ს. დურმიშიძის სახელობის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი

ხელნაწერის უფლებით

მარიკა აბაშიძე

ცელულაზების მოქმედებით დაბალმოლეკულური შაქრების მიღება და მათი გამოყენება პურის ცხობის პროცესში

03.00.23 – ბიოტექნოლოგია

დისერტაცია წარდგენილია ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიტატის სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი
გ ი ო რ გ ი კ ვ ე ს ი ტ ა ძ ე
ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატი
ი ზ ო ლ დ ა ხ ო ხ ა შ ვ ი ლ ი

თბილისი
2006

ს ა რ ჩ ე ვ ი

შესავალი.

თავი I. ლიტერატურის მიმოხილვა.

1.1 ცელულაზების პროდუცენტი მიკროორგანიზმები.

1.2 კულტივირების პირობების გავლენა ცელულაზების ბიოსინთეზზე.

1.3. დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატების მიღება ცელულოზაშემცველი ნედლეულიდან.

თავი II. ექსპერიმენტული ნაწილი.

კვლევის მასალები და მეთოდები.

2.1 ცელულაზის პროდუცენტი მიკროსკოპული სოკოების შერჩევა.

2.2. *Aspergillus versicolor* M-ის ტოქსიკურობის დადგენა.

2.3. *Aspergillus versicolor* M-ის პათოგენურობის დადგენა.

2.4. ცელულაზური აქტივობის განსაზღვრა ფილტრის ქაღალდის მიხედვით.

2.5 ქსილანაზური აქტივობის განსაზღვრა.

2.6. ცელულოზაშემცველი სუსტრატების ქიმური შემადგენლობის განსაზღვრის მეთოდები.

2.7. აღმდგენელი შაქრებისა და გლუკოზის რაოდენობის განსაზღვრა.

2.8. ნახშირწყლების თვისებითი ანალიზი ქაღალდის ქრომატოგრაფიის გამოყენებით.

2.9. ცელულაზის ტექნიკური პრეპარატის მიღება.

2.10. ფერმენტული პრეპარატების თერმოსტაბილურობის დადგენა.

2.11. დაბალმოლეკულური შაქრების მიღება ცელულოზაშემცველი ნედლეულის ფერმენტული ჰიდროლიზით.

2.12. ლაბორატორიულ პირობებში ცომისა და პურის მომზადების მეთოდი.

2.13. ექსპერიმენტული მონაცემების დამუშავების ელემენტარული მათემატიკური ფორმულა.
თავი III. მიღებული შედეგები და მათი განსჯა.
3.1 ცელულაზას პროდუცენტი მიკროსკოპული სოკოების შერჩევა.
3.2 აქტიური ცელულაზას პროდუცენტი *A.versicolor*-M-ის კულტივირების ოპტიმალური პირობების შერჩევა.
3.3. ცელულაზას ფერმენტული პრეპარატების მიღება და ზოგიერთი ფიზიკო-ქიმიური თვისებების შესწავლა.
3.3.1.საინკუბაციო არის pH-ის გავლენა *A. versicolor*-M -ის ცელულაზური პრეპარატების აქტივობაზე.
3.3.2. საინკუბაციო არის ტემპერატურის გავლენა *A.versicolor*-M-ის ცელულაზური პრეპარატის აქტივობაზე.
3.5.3 *A. versicolor*-M-ის ცელულაზის თერმომედეგობის შესწავლა.
თავი IV. დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატების მიღება.
4.1 სუბსტრატების დახასიათება.
4.2. ცელულოზაშემცველი სუბსტრატების ჰიდროლიზი ცელულაზური პრეპარატის გამოყენებით.
თავი V.დაშაქრებული ჰიდროლიზატების გამოყენება პურ-ფუნთუშეულის ნაწარმის მომზადებისას.
დასკვნები.
გამოყენებული ლიტერატურა.

შ ე ს ა ვ ა ლ ი

კვების მრეწველობის ერთ-ერთ უმნიშვნელოვანეს ამოცანას წარმოადგენს ნედლეულის რაციონალური და ეკონომიური ხარჯვა, მათი დანაკარგების შემცირება მეორადი პროდუქტების გამოყენების გზით – მცირე ნარჩენიან

ტექნოლოგიებზე გადასვლა და ამასთანავე კვების პროდუქტების ბიოლოგიური ღირებულებისა და ხარისხის ამაღლება. კვებითი ღირებულების ამაღლების ერთ-ერთი საშუალებაა დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატების წარმოება და მათი გამოყენება საქაროზის შემცვლელად.

ცნობილია, რომ დიდი რაოდენობით საქაროზას მიღებამ შეიძლება გამოიწვიოს ნახშირწყლებისა და ცხიმების ცვლის დარღვევა, რაც საფუძველია სხვადასხვა დაავადებების განვითარების (შაქრიანი დიაბეტი, ათეროსკლეროზი და ა.შ.). გლუკოზას კი სხვა შაქრებთან შედარებით გააჩნია მაღალი ხვედრითი ენერგია და ადვილად მეტაბოლიზირებადია. მეორეს მხრივ, კონცენტრირებული შაქრის სიროფის მიღება სხვადასხვა არატრადიციული ნედლეულიდან და მისი გამოყენება მნიშვნელოვნად ამცირებს ენერგეტიკულ დანახარჯებს შაქრის წარმოების და ასევე მისი გამოყენების სტადიებზე.

მეცნიერულად დასაბუთებულია დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზა-ტების გამოყენების ეფექტურობა ხორბლის პურ-ფუნთუშეულის წარმოებაში. ხორბლის ფქვილში მადუღარი შაქრების ნაკლებობის გამო დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატების გამოყენება იწვევს საფუვრების გააქტიურებას, რაც ამცირებს მათ ხარჯს 20-30%-ით, ახდენს ცომის მომზადების ინტენსიფიკაციას 1-2სთ-ით. უმჯობესდება პურის ხარისხი, რაც მეტად მნიშვნელოვანია და შესაძლებლობა იქმნება შემცირდეს საქაროზას შემცველობა ნაწარმში.

პრაქტიკულად, ფერმენტული ჰიდროლიზატების მიღება ძირითადად წარმოებს არატრადიციული მცენარეული ნედლეულის გარდაქმნის ხარჯზე.

მცენარეული ნედლეულის გარდაქმნაში ძირითად ფაქტორს წარმოადგენს მიკროორგანიზმის კულტურა, რომლის პოლიფერმენტული ცელულაზური კომპლექსი ახორციელებს ცელულოზის კონვერსიას დაბალმოლეკულურ β-ტიპის მონო- და ოლიგოსაქარიდებად. აქედან გამომდინარე დიდი მნიშვნელობა ენიჭება ცელულაზების აქტიური პროდუცენტის ძიებას. უკანასკნელ წლებში განსაკუთრებით გაიზარდა ინტერესი ცელულაზას პროდუცენტი თერმოფილური მიკროორგანიზმების მიმართ, რაც განპირობებულია იმით, რომ სარეაქციო არის მაღალი ტემპერატურა უზრუნველყოფს ტექნოლოგიური პროცესის ინტენსიფიკაციას, გამორიცხავს პროცესის მიკროფლორით დაბინძურებას.

მცენარეული ნედლეულიდან თხევადი შაქრის წარმოების ეფექტური ტექნოლოგიის შემუშავების დროს გადამწყვეტი მნიშვნელობა ენიჭება ფერმენტული პრეპარატების სწორად შერჩევასა და ფერმენტული ჰიდროლიზის ოპტიმალური ტექნიკური პარამეტრების დადგენას.

მაღალაქტიური მიკრობული შტამების სელექცია, მათი საკვები არეების შერჩევა და კულტივირების პირობების ოპტიმიზაცია ის აუცილებელი ეტაპებია, რაც საშუალებას იძლევა მიღებული იქნას მაღალაქტიური ფერმენტული პრეპარატები და მათი გამოყენებით შეიქმნას პრინციპულად ახალი და ეფექტური ტექნოლოგიები.

<u>კვლევის მიზანი და ამოცანები.</u> სამუშაოს მიზანს წარმოადგენდა ცელულაზას აქტიური, ექსტრემოფილური პროდუცენტის შერჩევა, აქტიური ტექნიკური ფერმენტული პრეპარატის მიღება, კვების მრეწველობისათვის გამოსადეგი, იაფადღირებული ცელულოზური სუბსტრატების შერჩევა; ფერმენტული ჰიდროლიზის გზით დაშაქრებული სიროფების მიღება, ჰიდროლიზის პროცესის ოპტიმიზაცია და ჰიდროლიზატების გამოყენება პურ-ფუნთუშეულის წარმოებაში.

ამ მიზნის მისაღწევად დავისახეთ შემდეგი ამოცანები:

1. ცელულაზის პროდუცენტი მიკროსკოპული სოკოების შერჩევა;
2. აქტიური პროდუცენტების სიღრმული კულტივირების ოპტიმალური პირობების დადგენა;
3. ცელულაზის ტექნიკური პრეპარატების მიღება და მათი ზოგიერთი ფიზიკო-ქიმიური თვისებების შესწავლა;
4. დაშაქრებული ჰიდროლიზატების მისაღებად ცელულოზაშემცველი მცენარეული სუბსტრატების შერჩევა და მათი ქიმიური შემადგენლობის გამოკვლევა;
5. დაშაქრებული ჰიდროლიზატების მიღება მცენარეული სუბსტრატების ფერმენტული გარდაქმნის გზით;
6. დაშაქრებული ჰიდროლიზატების გამოყენება პურ-ფუნთუშეულის ნაწარმის მომზადებისას.

<u>ნაშრომის მეცნიერული სიახლე.</u> სელექციურად შერჩეულია ცელულაზას პროდუცენტი თერმოფილური, არატოქსიკური და არაპათოგენური შტამი *Aspergilus*

versicolor-M. დადგენილია, რომ *Aspergilus versicolor-M-დან* მიღებული ცელულაზური პრეპარატი გამოირჩევა მაღალი თერმომედეგობით. მიღებულ პრეპარატს შესწევს ცელულოზის ინტენსიური ჰიდროლიზის უნარი. შემოთავაზებულია კვების მრეწველობის ნარჩენებისა და ხორბლის ფქვილის უდანაკარგოდ გამოყენების შესაძლებლობა მათგან დაშაქრებული ჰიდროლიზატების მიღებით და ამ ჰიდროლიზატის გამოყენებით საქაროზას შემცვლელად პურ-ფუნთუშეულის წარმოებაში.

ჩატარებული ბიოტექნოლოგიური კვლევების საფუძველზე შემუშავებულია პურის წარმოების ეფექტური ტექნოლოგიური მეთოდი.

<u>ნაშრომის პრაქტიკული მნიშვნელობა.</u> სელექციის შედეგად მიღებულია ცელულაზას აქტიური პროდუცენტი თერმოფილური შტამი *Aspergillus versicolor*-M. მაღალაქტიური თერმომედეგი ცელულაზური პრეპარატის არსებობა საშუალებას გვაძლევს გამოვიყენოთ იგი ბიოტექნოლოგიურ პროცესებში, კერძოდ დაშაქრებული ჰიდროლიზატების მისაღებად. ჩატარებული გამოკვლევების შედეგად დადგენილია დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატების პრაქტიკული გამოყენების შესაძლებლობა პურ-ფუნთუშეულის წარმოებაში.

დადგენილია, რომ დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატები ნაწარმს ამდიდრებენ ადვილად შესათვისებელი ნახშირწყლებით, იწვევენ დუღილის პროცესის ინტენსიფიკაციას, უზრუნველყოფენ პურის კვებითი ღირებულების ამაღლებასა და გარკვეულ ეკონომიურ ეფექტს.

ლიტერატურის მიმოხილვა

თავი I

1.1 ცელულაზების პროდუცენტი მიკროორგანიზმები

ცელულაზების ბიოსინთეზის უნარი ფართოდ არის გავრცელებული სხვადასხვა ტაქსონომიური ჯგუფის მიკროორგანიზმებში. მათ მიერ პროდუცირებული ცელულაზური კომპლექსების კომპონენტების შედგენილობა და აქტივობა

მნიშვნელოვნად ცვალებადია და დამოკიდებულია პროდუცენტის სახეობაზე და მისი კულტივირების პირობებზე.

ცელულაზების ყველაზე აქტიურ პროდუცენტებს მიკროსკოპული სოკოები წარმოადგენენ. ცელულაზის დამშლელი მიკროორგანიზმებიდან 90%-ზე მეტი მიცელიალურ სოკოებზე მოდის. ცელულაზების მეორე პერსპექტიულ წყაროს წარმოადგენენ ბაქტერიები. პირველი სამუშაოები, რომლებიც ეძღვნებოდა ცელულოზის ბიოლოგიურ დაშლას, სწორედ ბაქტერიებზე მიმდინარეობდა. ამჟამად ცნობილია მრავალი გრამდადებითი და გრამუარყოფითი ბაქტერიები, ობლიგატური აერობები, ობლიგატური და ფაკულტატური ანაერობები, რომლებსაც უნარი აქვთ წარმოქმნან ცელულაზები. *Bacillus-ob* გვარის ბაქტერიებიდან შეიძლება გამოვყოთ ცელულოზის აქტიური პროდუცენტები *Bac. polymyxa* B 514*,* B 609*, Bac. bravis* /35/. ცნობილია *Cytophaga*-ს, *Sporocytophaga*-ს გვარის ბაქტერიები, რომლებიც გამოირჩევიან ცელულოზის აქტიური ჰიდროლიზით /209/. გარდა ზემოთ ჩამოთვლილი ბაქტერიებისა ცელულოზის, როგორც ნახშირბადის ერთადერთ წყაროდ გამოყენების უნარი გააჩნიათ *Sporagenium*-ის და *Archangium*-ის გვარის მიკობაქტერიებს /13/ .

აქტინომიცეტებს შორის ცელულაზების აქტიური პროდუცენტები იშვიათად გვხვდება. შესწავლილია ხრწნადი მცენარეული მასალიდან გამოყოფილი აქტინომიცეტების 12 კულტურა, მათ შორის მხოლოდ 4 შტამს, *Streptomyces*-ის გვარიდან ჰქონდა ცელულოზის აქტიური ჰიდროლიზის უნარით /132/. ცნობილია უჯრედგარე ცელულაზების წარმომქმნელი შტამი *Streptomyces flavogriseus* /168/. ლიტერატურაში ძალიან მცირე ცნობებია საფუვრების ცელულაზურ ფერმენტებზე. ცნობილია *Trichosporon*-ის გვარის საფუვრები, რომლებიც წარმოქმნიან გარეუჯრედ ცელულაზებს, მათ ბამბის სუსტი ჰიდროლიზის უნარი გააჩნიათ, მაგრამ შედარებით მაღალი აქვთ ქსილინაზური აქტივობა /21/. უჯრედგარე β-გლუკოზიდაზას წარმოქმნის *Candida cocaol* /208/. საფუვრისმაგვარი სოკო *Aureobasidium sp.* მიკროკრისტალურ ცელულოზიან არეებზე კულტივირებისას, აქტიურად წარმოქმნის ცელულაზებს /186/.

როგორც აღვნიშნეთ, ცელულაზების ყველაზე უფრო აქტიური პროდუცენტები არიან მიკროსკოპული სოკოები. პირველად სოკოების ცელულოზადამშლელი თვისებები დაადგინა დე-ბარიმ 1886 წელს. მან მიიღო სოკოს *Botritis sp*-ის

მიცელიუმიდან ექსტრაქტი, რომელიც შლიდა მცენარეთა უჯრედის გარს და მას ფერმენტი ციტაზა უწოდა /13/.

ამჟამად ცნობილია, რომ უჯრედისის დაშლაში მნიშვნელოვანი როლი ეკუთვნის სოკოებს, კერძოდ დეიტერომიცეტებს, ასკომიცეტებს და ბაზიდიომიცეტებს. ცელულოზადამშლელი სოკოები უმთავრესად გავრცელებულია ნიადაგში. ბილაი და შემიტიუკი /14/ იკვლევდნენ რა უკრაინის სავადასხვა ტიპის ნიადაგების ცელულოზადამშლელ მიკრომიცეტებს, დაადგინეს, რომ იქ არის გავრცელებული *Fusarium*-ის და *Stachybotrys*-ის, *Penicillium*-ისა და *Trichoderma*-ს გვარის სოკოები.

