan ranglar ma'lumotlar bazasi asosida D- va L-lactic acidga tegishli)

3-bosqich: oxirgi bosqichda olingan siklik laktid katalizator – Zn, Al singari metallarning (massa jihatdan 0,05-0,1%) turlituzlari bilan aralashtirilib, 140 ± 10 °C da to'rt soat davomida polilaktidga aylantirildi.

Sintez qilingan polilaktid IQ-spektroskopik usulda tadqiq etilib, ma'lumotlar bazasi natijalari bilan taqqoslanganda haqiqatan ham polilaktid olinganligi qayd etildi. Quyidagi 3-rasmda taqqoslash natijalari keltirilgan.



3-rasm. Polilaktidning IQ-spektri (qizil rang) (ko'k rangli polosa ma'lumotlar bazasi asosida Poly(lactide)ga tegishli ekanligi aniqlandi)

Polilaktidning hosil bo'lish unumi 80-83% ni tashkil etdi. Qolgan 17-20% sut kislota oligomer ko'rinishida bo'lib, agregat holati suyuq holatda bo'ldi. Oligomerning molekulyar massasi viskozimetrik usulda aniqlanganda 450-750 orasida ekanligi, bu esa n ning qiymati o'rtacha 8-10 ekanligini ko'rsatadi.

Xulosa. Mahalliy xom ashyolar asosida mikrobiologik yo'l bilan sut kislota olish uchun *Lactiplatibacillus planetarium* 3G bakteriyasidan foydalanish imkoniyatlari o'rganildi. 100 ml ozuqa namunasiga nisbatan unum 6,63 gramni, qo'llanilgan saxaroza+kraxmalning 100 g namunasiga nisbatan esa 27.6% ni tashkil etdi. Olingan L-sut kislotasidan tanlangan sharoit va katalizator ishtirokida 80-83% unum bilan polilaktid olish mumkinligi ko'rsatildi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Xuejiao Tian, Hao Chen, Hao Liu, Jihong Chen// Recent Advances in Lactic Acid Production by Lactic Acid Bacteria// Applied Biochemistry and Biotechnology (2021) 193:4151–4171
2. Yong Wang, Kai Huo, Lijuan Gao, Guoqun Zhao, Bin Wangb and Jinlong Liu// Open simultaneous saccharification and fermentation of L-lactic acid by complete utilization of sweet sorghum stalk: a water-saving process// RSC Adv., 2021, 11, 5284 DOI: [10.1039/d0ra09480c](https://doi.org/10.1039/d0ra09480c)
3. Xiwei Tian , Xuehua Liu , Yifan Zhang , Yang Chen , Haifeng Hang , Ju Chu, Yingping Zhuang// Metabolic engineering coupled with adaptive evolution strategies for the efficient production of high-quality L-lactic acid by *Lactobacillus paracasei*// Bioresource Technology Volume 323, March 2021, 124549 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124549>

4. Agata Olszewska-Widdrat , Maria Alexandri, José Pablo López-Gómez , Roland Schneider and Joachim Venus// Batch and Continuous Lactic Acid Fermentation Based on A Multi-Substrate Approach// Microorganisms 2020, 8, 1084; doi:10.3390/microorganisms8071084
5. Xuejiao Tiana, Wei Hua, Jihong Chena, Wei Zhangc , Wenjian Li// The supplement of vitamin C facilitates L-lactic acid biosynthesis in Lactobacillus thermophilus A69 from sweet sorghum juice coupled with soybean hydrolysate as feedstocks// Industrial Crops & Products 146 (2020) 112 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112159>
6. Xudaynazarov J.O., Tillayev S.U. Biodegradatsiyalanuvchan materiallar olish uchun oksikislotalar asosida matritsalar sintez qilish // SamDU Ilmiy axborotnomasi. 2023 yil. 5-son 1-seriya. 118-122 betlar. DOI: <https://doi.org/10.59251/2181-1296.2023.v5.141.2.2358>
7. Milena S. Lopes, André L. Jardini, Rubens M. Filho. Synthesis and Characterizations of Poly (Lactic Acid) by Ring-Opening Polymerization for Biomedical Applications // Chemical Engineering Transactions, Vol. 38, 2014 331-336 DOI: 10.3303/CET1438056.