საქართველოს წითელმიწა ნიადაგების მიკროფლორის შესწავლისას გამოყოფილია ცელულაზური აქტივობის მქონე სხვადასხვა გვარის სოკოები: *Botrytis, Chaetomium, Penicillium, Mucor, Phoma* და სხვა სოკოები /19/. საქართველოს სხვადასხვა ნიადაგებიდან შალამბერიძემ *Trichoderma*-ს, *Penicillium*-ის და *Aspergillus*-ის გვარებიდან გამოყო სოკოების დაახლოებით 300 სხვადასხვა შტამი. მათ შორის ყველაზე მაღალი ცელულოზადამშლელი უნარი გააჩნდა *Trichoderma*-ს გვარს /114/. ლობანოკმა და შკლიარმა /60/ სხვადასხვა მცენარეული ნარჩენებიდან გამოყვეს ცელულაზადამსლელი სოკოს 153 კულტურა, რომელთა შორის გვარი *Aspergillus* წარმოდგენილი იყო 50 კულტურით, აქედან *Penicillium*-40, *Trichoderma*-63, *Mucor*-3, *Dematium*-1, *Verticillium*-1 და *Chaetomium*-1.

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მცენარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტში ცელულაზების აქტიური პროდუცენტის გამოყოფის მიზნით, შესწავლილია მიკრომიცეტების 1600 შტამი, რომლებიც თავის მხრივ გამოყოფილია საქართველოს სხვადასხვა ნიადაგებიდან, მცენარეული სუბსტრატებიდან და ცხელი წყლებიდან. შემოწმებულია სოკოები შემდეგი გვარებიდან: *Rhizopus, Mucor, Penicillium, Aspergillus, Alternaria, Trichoderma, Trichthecium, Cladosporium, Fusarium, Curvularia, Dextilium, Aceremonium, Stenfilium, Sporotrichum, Allescheria, Chaetomium, Malbrancheria, Pestalotia, Monocillium* და რიგიდან *Mycelia sterilia*./43/

დადგენილია, რომ ამ კულტურათა უმრავლესობას გააჩნია ცელულოზიან არეზე სიღრმული კულტივირებისას უჯრედგარე ცელულაზების ბიოსინთეზის უნარი. ცელულოზადამშლელი უნარის მქონე სოკოებიდან გავრცელების მიხედვით პირველ ადგილზეა *Trichoderma*-ს გვარის სოკოები, რომლებიც წარმოდგენილია შემდეგი სახეობებით: *T.viride, T.lignorum* და *T. koningii*. მოცემული გვარის შტამების

უმრავლესობა ასინთეზებს ცელულაზებს, რომლებსაც გააჩნიათ აქტივობა Na-კარბოქსიმეთილცელულოზის (Na-კმც), ფილტრის ქაღალდის და ცელულობიოზის მიმართ. ზოგიერთს კი გააჩნია მხოლოდ ერთი ან ორი ზემოთ აღნიშნული აქტივობა. მეორე ადგილზე არიან *Aspergillus*-ს გვარის სოკოები. ცელულაზების პროდუცენტები აღმოჩენილია შემდეგ სახეობებში: *A.terreus, A.versicolor, A.terricola, A.nidulans, A.clavatus, A.fumigatus,A.niger, A.tamarii, A.ochraceus, A.oryzae, A.wentii, A. glaucus, A.repens, A.flavus, Aa.candidus, A. awamori, A. batatae* და *A.usamii*. ყველა შტამს გააჩნია აქტივობა Na-კმც-ს მიმართ, უმრავლესობას ფილტრის ქაღალდის და ცელობიოზის მიმართ. ყველაზე აქტიურები აღმოჩნდნენ *A.versicolor*-ისა და *A.wentii*-ს ცელულაზები. მესამე ადგილზეა *Penicillium*-ის გვარის სოკოები. ცელულაზების წარმოქმნის უნარი გააჩნიათ სახეობებს: *P.purpurogenum, P.verucosum, P.notatum, P.rubrum.*

ცელულაზების საუკეთესო პროდუცენტებად ითვლება *T.viride*. ცელულაზების კომპლექსის აქტიური ბიოსინთეზი შეინიშნება *Trichoderma viride*-ს კულტივირებისას თხიერ არეში 1% ხორბლის ჩალის არსებობისას და *Trichoderma viride*-9101-ს ზრდისას სტაციონალურ ფაზაში, როდესაც ორგანული აზოტი შეტანილია ადრეულ სტადიაში /190/. *T.viride*-ს კულტურალური სითხიდან გამოყოფილ ცელულაზას შეუძლია მოახდინოს 72 საათში მიკროკრისტალური ცელულოზის 80%-ის ჰიდროლიზი /133/. აღნიშნულია, რომ *T.viride*-ს გააჩნია ყველაზე მაღალი აქტივობა ბამბის მიმართ /222/. *T.viride*-ს ნაკლია, რომ მას ახასიათებს გლუკოზიდაზის დაბალი აქტივობა. *T.viride*-ს დამატებისას ძლიერდება ფერმენტული კომპლექსის მოქმედება /20,133/. ცელულაზურ აქტივობებს ამჟღავნე-ბენ აგრეთვე *Trichoderma*-გვარის სხვა წარმომადგენლებიც: *T. lignorum, T. koningii, T. pseudokoningii, T. longibrachiatum* და *T. harzianum*. ნიადაგის საფუვრებისა და მიკომიცეტების სხვადასხვა სახეობის 130 შტამის შესწავლისას გამოყოფილია *T. longibrachiatum*, რომლის ცელულაზურ კომპლექსს, როგორც ავტორები აღნიშნავენ გააჩნია C1, CX და ენდოგლუკანაზური აქტივობები /96/. ცელულაზების წარმოქმნის უნარზე შემოწმდა *Trichoderma*-სა და *Aspergillus* -ის გვარის 30 შტამი, ყველაზე მაღალი ცელულაზური აქტივობა აღმოაჩნდა *T. harzianum*-ს /214/. ცნობილია კიდევ ერთი შტამი *T. harzianum*, რომლის კულტურალურ სითხეში თითქმის მთლიანად

გამოვლენილია ფილტრის ქაღალდისა და კმც-აზური აქტივობები, აგრეთვე, β-გლუკოზიდაზური აქტივობის 28% უჯრედებთანაა დაკავშირებული /174/.

Aspergillus-ის გვარის სოკოები ჯამური ცელულაზური აქტივობით ჩამორჩებიან *Trichoderma*-ს გვარის სოკოებს, მაგრამ მათი უპირატესობა ის არის რომ, ცელულაზური კომპლექსების შემადგენლობაში აღინიშნება მეტი ცელობიაზური აქტივობა. სახეობა *A.terreus*-ი, როგორც ცელულაზების პროდუცენტი, ხშირად გვხვდება გამოქვეყნებულ შრომებში. შტამს *Aspergillus terreus* (ВКМ F-220, Д), რომელიც გამოყოფილია მოსკოვის ოლქის სერპუხოვოს რაიონის ტყის ნიადაგიდან, უნარი აქვს გამოყოს ლიგნოცელულოზიან არეში, აქტიური ცელულაზური კომპლექსი (ენდოგლუკანაზა, ცელობიოჰიდროლაზა და ცელობიაზა), რომელიც ახდენს ცელულოზის ჰიდროლიზს გლუკოზამდე /161/. *A.terreus*-ის სხვა შტამის ცელულაზური კომპლექსი შედგება ენდოგლუკანაზისაგან, რომელიც უპირატესად აჰიდროლიზებს პოლიმერულ სუბსტრატებს და დაბალმოლეკულური ცელოდექსტრინების დამშლელ β-გლუკოზიდაზას /17/. წინასწარ ტუტით დამუშავებულ თივაზე, ნახერხზე და შაქრის ჭარხლის პულპიან არეებზე გაზრდისას *A.terreus* F-413 ავლენს მაღალ ფერმენტულ აქტივობებს /232/.

ლიგნოცელულაზურ მასალებზე ზრდისას, კომპოსტიდან გამოყოფილი სოკოს 5 კულტურიდან დომინირებს ცელულაზური კომპლექსის ყველა კომპონენტის წარმომქმნელი *A. fumigatus* /211/. სუფთა ცელულოზაზე ზრდისას *A. fumigatus*-ის სხვა შტამი წარმოქმნის ცელულაზებს, რომლებიც შლიან ავიცელს, კმც-ს და აგრეთვე სხვა β-გლუკოზიდაზას და ქსილანაზას მცირე რაოდენობით /231/. უზბეკეთის ნიადაგებიდან გამოყოფილი *A. fumigatus*-ის ყველა შტამი, აჰიდროლიზებს ბამბის ბოჭკოსა და ფილტრის ქაღალდის ცელულოზას.

ნატიური ცელულოზის ან მისი ხსნადი წარმონაქმნების არეებზე გაზრდილი შტამი *A.flavus*-ის ცელულაზური კომპლექსი გამოყოფდა უჯრედგარე ცელულაზას, რომელიც გაწმენდისას, როგორც ავტორი აღნიშნავს, წარმოდგენილი იყო რვა კომპონენტით: ხუთი- მაღალმოლეკულური მასით, და სამი დაბალმოლეკულური მასით. ცელულოზაზე მათი მოქმედებისას აღინიშნება სინერგიზმი /210/.

Aspergillus flavus-ის ВКМ F-3292-დან მიღებულია ცელულაზების კომპლექსური პრეპარატი, შემუშავებულია ცალკეული კომპონენტების სუფთა სახით მიღების მეთოდები.

Aspergillus-ის გვარიდან ცელობიაზის თვალსაჩინო პროდუცენტებად მიჩნეულია შტამები *A. phoenicis, A. awamori* და *A. niger*, მათ შორის საუკეთესოა შტამი *F. phoenicis* QM 329 /220/.

ხშირად გვხვდება ცელულაზების პროდუცენტები *Penicillium*-ის გვარის სიკოებში. 124 შტამის სკრინინგმა, რომლებიც წარმოდგენილი იყო *Penicillium*-ის 28 გვარის 89 სახეობით, გვიჩვენა, რომ გამოკვლეული შტამების 39% სხვადასხვა ლინგოცელულოზურ სუბსტრატზე წარმოქმნის ცელულაზას. ყველაზე აქტიურები აღმოჩნდნენ ჰემიცელულოზაზე გაზრდილი *P.citrinum* და *P.funiculosum*. ჭაობების დაშრობისას გამოყოფილი *P.brevi-compactum, P.citrinum, P.funiculosum, P.canescens, P.thomil* და *P.spinulosum* შლიან ცელულოზას 80%-მდე, ყველაზე აქტიური ამ დროს იყო სექცია *Monoverticilata*-ს წარმომადგენლები განსაკუთრებით *P.thomii* /111/. შესწავლილი იყო ნიადაგიდან და სასოფლო-სამეურნეო მცენარეების სხვადასხვა ორგანოებიდან გამოყოფილი *Penicillium*-ის გვარის სხვადასხვა სახეობების 1150 შტამის ცელულაზური აქტივობები, მათი ზედაპირული კულტივირებისას, ზრდის 20-30 დღეს აღინიშნებოდა ფილტრის ქაღალდის ზოლის დაშლა. ყველაზე აქტიურად უჯრედისის დამშლელია *P.thomii, P.frequentans, P. waksmani*, *P.lanosum,P. funiculosum* და სხვა სახეობები. ხოლო *P. decumbens, P. canescens, P.purpurogenum, P.rubrum* და სხვები ან სუსტად იზრდებიან, ანდა სულ არ იზრდებოდნენ უჯრედისზე. ჩატარებული სამუშაოების შედეგად ტაილანდისა და იაპონიის ბუნებრივი წყაროებიდან გამოყოფილია ცელულოზის ჰიდროლიზის უნარის მქონე სოკოების 22 სახეობის 64 შტამი. ყველაზე ეფექტური ცელულაზების პროდუცენტია *P.purpurogenum*-P-26. ცელულაზების აქტივობა ოპტიმალური ზრდის პირობებში მაქსიმუმს აღწევს კულტივირების მე-10, მე-12 დღეს /233/.

ცელულაზების პროდუცენტი *Penicillium funiculosum*-ის შედარებისას ცელულაზების ცნობილ აქტიურ პროდუცენტებთან *Myrothecium verrucaria* და *Trichoderma viride* QM 9123 დადგინდა, რომ ცელულაზების წარმოქმნის მიხედვით *Penicillium funiculosum*-ის აქტივობა გაცილებით აღემატება *Myrothecium*-ის აქტივობას და მხოლოდ უმნიშვნელოდ ჩამორჩება *Trichoderma*-ს. შტამ *Penicillium funiculosum*-ის უპირატესობაა ის, რომ ცელულაზების მაქსიმალური დაგროვება კულტურალურ სითხეში ხდება კულტივირების მე-4 დღეს, მაშინ როცა *T.viride*-სი მე-8 დღეს და თანაც ამ სოკოს კულტურალური სითხე, ბამბის ბოჭკოს ჰიდროლიზის უნარის

მიხედვით არ ჩამოუვარდება *T.viride*-ს. შტამი *Penicillium funiculosum*-I მეტად საინტერესოა იმით, რომ გააჩნია ოთხი ენდოგლუკანაზა და ორი β-გლუკოზიდაზა, ორი ცელობიოჰიდროლაზა და ეგზოგლუკოზიდაზა /142/.

ეგვიპტეს ნიადაგიდან გამოყოფილი და შესწავლილი იქნა ცელულოზადამშლელი სოკოს 92 სახეობა. მათი ცელულაზური აქტივობა შემოწმებული იქნა ცელულოზიან ჩაპეკის არეზე. დადგინდა, რომ სოკოების უმრავლესობას შეუძლია ცელულოზის, როგორც ნახშირბადის ერთადერთი წყაროს გამოყენება და ამგვარად ცელულოზის შემცველი მცენარეული ნარჩენების დაშლაში მონაწილეობის მიღება /203/.

პერიმ და სლეიტერმა ნიადაგიდან გამოყვეს შტამი *P. simplicissimum*, რომელიც ცელულაზური კომპლექსის ყველა კომპონენტს წარმოქმნის. ამ შტამის ენდოგლუკანაზისა და ცელობიოჰიდროლაზის აქტივობის დონით შეიძლება შევადაროთ *T.reesei* QM 9414-ის აქტივობის დონეს /211/. ნიადაგიდან გამოყოფილ იქნა შტამი *P.janthinellum* 778-1, რომელსაც უნარი აქვს წარმოქმნას მაღალაქტიური ცელულაზები. ოპტიმალურ თხევად საკვებ არეში 60 საათის განმავლობაში ეს სოკოები წარმოქმნის ცელულაზების აქტივობებს ფილტრის ქაღალდის, კმც-ს და ბამბის მიმართ. მაქსიმალურ აქტივობას ცელულაზები ავლენენ 50-60 C-სა და ph-4,5-5,0-ზე.

შტამი *P.janthinellum*-ის ცელულაზები თავისი უნარით დაშალონ ჩალა აღემატებიან შტამ *Trichoderma reesei* QM 9414-ს /242/. შტამი *P.iriense Borr* ცელულოზის შემცველ თხევად არეზე წარმოქმნის ცელულაზების კომპლექსს, რომელსაც შეუძლია დაშალოს ცელულოზის ხსნადი და უხსნადი ფორმები. ავტორების მიხედვით, კომპლექსი დაყოფილია ხუთ ცილოვან ფრაქციად-სამი ავლენს კმც-აზურ აქტივობას, ერთი ცელობიაზურ და ერთიც C1 აქტივობას. ფრაქციები ავლენენ ბამბის ბოჭკოს დაშლაში სუსტ სინერგიზმს /135/. ცნობილია, ასევე ცელულაზის პროდუცენტები *P.digitatum 24, P.claviforme, P. notatum IF*/21/.

ცელულოზადამშლელი თვისებების მქონე მუქი ფერის ჰიფომიცეტებიდან ძირითადად გამოყოფილია შემდეგი გვარის წარმომადგენლები: *Alternaria, Cladosporium, Humicola* და *Stemphylium*. მუქი ფერის ჰიფომიცეტების მრავალი სახეობის ცელულაზური თვისებების შედარებითი შესწავლისას გამოვლენილია ცელულოზის ნატივური და სახეშეცვლილი ფორმების ჰიდროლიზში მაღალი

აქტივობა. ამასთანავე მიუხედავად სოკოების უხვი ზრდისა, ყველა შტამს არა აქვს ერთნაირად ქაღალდის ჰიდროლიზის უნარი, მხოლოდ შტამების 14,4%-ის კულტურალურ სითხეშია აღმოჩენილი შაქარი: გლუკოზა, ცელობიაზა, ცელოოლიგოსაქაროზა და პენტოზა/58/. უკრაინის საბაღე სხვადასხვა ნიადაგებიდან გამოყოფილია მუქი ფერის ჰიფომიცეტები, რომელთა შორისაც მაღალი აქტივობა გააჩნიათ შემდეგი სახეობის შტამებს: *Cladosporium sp.* და *Alternaria sp., Humicola grisea* და *Stemphylium botryosum*. აქტიური შტამები გამოვლენილია ნიადაგის 35 სმ სიღრმეში /74/, შესწავლილია ცელულაზური თვისებები სხვადასხვა სახეობის *Cladosporium*-ებში. *C.paenoiae*-ს და *C. herbarum*-ს გააჩნიათ მაღალი ცელულაზური აქტივობები, ხოლო *C.cladosporoides, C.sphaerospermus* და *C. elatum*-ს კი გააჩნიათ დაბალი აქტივობები ფილტრის ქაღალდისა და ბამბის ჰიდროლიზის მიმართ. ფიტოპათოგენურ თვისებებსა და ცელულაზების აქტივობას შორის კორელაცია არ არის გამოვლენილი /57/.

შტამი *Geotrichum candidum* 3C-ის ცელულაზური კომპლექსი ავტორის აზრით შედგება C1,CX ფერმენტებისა და ცელობიაზისაგან /106/. შტამი *Trichothecium roseum* წარმოქმნის აქტიურ ჰემიცელულაზებს და ცელულაზას /95/. შესწავლილია ველური შტამის *Gliocladium sp.*-ის ზრდის კინეტიკა, ცელულაზური კომპლექსის წარმოქმნა და შედგენილობა. კომპლექსი შეიცავს ბუნებრივი კრისტალური ცელულოზის ჰიდროლიზისათვის აუცილებელ კომპონენტებს /172/. ნიადაგიდან გამოყოფილი შტამი *Rhizopus sp.* წარმოქმნის ცელულაზებს მოდიფიცირებულ მანდელს-რიიზის არეში (ფილტრის ქაღალდით და სიმინდის ღეროების გამონაწურით) 25°C-სა და ph-5,5-ზე 144 საათის განმავლობაში კულტივირებისას /171/.

ფიტოპათოგენური სოკოებიდან ძირითადად ცელულოზადამშლელი თვისებები გააჩნიათ *Fusarium*-სა და *Verticillium*-ს. შტამ *Fusarium oxysporum* და *V. Eycopersici*-დან გამოყოფილია პომიდორის ჩითილების დამაჭკნობელი მაღალაქტიური ცელულაზა /168/. ბანანების ჭკნობას იწვევს შტამი *F. oxysporum var. cubense* /143/. შტამი *F. oxysporium f. nelonis*-ის ცელულაზები იწვევენ ნესვის ჭკნობას /134/. ტომატის უჯრედის გარსის დაშლას იწვევს შტამი *F.oxysporum f.lycopersici*-ის ცელულაზა /159/. გარდა *Fusarium oxysporum*-ისა, ცელულაზური თვისებები გააჩნიათ სახეობებსაც: *F.monileforme, F.avenaceum, F.graminearum*, *F.sporotrichiella, F.solani* და სხვა /15/.

რაუდონენეს მიერ ნამჯიდან გამოყოფილია *Fusarium sp.,* რომელიც დისტილირებული წყლით დასველებულ *Secaele*-ს ჯიშის ნამჯაში მინერალური მარილების NHNO და KHPO-ის თანაობისას ახდენს ცელულოზის და ლიგნინის უტილიზაციას 14 და 13%-ით შესაბამისად. უფრო მნიშვნელოვნად ლიგნინი ჭვავში დაშალეს შტამებმა *F.merismoides* და *F.moniliforme* (12,52 და 12,6% შესაბამისად) /94/.

Verticillium-ის გვარში კარგადაა შესწავლილი ცელულაზური თვისებები ისეთ ფიტოპათოგენურ სახეობებში, როგორიცაა *V.dahliae Kleb, V.albo-atrum Reinke et Berth* და *V. nigrescens Pethybr/201*/.

უჯრედგარე ცელულაზები აღმოჩენილია წიწაკისა და კარტოფილის დაავადებების გამომწვევებში, შტამებში *Alternaria alternata* და *A.solani* /237/, კომბოსტოს დაავადებათა გამომწვევში- *A.brassicae* /204/, ტომატის დაავადებათა გამომწვევ შტამში *Botritus cinerea* /42/, მზესუმზირას დაავადების გამომწვევში *Scleritinia bataticola*, ავსტრალიური ზამთრის ბარდის ღეროსაგან, რომელიც დასნებოვნებული იყო *Phoma medicaginis f. sp. pinodella*-თი, გამოყოფილია ფერმენტები: ცელულაზა, ქსილანაზა, პექტინაზა, გალაქტინაზა, არაბინოგალაქტანაზა /123/. ცელულაზური აქტივობა აღმოჩენილია, აგრეთვე, შტამებში *Curvularia geniculata* და *Colletotrichum coccodes* /141, 207/.

მიკრომიცეტები იწვევენ ე.წ. "რბილ სიდამპლეს", რაც გამოიხატება მერქნის უჯრედის გარსში ღრუებისა და ეროზიების წარმოქმნაში. ზოგიერთი სოკო, მაგალითად *Chaetomium globosum* და *Coniothyrium fuckelii*, იწვევენ არყის ხეში ორივე სახის დაზიანებას, ხოლო სოკოები *Styzanus stemonites* და *Sphaeronaema sp.* იწვევენ მხოლოდ ღრუების გაჩენას /219/.

არყის ხის მერქნის დაზიანების უნარი აღენიშნება 120 გამოკვლეულ შტამს. სოკოების ცელულაზები იწვევენ მერქნის ეროზიას. ბაზიდიომიცეტებიდან ყველაზე კარგადაა შესწავლილი თეთრი სიდამპლის გამომწვევნი *Sporotrichum pulverulentum (Phaenerochaeta chryzosporum)* და *Schizophyllum commune*. ისინი ობის სოკოების მსგავსად წარმოქმნიან ცელულაზების მთელ კომპლექსს. ამ სოკოების მთავარი დამახასიათებელია ის, რომ მათი ენდოგლუკანაზები და ცელობიოჰიდროლაზები რეპრესირდება მონოსაქარიდების დიდი კონცენტრაციებით /150/.

ცნობილია და შესწავლილია ცელულაზების პროდუცენტი აქტი-რი შტამები: *Trichoderma reesei* (127,130,178,179,194,196,235) *pencillium pinophilium (*130,131,185,196,

235) *pencillium funiculosum (*185,239*) Fusarium oxysporum* (136,137,180,235) S*porotrichum pulverulentum* (131,150,153,215,196); (*Phanerochaete chrysosporium*), *Taleromyces emersonii(*127,193,215,216, 235) *Fusarium solani, Trichoderma koningii*, *Rhizopus oryzae (*127,131,196, 235) *Melanocarpus albumyces* (127,128,196,235).ანაერობი სოკოებიდან ცნობილია *Neocallimastix*, *Cacomyces, Oprinomyces* (240,241,235), რომლებიც აქტიურ პროდუცენტებს წარმოადგენენ.

უკანასკნელ წლებში მეტად დიდია მკვლევარების ინტერესი ცელულაზების პროდუცენტი თერმოფილური მიკროორგანიზმებისადმი. მათ გამოყენებას მეტად დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს. მათი ზრდის მაღალი ტემპერატურა ხელს უშლის კულტურის დაბინძურებას გარეშე მიკროფლორით, იზრდება მიკროორგანიზმების ზრდის სიჩქარე, რაც იწვევს ტექნოლოგიური პროცესის ინტენსიფიკაციას. თერმოფილური სოკოების მიერ წარმოქმნილი ფერმენტები, როგორც წესი თერმომედეგნი არიან, ეს იძლევა სამრეწველო პირობებში მათი ხანგრძლივი გამოყენების შესაძლებლობას. ცელულაზების თერმოფილური პროდუცენტები გვხვდება ბაქტერიებში და სოკოებში, თუმცა ცნობები ბაქტერიების შესახებ მეტად მცირეა /243,162/.შესწავლილია სხვადასხვა სახეობის თერმოფილური სოკოების ცელულაზური თვისებები. გამოკვლეულია ლიგნოცელულაზური სუბსტრატებიდან გამოყოფილი თერმოფილური სოკოების დიდი ჯგუფი. შედარებით მაღალ ტემპერატურაზე ზრდისას ცელულაზების წარმოქმნის უნარი გამოვლენილია სოკოების შემდეგ გვარებში: *Mucor, Absidia, Talaromyces*, *Dactylomyces, Myriococcum* და A*Cremonium* /170/ამ კულტურიდან გამოყოფილი ცელ-ულაზების ფერმენტული პრეპარატის მოქმედების ტემპერატურული ოპტიმუმია 65^{0}C. შესწავლილია თერმოფილური სოკოების 17 სახეობა, მათ შორის 11-ს გააჩნია ცელულაზური თვისებები, ყველაზე აქტიურებია *Chaetomium thermophile var. coprophile, Sporotrichum thermophile* და *A.fumigatus.* /212/ აღწერილია შემდეგი შტამები*Chaetomium thermophile var. coprophile* QM 9383*, Sporotrichum thermophile, Thermoascus aurantiacis, Chaetomium cellulosolyticum* და *Thermomyces lanuginosus*, რომლებიც ნატიურ ცელულოზაზე ზრდისას წარმოქმნიან აქტიურ ცელულაზურ კომპლექსს /139,140,202, 213/ მიუხე

დავად დაბალი აქტივობებისა პრეპარატი მთლიანობაში პერსპექტიულია, მისი მაღალი თერმომედეგობის გამო /140/ ცნობილია კარბოქსილმეთილცელულოზის

მაჰიდროლიზებელი კულტურა *Thielavia sepedonium* P101 /154/.ხორბლის ქატოიან არეზე გაზრდილი *Mucor pusillus* წარმოქმნიდა ზრდის მე-6 დღეს ცელულაზების კომპლექსს /224/.ცნობილია შტამი *Chaetomium cellulolyticum* ATCC 32319, რომელიც ფერმენტაციისას მიკროკრისტალურ ცელულოზაზე და გაზეთის ქაღალდზე წარმოქმნის ცელულაზას და ჰემიცელულაზას /155/.შესწავლილია *Myceliophtora thermophile*-ს ცელულაზური კომპლექსი. ეს სოკო წარმოქმნის ცელულაზური კომპლექსის ყველა კომპონენტს და ახდენს სხვადასხვა ცელულოზური სუბსტრატების ჰიდროლიზს. 50°C-ზე 30-90 დღის განმავლობაში სოკო იყენებს ორგანული ნახშირბადის მნიშვნელოვან ნაწილს, ამ დროს არეში იზრდება N, P დაDK-ს შემცველობა. ყველაზე დიდი რაოდენობა შაქრებისა კულტურალურ სითხეში აღინიშნებოდა კმც-ს ჰიდროლიზის დროს, შემდეგ ფილტრის ქაღალდის, ხოლო ყველაზე მცირე რაოდენობა შაქრებისა აღინიშნებოდა ბამბის ჰიდროლიზის დროს. კმც-ს ჰიდროლიზის ოპტიმალური ტემპერატურაა 70°C და pH – 4,8; ფილტრის ქაღალდისა 70°C, pH – 4,2; ბამბისა – 55°C, pH – 4,6; β-გლუკოზიდაზისა – 60°C, pH – 4,8. მიღებულია ფერმენტის 8 ფრაქცია. მათი ერთობლივი მოქმედებით ბამბის თესლზე მიმდინარეობს ცელულოზის ჰიდროლიზი /221,223/.

შესწავლილია თერმოფილური შტამის *Aspergillus fumigatus*-ის ცელულაზური კომპლექსის თვისებები და ბიოსინთეზის პროცესი. სოკო გამოყოფილია ცხენის ნაკელიდან. ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურაა 45°C. ნახშირბადის წყაროდ გამოყენებულია ხსნადი სუბსტრატები, სხვადასხვა ხარისხის პოლიმერიზაციისა და ჩანაცვლების ხარისხიანი კმც, ოქსიეთილცელულოზა, გაზეთის ან ტუალეტის ქაღალდი, ვატმანის ქაღალდის ცელულოზა, ნახერხი. ყველა უხსნადი სუბსტრატი წინასწარ დაქუცმაცებული იყო ბურთულებიან წისქვილში. ცელულაზური კომპლექსის ბიოსინთეზის პროცესში ხსნადი სუბსტრატის სრული უტილიზაცია მიღწეულ იქნა 24-32 სთ-ში, უხსნადი სუბსტრატისა – 110 საათში /234/.

თერმოფილური სოკო *Rhizopus thizopodiformes* სხვადასხვა ცელულოზის წყაროებიან არეებზე კულტივირებისას წარმოქმნის ცელულაზებს. ცელულაზების მაქსიმალური წარმოქმნა შეიმჩნევა ხორბლის თივიან არეში 55°C-სა და pH 5,5-ზე /156/.

1969 წელს ლ. ლოგინოვამ თანაავტორებთან ერთად ტაშკენტის რაიონის თერმული წყაროებისაგან შექმნილი პატარა წყალსაცავის შლამიდან გამოყო

თერმოტოლერანტული შტამი *Aspergillus terreus* 17p ცელულაზების აქტიური პროდუცენტი. კულტურის ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურაა 35°C, ხოლო ცელულაზების სინთეზისათვის ოპტიმალური ტემპერატურაა 40°C. სოკო *A.terreus* 17p-ს გააჩნია უნარი დაშალოს ცელულოზა ცელულაზური ფერმენტების კომპ-ლექსით, რომელიც გამოიყოფა პროდუცენტის მიერ კულტურალურ სითხეში. ავტორები აღნიშნავენ, რომ კომპლექსი შედგება C1 ფერმენტისაგან, ენდო-1-4-β-გლუკანაზისაგან, ცელობიაზისაგან და ფილტრის ქაღალდზე მოქმედი ფერმენტისაგან. გარდა ამისა, აღნიშნული სოკო არის ასევე ქსილანის დამშლელი ფერმენტული სისტემის პროდუცენტი /62/.ამავე ლაბორატორიის თანამშრომლების მიერ არის გამოყოფილი და შესწავლილი შტამი *Myceliophtora thermophile,* რომელიც 50°C-ზე სიღრმული კულტივირებისას წარმოქმნიდა ცელულაზასა და ქსილანაზას /63/.

გ. კვესიტაძისა და სხვათა მიერ ჩატარებული გამოკვლევების შედეგად /39,45/საქართველოს სხვადასხვა რაიონების ნიადაგებიდან, მცენარეული სუბსტრატებიდან და თერმული წყაროებიდან გამოყოფილი იქნა მიკროსკოპული სოკოები, რის საფუძველზეც შეიქმნა თერმოფილური სოკოების კოლექცია. დადგინდა, რომ თერმოფილური მიკრომიცეტები ასინთეზირებენ ცელულაზებს 50°C-მდე ტემპერატურამდე. ცელულაზების პროდუცენტების სახეობები საკმაოდ განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან, თუმცა ყველა მათგანი მიეკუთვნება შემდეგ გვარებს: *Aspergillus, Sporotrichum, Allescheria, Chaetomium* და *Malbranchea.* ცელულაზების ყველაზე აქტიური პროდუცენტებია *Aspergillus terreus, A. vericolor, A. wentii* და *Sporotrichum pulverulentum, Allescheria terrestris, Chaetomium thermophile.* თერმოფილური სოკოების ცელულაზური კომპლექსი შეიცავს ან ერთ ცელულაზურ კომპონენტს – ენდოგლუკანაზას, ან ორს – ენდოგლუკანაზას და ცელობიაზას. არც ერთ გამოკვლეულ კულტურაში არ დადგენილა უჯრედგარე ეგზოგლუკოზიდაზების არსებობა. ეს შეიძლება შემდეგნაირად ავხსნათ: მაღალ ტემპერატურაზე ალბათ ხდება ცელულაზების სეკრეციის დაქვეითება, რაც აისახება თერმოფილურ კულტურებში ეგზოგლუკოზიდაზების არსებობით, ანდა მიკრომიცეტებში გენეტიკური ინფორმაცია ნაწილობრივ ლიმიტირებულია. ამის გამო მაღალ ტემპერატურაზე ორგანიზმი ასინთეზებს მხოლოდ იმ ფორმის ცელულაზებს, რომლებიც მას სჭირდება ცელულოზის სუბსტრატის

გარდასაქმნელად ასათვისებად პროდუქტებამდე. თერმოფილური მიკრომიცეტების ცელულაზური პრეპარატების მოქმედების ტემპერატურული ოპტიმუმი 1 საათიანი ინკუბაციისას არის 55-62°C-ზე /45/. ცნობილია ასევე თერმოფილური შტამები, რომლებიც მაღალი აქტიურობით ხასიათდებიან: *Sporotrichum thermophile (Myceliophthora thermophila)* (127, 196,235,217); *Thermoascus auranticus* (127,176,235, 191,195); *Humicola griseus* (165,27,176,235, 191,195); *Humicola sp.* (164,235) *Talaromyces emersonii, Trichoderma viride, Humicola insolens, Chaetomium thermophile* (127,152,191*); T. Lignorium, T. Longibrachiatum, Asergillus tereus, A. niger, Fusarium solani, Allecheria terrestris* და სხვები (127,152,191,215,216). როიმ და სხვებმა შეისწავლეს თერმოსტაბილური ცელულაზის პროდუცენტი მიკროსკოპული სოკო *Myceliopthora thermophila* (*Sporotrichum thermophile*) (217,227,235),რომელიც საინტერსოა იმით, რომ ფერმენტი სტაბილურობას ინარჩუნებს pH-ის ფართო დიაპაზონში (მაღალ მჟავე და ტუტე გარემოში) 90^{0}C ტემპერატურაზე. ეს ფერმენტი საინტერესოა კომერციული თვალსაზრისით, გამოიყენება საფეიქრო მრეწველობაში, დეტერგენტებისა და ქაღალდის წარმოებაში.

სტაბილური ფერმენტები მიღებული იქნა შემდეგი შტამებიდან: *Humikola* sp. *Cephalosporium* sp. (164,235,193). 127,191,195,235

თერმოაციდოფილური შტამი *Thermoascus aurantiacus*-ი მაღალ ცელულაზურ აქტივობას ავლენს pH 2.9-4.5-ზე 65-76°C ტემპერატურაზე (127,191,195,235).

ორისას მიდამოებში, ,,ტაფტაანის" ლოკალური ცხელი გოგირდოვანი წყლებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების გვარი *Aspergillus*-ის 7 სახეობა მაღალ ცელულაზურ აქტივობას ავლენდა 60°C-ზე (177).

1.2 კულტივირების პირობების გავლენა ცელულაზების ბიოსინთეზზე

მიკროორგანიზმების ცელულაზების ბიოსინთეზი, ისევე როგორც ცილების ბიოსინთეზი, დამოკიდებულია ორგანიზმის გენეტიკურ თავისებურებებზე. ერთ-ერთ გზას უჯრედის ბიოსინთეზის უნარის გაზრდისა, მისი გენეტიკური აპარატის შეუცვლელად, წარმოადგენს ცელულაზების ბიოსინთეზის რეგულაციის მექანიზმების დადგენა და ბიოსინთეზის პროცესების რეგულირების მართვა საკვები

არის კომპონენტების კონცენტრაციისა და შედგენილობის შეცვლით. არსებობს ფერმენტების ბიოსინთეზის რეგულაციის ორი გზა – ინდუქცია და კატაბოლიტური რეპრესია, რომლებიც მნიშვნელოვნად განსაზღვრავენ მიკროორგანიზმების მიერ ცელულაზების წარმოქმნას.

მკვლევართა უმრავლესობა ცელულაზებს მიაკუთვნებენ მკაცრად ინდუცირებულ ფერმენტებს, თვლიან რა, რომ ფერმენტების წარმოქმნა საკვებ არეში შესაძლებელია მხოლოდ სუბსტრატის ანდა რაიმე სპეციფიკური ინდუქტორის არსებობისას. ასე მაგალითად, თერმოფილური შტამი *Clostridium sp.* კარგად იზრდება სხვადასხვა შაქრებსა და ორგანულ მჟავებზე, მაგრამ ცელულაზების სინთეზი მიმდინარეობს მხოლოდ არეში უხსნადი ცელულოზის ანდა კმც-ს არსებობისას /188/. კულტურა *Geotrichum candidum*-ის ცელულაზების ბიოსინთეზისათვის საუკეთესო ინდუქტორი გამოდგა ხორბლის ქატო ან მათი ექსტრაქტი. ამის გარდა, შესწავლილი იყო ადვილად შესათვისებელი ნახშირწყლები, ისეთი როგორიცაა: გლუკოზა, ლაქტოზა და ცელობიოზა, რომლებზედაც აღინიშნებოდა სოკოს კარგი ზრდა, მარამ ცელულაზების აქტივობა იყო კვალის სახით, ანდა სულ არ აღინიშნებოდა. არეებზე, სადაც იყო სახამებელი, გლიცერინი და სხვა შაქრები (საქაროზა, მალტოზა, ფრუქტოზა, არაბინოზა) ასევე სოკო იზრდებოდა კარგად, მაგრამ აქტივობა არ აღინიშნებოდა /48/.

შესწავლილი იქნა სხვადასხვა ნახშირწყლებიანი სუბსტრატების ზემოქმედება (სხვადასხვა ცელულოზის შემცველი სუბსტრატები, მიკროკრისტალური ცელულოზა, kmc, მონოსაქარიდები) თერმოფილური სოკოს *Sporotrichum pulverulentum*-ის ცელულაზების ინდუქციაზე. ყველა გამოცდილი სუბსტრატებიდან ცელულაზების საუკეთესო ინდუქტორი აღმოჩნდა მიკროკრისტალური ცელულოზა. მიკროკრისტალური ცელულოზის ანდა ცელულოზის შემცველი სუბსტრატების შეცვლისას ნახშირბადის სხვა წყაროთი, უჯრედგარე ცელულაზების აქტივობა უმეტეს შემთხვევაში არ არის, ან აღინიშნება კვალის სახით /42/.

მთელი რიგი ავტორები აღნიშნავენ წინასწარ დამუშავებულ ცელულოზაშემცველ სუბსტრატებზე, ცელულაზების პროდუცენტების ზრდისას დადებით ეფექტს. დაადგინეს, რომ ცელულაზების მაქსიმალური ბიოსინთეზი აღინიშნება არა ერთი, არამედ რამდენიმე ნახშირბადის წყაროს გამოყენებისას.

არანაკლები როლი ეკისრება ცელულაზების ბიოსინთეზის პროცესში ცელულოზის შემცველ სუბსტრატების ნაწილაკების ზომას /1/.

ფერმენტების სამრეწველო მიღებისას უფრო რაციონალურია გამოყენებული ცელულოზის შემცველ მასალებში ლიგნინის მინიმალური რაოდენობის შემცველობა /225/. ცელულოზის, როგორც ინდუქტორის, მოქმედების ხასიათს ავტორები სხვადასხვანაირად ხსნიან. ერთნი თვლიან , რომ ცელულოზა მოქმედებს ბიოსინთესზე, ცელულოზის უხსნადი მოლეკულებისა და უჯრედის ზედაპირს შორის მჭიდრო კონტაქტის მეშვეობით. მეორენი თვლიან, რომ ცელულოზას როგორც უხსნად და მაღალპოლიმერულ ნივთიერებას არ შეუძლია უჯრედში შეღწევა, ამიტომაც ცელულაზების ინდუქტორებია მისი ჰიდროლიზის ხსნადი პროდუქტები, განსაკუთრებით ცელობიოზა, რომელიც წარმოიქმნება ცელულაზის მოქმედების შედეგად ჰიდროლიზის დასაწყისში, ცელულაზა კი მუდამ არის უჯრედში ("ბაზალური აქტივობა"). ეს თეორია პირველად წამოაყენა მანდელსმა და რიიზმა 1960 წელს /198/ავტორები გვამცნობენ, რომ 49 კულტურიდან 36 ასინთეზებდა ცელულაზას, როცა არეში ცელობიოზა იყო.

ცელობიოზის ინდუცირებული ეფექტი მტკიცდება მრავალი ავტორის მიერ. კულტურა *Sporotrichum thermophile* სხვადასხვა შაქრებიან არეებზე კულტივირებისას, ყველაზე აქტიურად ასინთეზებდა ენდოგლუკანაზას, არეში ცელობიოზის არსებობისას. სხვა დისაქარიდებიდან (ცელობიტოლი, ცელობიონის მჟავა, ცელობიოზა ოქტააცეტატი, ქსილობიოზა და გლუკოზილმანოზა) მხოლოდ გლუკოზილმანოზა და ცელობიონის მჟავა იწვევდა ენდოგლუკანაზის სინთეზს /140/. შესწავლილია უჯრედგარე ცელულაზების ბიოსინთეზის ინდუქცია *Neurospora crassa*-ს 15 შტამში, რის შედეგადაც დადგინდა, რომ ცელულაზის ინდუქცია უფრო ეფექტურად მიმდინარეობს კონიდიების ან მიცელიუმის ინკუბაციისას $0{,}05^{-1}$ mM ცელობიოზიან არეში /147/. არის სამუშაოები, რომლებიც ამტკიცებენ უჯრედშიდა გლუკოზიდაზის ბიოსინთეზზე ცელობიოზის ინდუცირებულ მოქმედებას /145,223/. საფუვრები *Candida wickerhamii* ასევე წარმოქმნის β-გლუკოზიდაზის მაქსიმალურ რაოდენობას ცელობიოზიან არეზე /173/.

ცელობიოზის მაინდუცირებელი ეფექტი დამოკიდებულია, აგრეთვე, მის კონცენტრაციაზეც. ამგვარად, ცელობიოზა წარმოადგენს ცელულაზების ბუნებრივ ინდუქტორს. მაგრამ ზოგიერთი გამოკვლევების მიხედვით, ცელობიოზას შეუძლია

ცელულაზების სინთეზის რეპრესიის გამოწვევაც /88/. მძლავრი მაინდუცირებელი ეფექტი აღმოაჩინეს მანდელსმა და სხვებმა /199/, დისაქარიდ სეფაროზის (2,0; β-D-გლუკოპირანოზილ-D-გლუკოზა) გამოყენებისას. ამავე აზრის არიან სხვა ავტორებიც. ასე მაგალითად, დადგინდა, რომ ცელულაზების აქტივობა მნიშვნელოვნად იზრდება T.viride-ს ჩამორეცხილი უჯრედების დამუშავებისას სეფაროზით. სეფაროზის ოპტიმალური კონცენტრაცია იყო 10^{-3} M, მაშინ როდესაც 10^{-1} M კონცენტრაცია ცელულაზებზე ახდენდა ინჰიბირებას /132/, მაგრამ ყველა შემთხვევაში სეფაროზა არ გვევლინება ინდუქტორად. სეფაროზიან არეებზე კულტივირებისას *Trichoderma viride*-ის ცელულაზების წარმოქმნის დონე გაცილებით დაბალია, ვიდრე ცელულოზიან არეზე, ასევე *Trichoderma*-ს გვარის ზოგიერთი შტამის ცელულაზების სინთეზზე სეფაროზა არ მოქმედებს ინდუცირებულად /200/.

მიკროორგანიზმების ცელულაზების ბიოსინთეზის ინდუქტორი შეიძლება იყოს საქაროზაც. არსებითი მნიშვნელობა აქვს ნახშირბადის კონცენტრაციას. ზოგიერთ სოკოზე საქაროზა კონცენტრაციით 0,25-0,5% ახდენს მასტიმულირებელ მოქმედებას, მაშინ როდესაც 0,75-2% პირიქით ახდენს ცელულაზების სინთეზის ინჰიბირებას /105/.

შესწავლილია საინკუბაციო არეში შეტანილი შაქრების გავლენა სოკოს ორი შტამის ცელულაზურ აქტივობაზე. გლუკოზის, საქაროზის და ქსილოზის გავლენით ხდებოდა ეგზო- და ენდო-გლუკანაზების გააქტივირება. საქაროზის გარდა, ყველა გამოცდილი შაქარი არ ავლენდა რა გავლენას აქტივობაზე, თრგუნავდა β-გლუკოზიდაზას /205/.

ცელობიოზა, სეფაროზა, ლაქტოზა, საქაროზა წარმოადგენენ რა ცელულაზების ინდუქტორებს, იმავდროულად წარმოადგენენ ნახშირბადის წყაროებს და შეითვისება მიკროორგანიზმების მიერ, რაშიც მას ეხმარებიან β-გლუკოზიდაზები. β-გლუკოზიდაზები ხლეჩენ დისაქარიდებს და ამით ისინი თანდათანობით ხსნიან მათ ინდუცირებულ ეფექტს. თუმცა შტამ *T.reesei* QM 6a-თან ხდება β-გლუკოზიდაზას რეპრესია სეფაროზით, სეფაროზის ჰიდროლიზი ნელდება, რაც ზრდის მათი ინდუქციის ეფექტს /229/. აუცილებელია აღვნიშნოთ, რომ ცელულაზების პროდუცენტების მრავალფეროვნების გამო, არ შეიძლება იყოს ფერმენტების სინთეზის უნივერსალური ინდუქტორი. ნახშირბადის ერთი და იგივე წყარო არაერთნაირად მოქმედებს ცელულაზური კომპლექსის ცალკეული კომპონენტების

სინთეზზე. მაგალითად, ცელობიოზა ინდუცირებულად მოქმედებს *Trichoderma koningii*-ის დაბალმოლეკულური ენდოგლუკანაზის წარმოქმნაზე და ინჰიბირებას ახდენს მაღალმოლეკულური ენდოგლუკანაზების სინთეზზე /112/.

როგორც ავტორები ვარაუდობენ, ადვილად შესათვისებელი ნახშირბადის წყაროების გამოყენებისას წარმოიქმნება უფრო ნაკლებად სტაბილური ფერმენტები, ვინაიდან არეში არ არიან ფერმენტების მასტაბილიზირებელი პოლისაქარიდები /163/.

ლიტერატურაში გვხვდება მონაცემები, რომლებიც ამტკიცებენ ცელულაზების სინთეზის კონსტიტუციურობას, ე.ი. როცა ფერმენტი წარმოიქმნება ინდუქტორის არარსებობისას. ცელულაზების კონსტიტუციური სინთეზი დადგენილია შტამებში *Penicillium italicum, P.expansum, P.digitatum* ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროებიდან არეებზე ზრდისას. მაგალითად, ცელულაზური აქტივობა პექტინიან და საქაროზიან არეებზე ერთნაირი იყო /161/. გამოთქმულია აზრი, რომ ცელულაზების სინთეზი შეიძლება განხორციელდეს პრაქტიკულად ყველა ადვილად შესათვისებელი ნახშირბადის წყაროების გამოყენებით, მხოლოდ აუცილებელი პირობაა ნახშირბადის წყაროს მკაცრი ლიმიტაცია /61/.

ცნობილია, რომ მრავალი ფერმენტის ბიოსინთეზის კატაბოლიტური რეპრესორია გლუკოზა. მიუხედავად ამისა, კულტურა *Aspergillus niger*-ში გლუკოზის არსებობისას ნაჩვენებია ცელულაზების სინთეზის კონსტიტუციურობა. საკვებ არეში გლუკოზის ნაცვლად სახამებლის, ანდა ცელობიოზის გამოყენებისას არეში მეთილ და მეთილ-β-ცელობიოზიდაზის შეტანისას, ანდა ნიტრატული აზოტის ამონიუმიანით შეცვლისას, არ შეინიშნებოდა უჯრედგარე და საერთო ცელობიაზის აქტივობის შეცვლა /39/.

ლიტერატურული მონაცემების ანალიზი ადასტურებს უმრავლეს შემთხვევაში ცელულაზების ბიოსინთეზის ინდუცირებად ხასიათს, თუმცაღა გვხვდება კონსტიტუციური სინთეზის შემთხვევებიც.

ცელულაზების ბიოსინთეზის სხვა მარეგულირებელ სისტემად ითვლება კატაბოლიტური რეპრესია /244/. კატაბოლიტური რეპრესია ვლინდება არეში შეტანილი ნივთიერების ზემოქმედებით პროდუცენტ მიკროორგანიზმზე ცელულაზების წარმოქმნის სიჩქარის დაქვეითებით /192,146/.

ცელულაზების ბიოსინთეზის კატაბოლიტური რეპრესიის მექანიზმი თითქმის არ არის შესწავლილი /35,229/.

ენდოგლუკანაზის სინთეზის მძლავრი რეპრესია აღინიშნებოდა *Sporotrichum thermophile*-ს არეში გლუკოზის შეტანისას. მხოლოდ გლუკოზის კონცენტრაციის 1,5-2,0 მკ მოლ/მლ$^{-1}$ შემცირებისას ჰქონდა ადგილის ფერმენტის წარმოქმნას კულტურალურ სითხეში. რეპრესიას იწვევდა აგრეთვე მანოზა, ქსილოზა და გლუკონატი /142/.

გლუკოზა მთლიანად თრგუნავს *Verticillium alboatrum* ცელულაზების წარმოქმნს /160/. *Trichoderma viride*-ს შემთხვევაში, სადაც ინდუქტორად სეფაროზა გვევლინება ცელულაზის წარმოქმნა რეპრესირებული იქნა 10^{-2} M გლუკოზით /206/. გლუკოზა და ცელობიოზა იწვევს აგრეთვე ცელულაზების სინთეზის რეპრესიას აერობულ ბაქტერია *Clostridium sp*-ში /188/. D-მანნოზა თრგუნავს ცელულაზების წარმოქმნას *Sporotrichum pulverulentum*-ში, თუმცა D-ქსილოზა, D-გალაქტოზა, L-არაბინოზა, საქაროზა და გლუკონის მჟავა დიდ კონცენტრაციებშიც კი არ იწვევს ფერმენტის სინთეზის რეპრესიას /142/.

მიკროორგანიზმების ცელულაზების წარმოქმნაზე მნიშვნელოვნად მოქმედებს საკვები არის კომპონენტები და pH, ზრდის ტემპერატურა, ჩასათესი მასალის ასაკი, კულტივირების ხანგრძლივობა და კულტივირების ხერხები.

როგორც ცნობილია, მიკროორგანიზმთა საკვები არის მნიშვნელოვან კომპონენტს, ნახშირბადის წყაროსთან ერთად, წარმოადგენს აზოტის წყარო. ცელულოზადამშლელი სოკოების მიერ აზოტის სხვადასხვა წყაროების გამოყენების შესახებ ლიტერატურაში სხვადასხვანაირი მონაცემები გვხვდება. გამოიყენება აზოტის როგორც არაორგანული, ასევე ორგანული წყაროები. აზოტის არაორგანული წყაროები ძირითადად გამოიყენება სოკოების ბიომასის ინტენსიური დაგროვებისათვის, თუმცა ზოგიერთი მონაცემებით, აზოტმჟავა ამონიუმი, აზოტმჟავა კალციუმი და აზოტმჟავა ნატრიუმი ცელულაზების კარგი გამოსავლის მომცემია. მაგალითად, თერმოტოლერანტული სოკოების *Aspergillus terreus* 17P, მუტანტური შტამი *A.terreus* AT-490 და *Sporotrichum pulverulentum*-ის ცელულაზების ბიოსინთეზისათვის აზოტის საუკეთესო წყაროა ნიტრატული აზოტი /3,42,34/. ანალოგიური მონაცემებია მიღებული ცელულაზების პროდუცენტებისათვის *Phoma glomerata* და *Rhizoctonia solani* /149/. კალუნიანცმა და სხვებმა /38/აღმოაჩინეს

Trichoderma viride-ს საკვებ არეში ამონიუმის სულფატის გამოყენებისას ცელულაზების აქტიური წარმოქმნა.

რაც შეეხება აზოტის ორგანულ წყაროებს, ერთნი თვლიან, რომ აზოტის ეს ფორმა სუსტად მოქმედებს მიკროორგანიზმების მიერ ცელულაზების წარმოქმნაზე, ხოლო მეორენი ვარაუდობენ, რომ იგი ცელულაზების ბიოსინთეზის გაზრდას უწყობს ხელს. ერთ-ერთ სამუშაოში /220/ წარმეტებით იქნა გამოყენებული პეპტონი – როგორც აზოტის წყარო. არეში შეტანილი პეპტონი ამცირებს ცელულაზების პროდუცენტის *T.reesei*-ს ლაგ-ფაზას და ზრდის კულტურის პროდუქტიულობას. შესწავლილია ორგანული აზოტის წყაროების სხვადასხვა კონცენტრაციების ზემოქმედება (პეპტონი, კაზეინი, ჟელატინი, შარდოვანა, კაზეინის ჰიდროლიზატი, ალაოს ღივები) სოკო *Trichoderma lignorum* 19-ის ცელულაზურ აქტივობაზე. დადგენილია, რომ ფოსფორმჟავა ამონიუმის პეპტონით შეცვლისას სწრაფდება მისი ზრდა და ცელულაზების ბიოსინთეზი /104/.

ამავე დროს არის მონაცემები იმის შესახებ, რომ საკვებ არეში პეპტონის შეტანისას ზოგიერთი სოკოს ცელულაზების სინთეზი ითრგუნება, კერძოდ: *Myrothecium verrucaria*-სა /68/ და *Chaetomium sp*-ს შემთხვევებში /67/.

ზოგიერთი მონაცემებით, ცელულაზების პროდუცენტები აზოტს ორივე ფორმით კარგად ითვისებენ. აზოტის არსებობა არეში აუცილებელია მხოლოდ სოკოს ზრდის ექსპონენციალურ ფაზაში, სტაციონარულ ფაზაში კი, რომელსაც ახასიათებს ცელულაზების მაქსიმალური დაგროვება, აზოტის არარსებობა არეში ხელს არ უშლის ცელულაზური აქტივობის გაზრდას /71/.

ცელულაზების წარმოქმნისათვის აზოტის კარგი წყაროებია ზოგიერთი ამინომჟავა. მაგალითად, *Trichoderma lignorum* 19 აქტიურად ასინთეზებს ცელულაზებს ასპარაგინიან, ვალინიან და გლუტამინიან მჟავე არეებზე /103/. 18 გამოცდილი ამინომჟავიდან მხოლოდ ლიცეინი, არგინინი, ჰისტიდინი და ცისტეინი ასტიმულირებდა თერმოტოლერანტული სოკოს *Aspergillus terreus* 17P-ს ცელულაზების ბიოსინთეზს /34/. ასპარაგინი 40%-ით ზრდის შტამ *Myrothecium verrucaria*-ს ცელულაზების წარმოქმნის დონეს /68/.

საფუვრის ექსტრაქტს, ალაოს ღივებს, მიკროორგანიზმების ბიომასას, მის ავტოლიზატებსა და ფერმენტოლიზატებს ასევე შეუძლიათ ზოგიერთი მიკროორგანიზმის ცელულაზების სტიმულირება /33,104/.

არსებობს მონაცემები ცელულაზებზე სიმინდის ექსტრაქტის დადებითი ზემოქმედების შესახებ. მაგალითად, მისი შეტანა სოკოები *Aspergillus terreus* 17P, *Aspergillus terreus* AT-490-ისა და *Sporotrichum pulverulentum*-ის საკვებ არეებში იწვევს ცელულაზების სინთეზის გაზრდას /3,34,42/.არის ისეთი მაგალითებიც, როდესაც სიმინდის ექსტრაქტი *Actinomyces diastatius* 7-ის ენდოგლუკანაზის პროდუცირებას აქვეითებს 2-ჯერ /22/, ხოლო *Geotrichum candidum*-ის საკვებ არეში მისი შეტანისას ცელულაზა საერთოდ არ წარმოიქმნება /48/.

აზოტის წყაროს არჩევისას აუცილებელია გავითვალისწინოთ ნახშირბადის წყარო. მაგალითად, ცელულაზების პროდუცენტისათვის *Geotrichum candidum*, რომელიც იზრდება ჭარხლის ნაწნეხზე და ხორბლის ქატოზე, აზოტის საუკეთესო წყაროა ამონიუმის სულფატისა და ნატრიუმის ნიტრატის მარილების ნარევი /48/, როცა ნახშირბადის წყარო იყო თივა, აზოტის საუკეთესო წყაროს წარმოადგენდა აზოტმჟავა ნატრიუმი /3/, ასევე აზოტმჟავა ნატრიუმი იყო საუკეთესო შტამისათვის *Sporotrichum pulverulentum*, როცა ნახშირბადის წყაროა მიკროკრისტალური ცელულოზა /42/.

ცელულაზების ბიოსინთეზისათვის არანაკლებ როლს ასრულებს ფოსფორის წყარო. მრავალი ავტორი საკვებ არეში ოპტიმალურ ფოსფორის წყაროდ თვლის ერთჩანაცვლებულ ფოსფორმჟავა კალიუმს /3,42/.

ზოგიერთი მკვლევარი თვლის, რომ მიკროორგანიზმების ფუნქციონირებისა და ნორმალური მეტაბოლიზმისათვის აუცილებელა ვიტამინები და სხვა ბიოსტიმულატორები. სოკო *Sporotrichum pulverulentum*-ის ცელულაზურ აქტივობაზე სხვადასხვა ვიტამინების ზემოქმედების შესწავლისას მასტიმულირებელი ეფექტი ჰქონდათ ფოლის მჟავასა და რუტინს /42/. აღინიშნება *Sporotrichum pulverulentum*-ის ცელულაზების წარმოქმნის გაზრდა ორჯერ, საკვებ არეში თერმოფილური მიკრობული დუღილის პრეპარატის შეტანისას, რომელიც მეცხოველეობაში გამოიყენება როგორც ვიტამინ B_{12}-ის წყარო /42/. არსებობს საპირისპირო მონაცემებიც, მაგალითად *Aspergillus terreus* AT-490-ის ცელულაზების ბიოსინთეზზე ვიტამინები არსებით გავლენას არ ახდენენ /3/ ცელულაზების ზოგიერთი პროდუცენტისთვის აუცილებელია საკვებ არეში მიკროელემენტების შეტანა. მიკროელემენტების როლის შესწავლისას *Trichoderma longibrachiatum*-ის ცელულაზების ბიოსინთეზზე დადგინდა, რომ კულტივირების პროცესში უფრო

ინტენსიურად გამოიყენება Cd, K, Cu, Zn, Pb-ის იონები. შერჩეულია ცელულაზების ბიოსინთეზის ინტენსიფიკაციისთვის პირობა, რომელიც გულისხმობს კულტურის ზრდის ლოგარითმულ და სტაციონარულ ფაზებში K_2SO_4 და $CdCl_2$-ის დამატებით შეტანას. შემოთავაზებული ხერხი ხელს უწყობს ცელულაზების აქტივობების გადიდებასთან ერთად სხვადასხვა ხარისხის გასუფთავებული ფერმენტული პრეპარატების ცელულაზების სტაბილურობის აწევას /52/.

Trichoderma reesei-ს ცელულაზების წარმოქმნაზე დადებითად მოქმედებენ ინდოლილ-3-ძმარმჟავა და ჰიბერელინის მჟავები /238/. ყველა სამუშაოში მიღებული შედეგები მეტყველებენ იმაზე, რომ ცელულაზების პროდუცენტი მიკროორგანიზმებისათვის საკვები არის შერჩევისას აუცილებელია ინდივიდუალური მიდგომა. საკვები არის კომპონენტების დადგენისას აუცილებელია ვიხელმძღვანელოთ მისი ღირებულებით, ხარისხიანობით. ასევე გავითვალისწინოთ რამდენად ხელმისაწვდომი და მოხერხებულია ტექნოლოგიური პროცესებისათვის.

ცელულაზების მაქსიმალური დაგროვებისათვის, გარდა სრულფასოვანი საკვები არისა, აუცილებელია ოპტიმალური კულტივირების პირობების დადგენა (ტემპერატურის, საკვები არის pH, მყარფაზიანი კულტივირებისას ტენიანობის, აერაციის, კულტივირების ხანგრძლივობის, ჩასათესი მასალის ხარისხისა და რაოდენობის და ა.შ.).

საკვები არის pH განისაზღვრება აზოტის მინერალური წყაროებით, ნახშირბადის წყაროს ბუნებით და არის იონური შედგენილობით. ცელულაზების პროდუცენტი მიკროორგანიზმების ზრდისათვის pH-ის დიაპაზონი საკმაოდ ფართოა: 4,5-9,0 ბაქტერიებისათვის, 3,0-9,2 სოკოებისათვის, ცელულაზების წარმოქმნისათვის კი pH-ის დიაპაზონი გაცილებით ვიწროა /230/. ძირითადად ცელულაზების სინთეზი მიმდინარეობს მჟავე არეში (pH 4,5-5,0), მაგალითად *Trichoderma viride* QM 6a ასინთეზებს ცელულაზებს მაღალი მჟავიანობისას /229/. შტამი *Pseudomonas* sp.1 ასინთეზებს ცელულაზებს pH 6-7-ზე. ტუტე არეში აქტიურად ასინთეზებს ცელულაზებს *Aspergillus terreus* I_{3y}-1 /115/.

ნახშირწყლებიან სუბსტრატებზე სოკოების კულტივირებისას ხდება არის დამჟავება, მაგალითად ცელულოზიან არეში გლუკოზის დამატებისას pH განსაკუთრებით ძლიერ ეცემა (2,5-მდე), რის შედეგადაც ხდება ცელულაზების

ინაქტივაცია. განსაკუთრებით მგრძნობიარენი არიან β-გლუკოზიდაზები /200/. ზოგიერთი ავტორი თვლის, რომ ცალკეულ შემთხვევაში ე.წ. "გლუკოზის ეფექტი" ნაწილობრივ დაკავშირებულია pH-ის მოქმედებასთან //151. ზოგიერთ შემთხვევაში ფერმენტის წარმოებისას, ცელულაზების ინაქტივაციის თავიდან აცილების მიზნით, აუცილებელია ფერმენტაციის პროცესში pH-ის რეგულაცია. pH-ის დაფიქსირება 4,5-5,0-ის დონეზე ხელს უწყობს *T.reesei*-ს ცელობიაზური აქტივობის მნიშვნელოვან გაზრდას /218/. შემოთავაზებულია *Geotrichum candidum*-ის საკვები არის pH-ის რეგულირება ორი მარილის ნარევით $(NH_4)_2SO_4$ და $NaNO_3$ /48/.

საკვები არის რეაქცია მოქმედებს ცელულაზური კომპლექსის შედგენილობაზეც. ასე მაგალითად, *Trichoderma reesei*-ს ფილტრის ქაღალდისა და kmc-ს მაქსიმალური აქტივობა აქვს არეში, რომლის pH 4,0-ია, ხოლო β-გლუკოზიდაზის მაქსიმალური დაგროვება ხდება pH 6,0-ზე /233/.

საკვები არის pH სიდიდე მოქმედებს არა მარტო ცელულაზების სინთეზზე, არამედ არსებითად გავლენას ახდენს ფერმენტების კავშირზე უჯრედის ზედაპირთან და არეში მათ გამოყოფაზე. შტამი *Clostridium autobutulicum* B527 წარმოქმნის ცელობიაზის მაქსიმალურ რაოდენობას pH 5,8-ზე. pH 5,2-ზე ცელობიაზა უჯრედგარეა, ხოლო pH-ის ყველა სხვა გამოყენებულ მნიშვნელობებზე ცელობიაზა იყო უჯრედშიდა /189/.

ცელულაზების წარმოქმნაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ტემპერატურა. ცელულაზების ბიოსინთეზის ოპტიმალური ტემპერატურა, ჩვეულებრივ, ზრდის ოპტიმუმს თანხვდება, ანდა რამდენიმე გრადუსით ვარირებს და დაბალი ან მაღალია. *Trichoderma reesei*-ის ზრდის ტემპერატურული ოპტიმუმია 32-35°C, ცელულაზების წარმოქმნისათვის 25-28° /200,151/. თერმოფილური სოკოებისათვის, როგორიცაა *Aspergillus terreus* AT-490 და *Sporotrichum pulverulentum* ზრდის და ბიოსინთეზის ტემპერატურა ერთნაირია 40° /3,113/.

ცელულაზების ბიოსინთეზისათვის არსებითი მნიშვნელობა აქვს აერაციას. აერაციის ხარისხი დამოკიდებულია მიწოდებული ჰაერის მოცულობაზე, სანჯღრეველას სიჩქარეზე, საკვები არის ფენაში ჰაერის შეღწევის სიჩქარეზე და კულტივირების პროცესში ფერმენტის შიგა წნევაზე.

იმის დასადგენად, თუ როგორ მოქმედებს აერაცია, სანჯღრეველას სიჩქარე სოკო *Trichoderma lignorum* 19-ის ზრდასა და ცელულაზების წარმოქმნაზე, სოკოს

ზრდიდნენ ფერმენტატორებში ჰაერის სხვადასხვა მოცულობის მიწოდებით (0,5 მოცულობიდან 2,5 მოცულობამდე, არის 1 მოცულობაზე 1 წუთში), სანჯღრეველას ბრუნვა იყო 100-300 ბრ/წთ-ში. როგორც ავტორები გვიჩვენებენ, C_1 ფერმენტი უფრო აქტიურად სინთეზირდებოდა პროდუცენტის მეტი ჟანგბადით მომარაგებისას, მაშინ როცა C_x ფერმენტის და ქსილანაზის ბიოსინთეზის გაზრდისათვის მისაწოდებელი ჰაერის მოცულობა არ იყო განმსაზღვრელი ფაქტორი /105/.

ცელულაზების წარმოქმნაზე გავლენას ახდენდა აგრეთვე, ჩასათესი მასალის ასაკი, რაოდენობა და კულტივირების ხანგრძლივობა. ცელულაზების ყველაზე მაღალი გამოსავალი აღინიშნებოდა *Aspergillus terreus*-ის ზრდისას საკვებ არეში ჩალის შემცველობით, როდესაც 20 საათიანი ჩასათეს მასალა მიცელიუმის სახით შეჰქონდათ 2%-ის რაოდენობით. ამ დროს ცელულაზების მაქსიმალური აქტივობა აღინიშნება 24 საათით ადრე, ვიდრე სპორიანი ჩასათესი მასალის გამოყენების დროს /35/. ზოგიერთ შემთხვევაში წარმატებით გამოიყენება მყარ სუბსტრატებზე გაზრდილი ჩასათესი კულტურა /21/. ჩასათეს მასალად შეიძლება გამოყენებული იქნას წყლიან-სპორიანი სუსპენზია /3,42/.

უკანასკნელ წლებში უფრო აქტიური და კომპონენტური შედგენილობის მიხედვით სრულყოფილი ცელულაზების მისაღებად იყენებენ შერეულ კულტურებს. უფრო ხშირად ახდენენ *Trichoderma*-სა და *Aspergillus*-ის გვარის სოკოების კულტივირებას. სოკოების *T.lomgibrachiatum*-ის და საფუვრების *Endomycopsis fibuligera*-ს ერთობლივი კულტივირებისას აღინიშნება დადებითი ეფექტი. ავტორები თვლიან, რომ დმხმარე ორგანიზმის როლი მდგომარეობს მზარდი კულტურის ფერმენტების ბიოსინთეზის ინდუქტორებით მომარაგებაში ანდა პროდუცენტის ცხოველქმედების პროდუქტების მოშორებაში, რომლებიც ანელებენ ზრდას და რეპრესიას ახდენენ ფერმენტის ბიოსინთეზზე /18/. ცელულაზების სინთეზი მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული კულტივირების ხერხებზე. უმეტეს შემთხვევაში ცელულაზებს ღებულობენ სიღრმული კულტივირებისას, გამოიყენება აგრეთვე, კულტივირების ზედაპირული მეთოდი ანუ მყარფაზოვანი კულტივირება.

ცელულაზების მისაღებად სიღრმული კულტივირებისას გამოყენებულია შემდეგი მეთოდები: ჩვეულებრივი პერიოდული, პერიოდული სუბსტრატის მიწოდებით fed-batch-ის რეჟიმში, ნახევრადუწყვეტი და უწყვეტი. უფრო ხშირად

ხმარობენ ჩვეულებრივ პერიოდულ კულტივირებას, ხოლო წარმოებაში უფრო მისაღებია უწყვეტი და ნახევრადუწყვეტი კულტივირება სიღრმულ პირობებში /122/.

ცელულაზების პროდუცენტების უწყვეტმა და ნახევრადუწყვეტმა კულტივირებამ ვერ ჰპოვა ფართო გამოყენება, რადგან ერთდროულად ვერ მიაღწიეს ფერმენტების მაღალ აქტივობასა და პროდუქტიულობას. ამიტომ უკანასკნელ ხანს გაიზარდა ინტერესი კულტივირების პერიოდული მეთოდისადმი ორგანული სუბსტრატის უწყვეტი მიწოდებით *(fed-batch). fed-batch*-ის მეთოდით მიღებულია *Trichoderma reesei MIG*-80-ის /123/, *Chaetomium cellulolyticum*-ისა /187/ და *Aspergillus sp.*-ის /121/ ცელულაზები.

ცელულაზების პროდუცენტების კულტივირებისათვის fed-batch-ის რეჟიმში ძალიან მნიშვნელოვანია სუბსტრატის მიწოდებისა და მასზე შიმშილის პერიოდების მონაცვლეობა, მათი ხანგრძლივობისა და შესატანი სუბსტრატის კონცენტრაციის განსაზღვრა.

პრაქტიკაში ფართოდ გამოიყენება აგრეთვე, კულტივირების ზედაპირული მეთოდი, რომელიც საშუალებას იძლევა მივიღოთ მოქმედების ფართო სპექტრის მქონე იაფი ფერმენტული პრეპარატები. ამჟამად მყარფაზიანი ფერმენტაციით მიღებულია შტამების *Trichoderma lignorum* 6C-ს /49/, *T.lignorum* 19 /105/, *T.koningii*-ს /64/, *Endomycopsis fubuligera* R-574-ს /27/ ცელულაზები.

მყარფაზოვან კულტივირებას გააჩნია თავისი უარყოფითი მხარეები. ამ მეთოდის დროს ძნელია პროცესის სტერილობის დაცვა, პროდუცენტის კულტივირების პროცესის შემოწმება და რეგულირება, შეინიშნება მყარ სუბსტრატთან დაკავშირებული ფერმენტის გარკვეული ნაწილის დაკარგვა.

ამგვარად, მიკროორგანიზმების მიერ ცელულაზების წარმოქმნა მრავალ ფაქტორზეა დამოკიდებული და მოითხოვს ყოველ კონკრეტულ შემთხვევაში ფერმენტების ბიოსინთეზის რეგულაციის მექანიზმების დადგენასა და კულტივირების შესაბამისი პირობების შექმნას.

1.3. **დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატების მიღება ცელულოზაშემცველი ნედლეულიდან**

უკანასკნელ პერიოდში კვების მრეწველობის ბევრი სახეობის საკვები პროდუქტების მომზადებისას შეინიშნება შაქრის შემცვლელად დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატების გამოყენება (72,77,78,79,49,56,80,88,102).

დღეისათვის დაბალმოლეკულური შაქრების მიღების პერსპექტიულ წყაროებს წარმოადგენენ სახამებელ- და ცელულოზაშემცველი მცენარეული სუბსტრატები. ამასთან სახამებელშემცველი ნედლეული წარმოადგენს უფრო ძვირადღირებულ სუბსტრატს, ვიდრე ცელულოზა (197) ფოტოსინთეზის შედეგად ყოველწლიურად დედამიწაზე განახლდება დაახლოებით 100 მლრდ. ტონა ცელულოზა, რომლის გადამუშავებისას რჩება დიდი რაოდენობით ცელულოზაშემცველი ნარჩენი. ეს უკანასკნელი შეიძლება გამოყენებული იქნეს როგორც ნედლეული მრავალი ნივთიერების წარმოსაქმნელად. ნატიური ცელულოზა ბოჭკოვანი სტრუქტურის მქონე ნაერთია, რომელსაც აქვს როგორც კრისტალური ასევე ამორფული უბნები.

პრაქტიკულად ცელულოზის ჰიდროლიზი, ხსნადი შაქრების წარმოქმნით, ხორციელდება ორი გზით: ქიმიური და ფერმენტული.

მჟავური ჰიდროლიზი უფრო ამომწურავია, ვიდრე ფერმენტული, ვინაიდან მჟავის მოლეკულა, მცირე ზომის გამო უფრო ადვილად აღწევს ცელულოზის კრისტალურ სტრუქტურაში და იწვევს მის დაშლას უფრო მაღალი ხარისხით. ამასთან მჟავური ჰიდროლიზი არ საჭიროებს სუბსტრატის წინასწარდამუშავებას და შესაძლებელია მჟავის აღდგენა პროცესის დამთავრების შემდეგ (243). მიუხედავად ამ უპირატესობებისა, მთელი რიგი ავტორები მიუთითებენ მჟავურ ჰიდროლიზის პროცესის რიგ ნაკლოვანებებზე. კერძოდ პროცესი საკმაოდ ძვირია. გარდა ამისა მჟავური ჰიდროლიზის დროს წარმოიქმნება გლუკოზის დუღილისათვის არასასურველი პროდუქტები - ფურფუროლი, ორგანული მჟავები და სხვა.

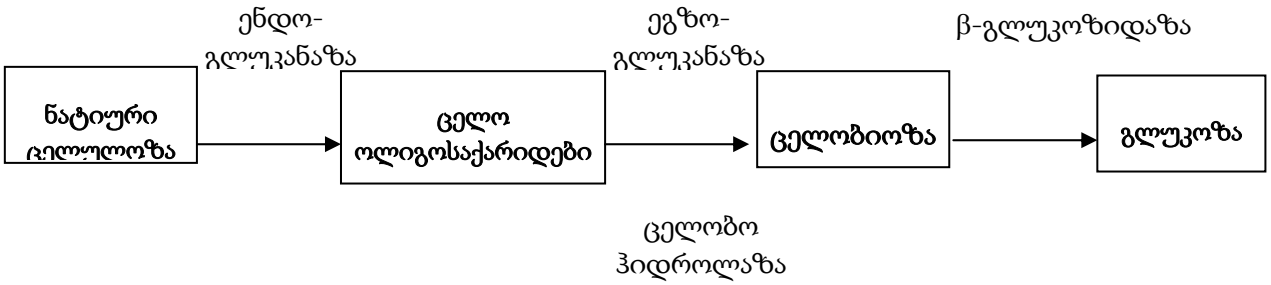
ცელულოზის ფერმენტული გარდაქმნა ხორციელდება მიკროორგანიზმების (ბაქტერიების, სოკოების, აქტინომიცეტების) შტამებით, რომელთაც ცელულაზების სინთეზის უნარი შესწევთ.

მრავალი მეცნიერის მიერ, აღიარებულია ცელულოზის, ცელულოზაშემცველი ნედლეულის დამუშავების მიზანშეწონილება სოკოური წარმოშობის ცელულაზური პრეპარატით. (53,218,169). სოკოური წარმოშობის ცელულაზები მნიშვნელოვანია

იმით რომ, შესწევთ უნარი ფერმენტის დიდი რაოდენობით პროდუცირებისა და ცელულაზების სრული კომპლექსის წარმოქმნისა(235,153).

ცელულოზის დამშლელი "ცელულაზური კომპლექსი" ძირითადად შეიცავს სამი ტიპის ფერმენტებს: ენდოგლუკანაზებს, ეგზოგლუკანაზებს და ცელობიაზებს, ისინი განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან, როგორც მოქმედების მექანიზმით ისე ჰიდროლოზის საბოლოო პროდუქტით (235).

ცელულოზის ბიოკონვერსია გლუკოზად მიმდინარეობს შემდეგი სქემის მიხედვით:



ცელულაზების საშუალებით შესაძლებელია მიკრობული ცილის, ძვირფასი მონოსაქარიდების, თხევადი საწვავის და აგრეთვე ცილით მდიდარი ბიომასის მიღება განახლებადი ნედლეულისაგან და ლიგნინო-ცელულაზური მასალისაგან (246)თხევადი საწვავი – ეთილის სპირტი მიიღება ცელულოზის ჰიდროლიზის პროდუქტების დუღილით; ანაერობული ფერმენტაციით მიიღება ორგანული გამხსნელები, შესაბამისი პროდუცენტების კულტივირებით ცელულოზის გარდაქმნის შედეგად მიიღება ქიმიკატები და ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები. ეს პროცესები პერსპექტივაში შესაძლებელია გამოყენებული იქნას სოფლის მეურნეობის და მრეწველობისა ცელულოზაშემცველი ნარჩენების რაციონალური უტილიზაციისათვის, რაც ასევე საშუალებას იძლევა დავიცვათ გარემო დაბინძურებისაგან. ცელულაზური ფერმენტების მეშვეობით ხდება დაბინძურებული წყლების გაწმენდა და მუნიციპალური ნაგვის გადამუშავება. (31).

ცელულოზის გარდაქმნის პროცესი საკმაოდ რთულია. ამ პროცესში შუალედური პროდუქტების სახით წარმოიქმნება მაღალ- და დაბალმოლეკულური ოლიგოსაქარიდები, რომლებიც საბოლოო ფერმენტული ჰიდროლიზის შედეგად

გარდაიქმნებიან გლუკოზად. რეაქციის ამ ჯაჭვში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სინერგიზმი ცელულაზური კომპლექსის ცალკეულ კომპონენტებს შორის. თითოეული ფერმენტი ამზადებს სუბსტრატს შემდგომი მოქმედებისათვის. ფერმენტის მოქმედების შედეგად იხსნება შესაძლო მაინჰიბირებელი ეფექტი. ისეთი ორგანიზმები, რომლებიც ცელულაზური კომპლექსის ყველა კომპონენტს ასინთეზებს იშვიათია, მიუხედავად ამისა, ასეთი პრეპარატები საბოლოოდ მაინც წარმოქმნიან გლუკოზას (1).

მიკრობული გზით წარმოქმნილი ფერმენტების უნარი მოახდინონ ცელულოზის ბიოდეგრადაცია ინტერესს იწვევეს როგორც მეცნიერული, ასევე მიკრობული ეკოლოგიისა და ინდუსტრიული მიკრობიოლოგიის თვალსაზრისითაც, მოკროორგანიზმების მიერ წარმოებული ცელულაზები ახდენენ ცელულოზის გლუკოზამდე ბიოკონვერსიას. ბრაზილიელი მეცნიერები გაცესა და ჰუბბლე (1991) თავიანთ ნაშრომში დიდ მნიშვნელობას ანიჭებენ აგრო-სამრეწველო ნარჩენებიდან გლუკოზის მიღებას და მის გამოყენებას კვების მრეწველობაში როგორც შაქრის შემცვლელები.

ქვეყნისათვის შაქრის მწვავე დეფიციტიდან გამომდინარე სავარაუდოა, რომ გლუკოზისა და ფრუქტოზის ნარევის წარმოების ტექნოლოგიის დანერგვა ქვეყანაში მნიშვნელოვნად დაფარავს საქაროზას დეფიციტს (1).

ოდესის კვებითი ტექნოლოგიების სახელმწიფო აკადემიის ლაბორატორიამ შეიმუშავა მარცვლეული პროდუქტებისაგან გლუკოზური სიროფის მიღების ტექნოლოგია. რომელსაც არა აქვს განსხვავებული გემო წარმოადგენს ღირებულ დამატკბობელ საკვებ პროდუქტს (29).

მსოფლიო გამოცდილება გვიჩვენებს, რომ გფს-მა შეიძლება შეცვალოს შაქარი საკონდიტრო წარმოებაში 20%-მდე, ნაყინის წარმოებაში-50%-მდე, პურ-ფუნთუშეულის, უალკოჰოლო სასმელების, ღვინის, შედედებული რძის წარმოებაში - 100%-მდე.

ცელულოზაშემცველი სუბსტრატებიდან მიღებული სიროფი, რომელსაც ფრუქტოზის მაღალი შემცველობა ექნება, შეიძლება გამოყენებული იქნას ხორბლის პურის დასამზადებლად, რომელიც დიდხანს არ ძველდება და გემოვნებით არ გამოირჩევა ჩვეულებრივად მომზადებული პურისაგან. Gგფს გამოყენებისას საკონდიტრო ნაწარმი დიდხანს არ ძველდება - კერძოდ რბილი კამფეტები,

პომადები, ზეფირი. წვენებში 3-7% გფს გამოყენებისას, იზრდება მისი ბიოლოგიური ღირებულება. საწარმოებში მცირდება შაქრის დანახარჯი. მცირდება პურ-ფუნთუშეულის კალორიულობა.

მე-3 თაობის გფს ხსნადობის უნარი გვაძლევს იმის საშუალებას, რომ მიღებულ იქნას არომატიზირებული კონცენტრირებული სიროფები უფრო მაღალი თაობის კოეფიციენტით, რაც ამაღლებს პროდუქტის გამოსავლიანობას, მდგრადობას შენახვისას და ამცირებს ტრანსპორტირების ფასს (41).

დღესდღეობით მსოფლიოში 100-ზე მეტი სპეციალიზირებული წარმოებაა რომელიც მაღალ ფრუქტოზულ გფს აწარმოებს, 59 მდებარეობს აზიაში, რომელთაგან 50 საწარმო ფუნქციონირებს იაპონიაში. გფს მაღალი მოთხოვნილება შეიმჩნევა ამერიკაში (49%-მდე), ტაივანში (30%-მდე), იაპონიაში (26,3%), სამხრეთ კორეაში (23,5%), კანადაში (19%).

გფს აგრეთვე შეიძლება მიღებული იქნას ბოსტნეულისა და ხილის გადამუშავების ნარჩენებისაგან, რომელიც შეიცავს 9-10% შაქარს. ექსტრაქციისა და შემდგომი კონცენტრაციით შეიძლება მიღებულ იქნას გფს გამდიდრებული ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებებით მათ შორის ვიტამინებით-თიამინით და რიბიფლავინით (30).

სავიჩს, სიდორენკოს და სხვ. თავიანთ ნაშრომში აღწერილი აქვთ გფს წარმოების ტექნოლოგიური პროცესი. ავტორები იმავე ნაშრომში ასაბუთებენ გფს წარმოებისა და გამოყენების უპირატესობას შაქრის ფხვნილიდან ტრადიციული მეთოდებით მიღებულ სიროფებთან შედარებით.(98).

რუსეთის ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის მიერ შემუშავებული იქნა გფს სიროფის მიღების ტექნოლოგია. სადაც მიიღეს გფს, ფრუქტოზის სხვადასხვა რაოდენობების შემცველობით -გფს-15 და გფს-30 (158).

ავსტრალიელი მეცნიერების ვან ვიკის და მოპულატსის მიერ ნაჩვენებია, რომ მიკროსკოპული სოკოს P*Penicillium funicolusion* – დან მიღებულია ცელულაზების ტექნიკური პრეპარატი, რომლის გამოყენებითაც ჩატარებულია ქაღალდის ნარჩენის ფერმენტული ჰიდროლიზი. ჰიდროლიზის შედეგად მიღებულია ჰიდროლიზატი გლუკოზის მაღალი შემცველობით(169).

მეცნიერთა ჯგუფის მიერ შექმნილია ბიოტექნოლოგიური დანადგარი, რომელშიც ხდება ქაღალდის წარმოების ნარჩენების გადამუშავება გლუკოზამდე.

მიღებული გლუკოზა გამოიყენება მთელი რიგი ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების სინთეზისათვის.

აშშ-ში დამუშავებულია გფს წარმოების მეთოდი,. რომელიც მოიცავს, ფერმენტულ დაშაქრებას (92%-მდე) ჰიდროლიზატის მიღებით, გარეშე ნივთიერებების მოცილებას და ჰიდროლიზატის დამუშავებას იმობილიზებული გლუკოზოიზომერაზით (79).

აშშ-ში შემუშავებული ერთ-ერთი მეთოდის მიხედვით, მიღებულია სიროფი გლუკოზის მაღალი კონცენტრაციით (98-99%), (78).

იაპონიაში, აშშ-ში, დანიასა და სხვა ქვეყნებში დამუშავებული და დანერგილი იქნა გლუკოზის ინვერტულ სიროფად ფერმენტული გარდამქნის მეთოდი, ფერმენტ გლუკოზოიზომერაზას დახმარებით (79,100,129,).

გლუკოზოიზომერაზული ფერმენტების წარმოებაზე მუშაობა მიმდინარეობს ამერიკაში, იაპონიაში, დანიაში, ნიდერლანდებში გერმანიაში, საფრანგეთში, ფინეთში (26).

ბელორუსიაში, მიკრობიოლოგიის ინსტიტუტში, მიღებულ იქნა გლუკოზოიზომერაზული ფერმენტი აქტინომიცეტ- *Streptomyces viridobrunneus*–დან. რომლის პირვანდელი აქტივობა საკვები არის ოპტიმიზაციის შედეგად გაზრდილა 30%-ით (26).

აშშ-ში დაპატენტებულია მელასიდან ფრუქტოზული სიროფის მიღების მეთოდი, ფრუქტოზილტრანფერაზას გამოყენებით. ეს უკანასკნელი მიღებულ იქნა *Pullularia pullulans* გვარის მიკროორგანიზმებისა და *S.cereviziae* გვარის საფუვრების კულტივირებით (79).

საზღვარგარეთ დამუშავებულია აგრეთვე ფრუქტოზის მაღალი შემცველობის მქონე სიროფის წარმოების მეთოდი, რომელიც ცნობილია ფრუქტოზული სიროფის, იზოსიროფის, იზოგლუკოზის სახელწოდებით. Pპროდუქცია ნაწილობრივ ინვერტული სიროფის მსგავსია. მასში მშრალი ნივთიერებების შემცველობა 70-75%, ხოლო სიტკბო საქაროზას შესაბამისი აქვს (49,56,99).

დიდ ბრიტანეთში შემუშავებულია ჰიდროლიზატის წარმოების მეთოდი მთლიანი მარცვლიდან, რომელიც შეიძლება გამოყენებული იქნას, როგორც ტკბილი დანამატი საკვები პროდუქტებისათვის. მაგალითად პურის, სასმელების და მარცლეულის ნაწარმის მომზადებისათვის (76).

გარდა თხევადი შაქრისა, უკანასკნელ წლებში აშშ-სა და სხვა განვითარებულ ქვეყნებში, იქ სადაც დიდი მოთხოვნილებაა ენერგორესურსებზე, გლუკოზისაგან ფართო მასშტაბით ღებულობენ ეთილის სპირტს, რომელსაც იყენებენ როგორც მანქანის საწვავს (93,120).

არგენტინელი მეცნიერების მიერ შესწავლილია დაბალმოლეკულური შაქრების მიღების შესაძლებლობა სოფლის მეურნეობის ნარჩენების მიკრობული გადამუშავებით (0202 121).

პურ-ფუნთუშეულის წარმოებაში ჰიდროლიზატები /სიროფების/ გამოიყენება რეცეპტურაში შაქრის შესაცვლელად. სიროფების გამოყენებისას არ იცვლება pH-ის მნიშვნელობა, გაზწარმოქმნის უნარი, დაყოვნების ხანგრძლივობა, ნაწარმის მოცულობა. საქაროზას ნაცვლად სიროფების გამოყენება ეკონომიურად ხელსაყრელია დაბალი ღირებულების გამო. გარდა ამისა, ისინი ადვილად დოზირდება, ტრანსპორტირდება და შენახვისას არ კრისტალდება /69, 93/.

პურის მრეწველობის სამეცნიერო-კვლევით ინსტიტუტში ჩატარებული კვლევებით /102/დადგენილია, რომ მაღალდაშაქრებული ნახევარფაბრიკატების მომზადებისას სხვადასხვა პურცხობის თვისებების მქონე ფქვილიდან დიდი მნიშვნელობა აქვს ფქვილის ნახშირწყლოვან კომპლექსს, ფერმენტული სისტემების აქტივობას ფქვილოვან საკონდიტრო ნაწარმში გამოყენების მიზნით (73).

ჰიდროლიზატის შემადგენლობა და ხარისხი დიდად არის დამოკიდებული პროცესის მოსამზადებელი სტადიის ჩატარების ტექნოლოგიასა და პირობებზე. დაშაქრებული პროდუქციის საბოლოო დახასიათება განპირობებულია უშუალოდ ჰიდროლიზის სტადიით, ამიტომ დაშაქრებული ფერმენტული პრეპარატების შერჩევა ან მათი კომბინაციები დამოკიდებულია ჰიდროლიზატის სასურველი შემადგენლობასა და მათი გამოყენების მიზანზე.

მ. სილაგაძის და სხვ მიერ შესწავლილია სხვადასხვა ფერმენტული პრეპარატების ცელულაზას, ქსილანაზას, დეჰიდროგენაზას მოქმედება პურისა და ორცხობილას ხარისხზე, გამოვლენილია ახალი ფერმენტული პრეპარატების მოქმედების ეფექტურობა და დადგენილია მათი გამოყენების რეჟიმები /1/.

თავი II

ექსპერიმენტული ნაწილი

კვლევის მასალები და მეთოდები

2.1 ცელულაზის პროდუცენტი მიკროსკოპული სოკოების შერჩევა

კვლევის ობიექტებს წარმოადგენენ ს. დურმიშიძის სახელობის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის ბიოტექნოლოგიის ლაბორატორიაში არსებული მიკროორგანიზმების კოლექციის მიკროსკოპული სოკოები. მიკროსკოპული სოკოები გამოყოფილია საქართველოს სხვადასხვა ნიადაგებიდან, უკანასკნელი 5 წლის განმავლობაში. შესწავლილია მიკროსკოპული სოკოების შემდეგი გვარები: *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Pehicillium*, *Trichoderma*, *Altenharia*, *Fusarium* და *Cladosporium*.

ცელულაზას პროდუცენტი *Aspergillus versicolor M*–ის შტამს ვზრდიდით შემდეგი შემადგენლობის, ჩაპეკის მოდიფიცირებულ საკვებ არეებზე (%): მიკროკრისტალური ცელულოზა-1,0; სიმინდის ექსტრაქტი-1,5; $NaNO_3$-0,3; KH_2PO_4 - 0,2; $MgSO_4 .7H_2O$-0,05; KCl- 0,05; $FeSO_4.H_2O$-0,02;

საკვები არის სტერილიზაციას ვახდენდით 40წთ-ის განმავლობაში 0,7 ატმ-ზე. ჩასათეს მასალად ვიყენებდით 40^0C-ზე 10 დღის განმავლობაში გაზრდილი კულტურების კონიდიების სუსპენზიას. კულტურებს ვზრდიდით ლუდის 7^0Б (ბალინგი) ბადაგიან - მყარ საკვებ არეზე. სოკოების სიღრმულ კულტივირებას ვაწარმოებდით 750 მლ ერლენმეიერის კოლბებში, 100 მლ მოცულობის საკვებ არეში, სანჯღრეველაზე (200 ბრ/წთ) 40^0C-ზე 96 საათის განმავლობაში.

კულტივირების შემდეგ კულტურალურ სითხეს ვაცენტრიფუგებდით 4000 ბრ/წთ-ზე 5 წთ-ის განმავლობაში.

წინასწარი ცდებით დადგენილ იქნა, რომ ცელულაზები კონცენტრირებულია ძირითადად კულტურალურ სითხეში, ბიომასაში კი რჩება აქტივობის მხოლოდ 5 – 10%. აქედან გამომდინარე, მიღებულ კულტურალურ სითხეში ვსაზღვრავდით საერთო ცელულაზურ აქტივობას ფილტრის ქაღალდის მიმართ. მიღებული აქტივობების მიხედვით ხდებოდა ცელულაზის აქტიური პროდუცენტის შერჩევა.

2.2. *Aspergillus versicolor* M-ის ტოქსიკურობის დადგენა

შტამის ტოქსიკურობას ვამოწმებდით *Paramaecium candatum*-ზე შემდეგი მეთოდით: 10 დღიან კულტურას ვაშრობდით აგარის ზედაპირს, ვაქუცმაცებდით, ვათავსებდით სინჯარებში და ვასხამდით სტერილურ წყალს შეფარდებით 1:1 სინჯარებს ვანჯღრევდით და ვინახავდით მაცივარში +4^{0}C 24სთ-ის განმავლობაში. ამის შემდეგ სინჯარებს ვაცერებდით და ვაჩერებდით ოთახის ტემპერატურაზე ორი წვეთ ექსტრაქტს სოკოს კულტურიდან და ერთ წვეთ ექსტრაქტს პარამეციებით ვათავსებდით სასაგნე მინაზე, ვურევდით და ვაწარმოებდით დაკვირვებას მიკროსკოპში მცირე გადიდებაზე 24 სთ-ის განმავლობაში. დაკვირვებათა შორის პერიოდში სასაგნე მინებს ვათავსებდით პეტრის თასებში ნოტიო ფილტრის ქაღალდზე. კონტროლად ვიღებდით წყალს, რომელიც გამოიყენებოდა ექსტრაქტების მოსამზადებლად.

მგრძნობელობის განსაზღვრის კრიტერიუმად ითვლებოდა დრო, საკვლევი ექსტრაქტის ზემოქმედების დაწყებიდან პარამეციების დაღუპვამდე.

სოკოს კულტურები, რომლებიც იწვევენ პარამეციების დაღუპვას 3 წთ-ის განმავლობაში ითვლებიან ძლიერ ტოქსიკურებად, 8-10 წუთის განმავლობაში – ტოქსიკურებად, 20 წუთიდან 24 საათის განმავლობაში- დაბალტოქსიკურებად, დანარჩენი არა ტოქსიკურებად.

2.3. *Aspergillus versicolor* M-ის პათოგენურობის დადგენა

Aspergillus versicolor M-ის მიკოტოქსიკოლოგიურ გამოკვლევას ვატარებდით *Paramaecium candatum*-ზე და კურდღელზე კანის სინჯით. შემდეგი მეთოდიკის მიხედვით: ფიზიოლოგიური ხსნარით ვამზადებდით სოკოს კულტურის სუსპენზიას ისე, რომ განზავების მიხედვით მიგვეღო ორი დოზა: 250 და 500 ათასი უჯრედი 1 მლ-ში. ასეთი ფიზიოლოგიური ხსნარი შეგვყავდა კურდღლის ვენაში და ცხოველის რეაქციას ვსწავლობდით კლინიკური დაკვირვებით, პათანატომიური გაკვეთებისა, ორგანოების მიკროსკოპული და მიკოლოგიური შესწავლის გზით. პათანატომიური გაკვეთებისა მიკროსკოპული გამოკვლევების დროს ძირითადი ყურადღება ექცეოდა ორგანოების, კერძოდ კი, ღვიძლისა და თირკმლის ანათლებს ვათავსებდით ჩაპეკის არიან პეტრის თასებზე. კულტივირებას ვახდენდით 40^{0}C-ზე 10 დღის განმავლობაში.

2.4. ცელულაზური აქტივობის განსაზღვრა ფილტრის ქაღალდის მიხედვით

მეთოდი დაფუძნებულია ცელულაზის უნარზე, მოახდინოს უხსნადი სუბსტრატების ჰიდროლიზი (კერძოდ, ფილტრის ქაღალდის) ხსნად მონოსაქარიდებამდე და ოლიგოსაქარიდებამდე. აქტივობის ფილტრის ქაღალდის მიხედვით ვსაზღვრავდით შემდეგ ნაირად: 50 მგ ვატმანის №1 ფილტრის ქაღალდს (“Whatman”, ინგლისი) ვუმატებდით 1 მლ 0,05 M აცეტატურ ბუფერს pH 4,8 ვათავსებდით თერმოსტატში 50^0C, 3-4 წუთი და ვამატებდით 1 მლ ფერმენტულ ხსნარს. ინკუბაციის ხანგრძლივობა 1 სთ 55^0C-ზე.

საერთო ცელულაზური აქტივობის ერთეულად ვიღებდით ფერმენტის იმ რაოდენობას, რომელიც წარმოქმნის 1 მკმოლ აღმდგენელ შაქრებს 1წთ-ში 50 მგ ფილტრის ქაღალდის ჰიდროლიზისას pH 4,8; t=50^0C.

2.5. ქსილანაზური აქტივობის განსაზღვრა

ქსილინაზური აქტივობის განსაზღვრისათვის სუბსტრატად ვიყენებდით არყის ხის ქსილანს. სუბსტრატს ვხსნიდით 60^0C-ის მქონე 80 მლ 0,5 M Na- ციტრატულ ბუფერში (pH 5,3) და ვაცხელებდით სანჯღრეველაზე დუღილის ტემპერატურამდე. ხსნარს ვაყოვნებდით შემდგომი მორევის პირობებში 24სთ-ის განმავლობაში, რის შემდეგ ბუფერით ვავსებდით 100 მლ- მდე. სარეაქციო არე შედგება: 1,8 მლ სუბსტრატის ხსნარისა და 0,2 მლ ფერმენტული ხსნარისაგან. ინკუბაციის ხანგრძლივობა 5წთ 50^0C. აღმდგენელი შაქრების განსაზღვრისათვის სარეაქციო არეს ვუმატებდით 3მლ DNS-ის რეაქრივს დავადუღებდით 5 წუთი. კონტროლი იზომება ზუსტად ანალოგიურად, იმ განსხვავებით, რომ ნაცვლად 0,2 მლ ფერმენტული ხსნარისა სარეაქციო არეში შეგვაქვს 0,2 მლ ბუფერული ხსნარი. სტანდარტული ხსნარი მზადდება სუფთა ქსილოზაზე. საწყისი ხსნარის მოლარობა 0,01- ის ტოლია. ქსილანაზური აქტივობის ერთეულად ვიღებდით ფერმენტის იმ რაოდენობას, რომელიც აკატალიზებს 1 მკმოლ-ის ექვივალენტ ქსილოზას 1 წთ-ში მოცემულ პირობებში.

2.6. ცელულოზაშემცველი სუსტრატების ქიმური შემადგენლობის განსაზღვრის მეთოდები

ცელულოზის რაოდენობას სუბსტრატებში ვსაზღვრავდით აპდეგრაფის მიხედვით (125). წყალში ხსნადი ნივთიერებებისა და პენტოზანების რაოდენობას ვსაზღვრავდით კატკევიჩის ჯგუფური ანალიზის მეთოდით (40). ტენიანობას- არასიმოვიჩის დაჩქარებული მეთოდით (5). ცილის რაოდენობას ვსაზღვრავდით კელდალის მოდიფიცირებული მეთოდით, ნესლერის რეაქტივის გამოყენებით (51). ნაცარს ვსაზღვრავდით ორგანული ნივთიერებების დაწვით მუფელის ღუმელში 600-800^{0}C-ზე (69).

2.7. აღმდგენელი შაქრებისა და გლუკოზის რაოდენობის განსაზღვრა

აღმდგენელი შაქრების რაოდენობას ვსაზღვრავდით სომოჯი-ნელსონის მეთოდით (228).

გლუკოზის რაოდენობას ვსაზღვრავდით გლუკოზოოქსიდაზურ-პეროქსიდაზური მეთოდით (116). შთანთქმის ინტენსივობას ვზომავდით 410 ნმ-ზე. წარმოქმნილი გლუკოზის რაოდენობას ვანგარიშობდით საკალიბრო მრუდით, რომელიც აგებულია გლუკოზის ხსნარის ცნობილი კონცენტრაციით.

2.8. ნახშირწყლების თვისებითი ანალიზი ქაღალდის ქრომატოგრაფიის გამოყენებით

ჰიდროლიზატების პროდუქტების თვისებით ანალიზს ვატარებდით ქაღალდის აღმავალი ქრომატოგრაფიის გამოყენებით (119).

გამხსნელად ვიყენებდით ნარევს ნ-ბუთანოლი: პირიდინი: წყალი თანაფარდობით 6:4:3. გამამჟღავნებლად ვიყენებდთ ანილინფტალატს.

2.9. ცელულაზის ტექნიკური პრეპარატის მიღება

ცელულაზის ტექნიკური პრეპარატის მისაღებად კულტურალური სითხის ცენტრიფუგატს ვაცივებდით +4^{0}C-ზე და ვუმატებდით 1:4 მოცულობა ცივ ეთილის

სპირტს. ნარევს ვტოვებდით 20 წუთის განმავლობაში +4^{0}C-ზე, წარმოქმნილ ნალექს ვაშორებდით ცენტრიფუგირებით (6000 ბრ/წთ 10 წთ-ის განმავლობაში) და ვაშრობდით ლიოფილურად.

2.10. ფერმენტული პრეპარატების თერმოსტაბილურობის დადგენა

ცელულაზას თერმოსტაბილურობის დადგენას ვაწარმოებდით ფერმენტის ინკუბაციით 70^{0}C-ზე (პასტერიზაციის ტემპერატურა) სუბსტრატის გარეშე.

ცელულაზურ პრეპარატს ვხსნიდით 0.05M აცეტატურ ბუფერში pH 4,5 და სინჯარით ვათავსებდით თერმოსტატში 70^{0}C-ზე, დროის გარკვეული ინტერვალით სინჯარიდან ვიღებდით ფერმენტის ხსნარს და ვსაზღვრავდით ნარჩენ ცელულაზურ აქტივობას ფილტრის ქაღალდის მიმართ. ფერმენტის თერმომედეგობაზე ვმსჯელობდით დროის გარკვეული პერიოდის შემდეგ დარჩენილი აქტივობის შედარებით საწყის აქტივობასთან.

2.11. დაბალმოლეკულური შაქრების მიღება ცელულოზაშემცველი ნედლეულის ფერმენტული ჰიდროლიზით

დაშაქრებული ჰიდროლიზატების მისაღებად ცელულოზაშემცველი სუბსტრატების ფერმენტულ ჰიდროლიზს ვატარებდით 55^{0}C-ზე 0.05M აცეტატურ ბუფერში pH 4,5-ზე 6სთ-ის განმავლობაში.

ცალკეულ სინჯარებში ვათავსებდით აწონილ სუბსტრატს, ვუმატებდით აცეტატურ ბუფერს და ფერმენტული პრეპარატის ხსნარს ვათავსებდით თერმოსტატში 55^{0}C-ზე და ვაკვირდებოდით ჰიდროლიზის მიმდინარეობის დინამიკას. ამ მიზნით ყოველ ერთ საათში სარეაქციო არედან ვიღებდით ნიმუშს და ფერმენტის ინაქტივაციის მიზნით 10წთ ვათავსებდით მდუღარე წყლის აბაზანაში, ვფილტრავდით და ფილტრატში ვსაზღვრავდით აღმდგენელ შაქრებსა და გლუკოზას. ჰიდროლიზის ხარისხს ვაფასებდით წარმოქმნილი გლუკოზისა და აღმდგენელი შაქრების რაოდენობის მიხედვით.

ჰიდროლიზის პროდუქტებს თვისობრივად ვიკვლევდით ქაღალდის ქრომატოგრაფიის მეთოდით.

2.12. ლაბორატორიულ პირობებში ცომისა და პურის მომზადების მეთოდი

ლაბორატორიულ პირობებში ცომს ვამზადებდით აფარული და უაფარო მეთოდებით /89/.

ლაბორატორიული კვლევისას ცომის მოზელვას ვაწარმოებდით ЗЛК მარკის ცომსაზელ მანქანაზე 5წთ-ის განმავლობაში. შემრევი მოწყობილობის ბრუნვის სიხშირე 1,16 წმ.

ცომის დუღილი მიმდინარეობდა თერმოსტატში 30-32^{0}C ტემპერატურაზე.

დაყოფის შემდეგ ცომის გუნდების დაყოვნებას ვაწარმოებდით ლაბორატორიული საცხობი ღუმელის ТЭЗПВ დამაყოვნებელ კარადაში 35-37^{0}C ტემპერატურასა და 75-80% ჰაერის ფარდობითი ტენიანობის პირობებში. გამოცხობისათვის ნიმუშების მზადყოფნას ვსაზღვრავდით ორგანოლეპტიკურად.

გამოცხობას ვაწარმოებდით ლაბორატორიულ ელექტრო ღუმელში დატენიანებით, 220-230 ^{0}C ტემპერატურაზე. 0,2 კგ. ძირის პურის ცხობის ხანგრძლივობა შეადგენდა 20წთ-ს, ხოლო 0,6 კგ. ფორმის პურისათვის 35წთ-ს.

მზა ნაწარმის ანალიზს ვაწარმოებდით გამოცხობიდან 16 საათის შემდეგ. ცომის ფიზიკურ თვისებებს ვსაზღვრავდით ბრაბენდერის ფარინოგრაფზე (89), ფორიანობას იაკობის მეთოდით. პურის გულის ფიზიკურ თვისებებს ვსაზღვრავდით ავტომატიზირებულ პენეტრომეტრზე АП-4/1 აუერმანის და მელკინას მეთოდით.

აქროლადი კარბონილურ ნაერთთა შემცველობას ვითვლიდით ბისულფიდ შემკავშირებელი ნაერთთა განსაზღვრის მეთოდით.

2.13. ექსპერიმენტული მონაცემების დამუშავების ელემენტარული მათემატიკური ფორმულა

ექსპერიმენტული მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება ხდებოდა ფრიტცისა და შენკის მიხედვით /110/.

ნაშრომში წარმოდგენილი სიდიდეები წარმოადგენს სამი გაზომვის საშუალო არითმეტიკულს; ფარდობითი ცდომილების მაქსიმალური მნიშვნელობაა 5%.

თავი III

მიღებული შედეგები და მათი განსჯა

3.1 ცელულაზას პროდუცენტი მიკროსკოპული სოკოების შერჩევა

ცელულაზას აქტიური პროდუცენტის შერჩევას ვაწარმოებდით ინსტიტუტის ბიოტექნოლოგიის ლაბორატორიაში არსებული მიკროორგანიზმების კოლექციის მიკროსკოპულ სოკოებს შორის, კერძოდ *Aspergillus, Chaetomium Penicillium, Trichodierma, Fusarium, Cladosporium* და *Sporotrichum* გვარების სოკოებში. ლიტერატურული მონაცემებით ამ გვარის მიკროსკოპული სოკოების წარმომადგენლები ცნობილია, როგორც ცე;ლულაზასა და ქსილანაზას პროდუცენტები (44).

ვინაიდან ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა მცენარეული სუბსტრატების გარდაქმნა, რომლებიც ცელულოზასთან ერთად შეიცავენ ჰემიცელულოზასაც, საინტერესო იყო ისეთი შტამის შერჩევა, რომელსაც გააჩნდა როგორც ცელულაზური, ისე ქსილანაზური აქტივობები.

კოლექციაში არსებულ კულტურებს ვზრდიდით შემდეგი შემადგენლობის თხიერ საკვებ არეზე (%): მიკროკრისტალური ცელულოზა-1,0; სიმინდის ექსტრაქტი-1,5; $NaNO_3$-0,3; KH_2PO_4 -0,2; $MgSO_4$. $7H_2O$-0,05; KCl-0,05; $FeSO_4.H_2O$-0,02; კულტივირების დამთავრების შემდეგ ცენტრიფუგირებით ვაცილებდით ბიომასას და კულტურალურ სითხეში ვსაზღვრავდით როგორც ცელულაზურ ასევე ქსილანაზურ აქტივობებს.

ჩატარებული ცდების ანალიზმა გვიჩვენა, რომ ჩვენს მიერ შესწავლილი სხვადასხვა გვარის სოკოებში ცელულაზური აქტივობები გააჩნდა ოთხ გვარს *Aspergillus, Chaetomium, Trichodierma* და *Sporotrichum* (ცხრილი 1).

კვლევის შედეგად მიღებული შედეგები შეესაბამება ლიტერატურულ მონაცემებს იმის თაობაზე, რომ ცელულაზას პროდუცენტები უფრო ხშირად გვხვდება *Aspergillus*-ის გვარის წარმომადგენლებში.

ჩვენს მიერ შესწავლილი 80 შტამიდან ყველაზე მაღალი ცელულაზური აქტივობა აღმოაჩნდა *Aspergillus*-ის გვარის წარმომადგენელს.

მრავალჯერადი გამოკვლევის საფუძველზე საბოლოოდ დავადგინეთ, რომ სიღრმული კულტივირებისას ყველაზე აქტიური ცელულაზას და ქსილანაზას წარმოქმნის უნარი გააჩნია: *Aspergillus versicolor*-MM(ცხრილი 1).

ცხრილი 1

სიღრმული კულტივირებისას მიღებული მიკროსკოპული სოკოების უჯრედგარეშე ცელულაზური და ქსილანაზური აქტივობები

№	შტამი	აქტივობა ფილტრის ქაღალდზე, ერთ/მლ	ქსილანაზური აქტივობა, ერთ/მლ
1.	*Aspergillus terreus 17 p*	0.35	10
2.	*Aspergillus versicolor M*	0.85	20
3.	*Aspergillus wentii IBB*	0.65	18
4.	*Ch. thermophile S-14*	0.55	15
5.	*Aspergillus terreus T- 9*	0.15	7
6.	*Alescheria terrestris T- 1*	0.25	6
7.	*Aspergillus fumigatus D- 1*	0.26	5
8.	*Penicillium canesces S-29*	0.38	9
9.	*Sporotrichum pulverulentum 43*	0.55	26
10.	*Aspergillus versicolor sp.6*	0.25	15
11.	*Trichodierma lignorium S-1*	0.51	6

მიღებული შედეგების საფუძველზე დაშაქრებული ჰიდროლიზატების მისაღებად ს. დურმიშიძის სახელობის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის მიკროსკოპული სოკოების კოლექციიდან ჩვენს მიერ შერჩეულ იქნა ცელულაზას აქტიური პროდუცენტი, არატოქსიკური და არაპათოგენური კულტურა *A.versicolor* M.

3.2. ცელულაზას პროდუცენტი *A.versicolor*-M-ის კულტივირების ოპტიმალური პირობების შერჩევა

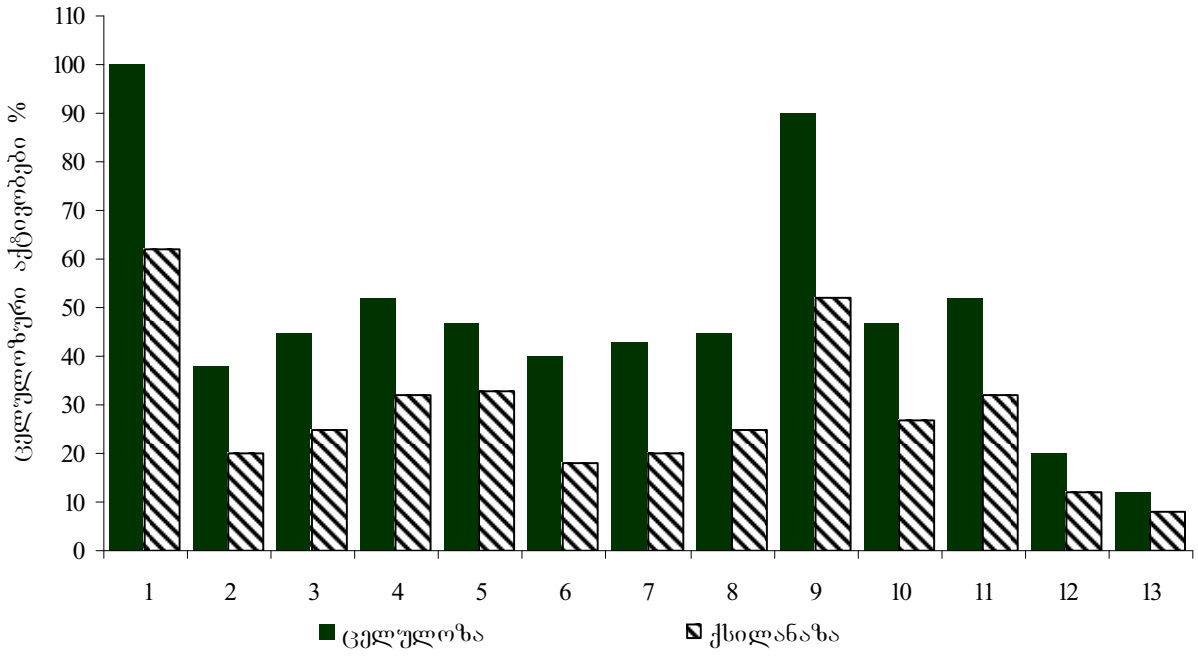
მიკროორგანიზმების მიერ ფერმენტების სინთეზი ძირითადად დამოკიდებულია ორგანიზმის გენეტიკურ თავისებურებებზე. მიუხედა-ვად ამისა უჯრედის ბიოსინთეზური აქტივობის გაზრდის ერთ–ერთ მეთოდს, მისი გენეტიკური აპარატის შეუცვლელად, წარმოადგენს ბიოსინთეზის პროცესის მიმართული რეგულირება საკვები არის შემადგენლობისა, მისი კონცენტრაციისა და ასევე კულტივირების პირობების ცვლილებით (109).

საკვები არის შემადგენლობის შერჩევითა და ცალკეული კომპონენტების ოპტიმალური თანაფარდობის დადგენით შესაძლებელია ჰიდროლიზური ფერმენტების აქტივობის გაზრდა.

ჩვენს მიზანს წარმოადგენდა, მოგვეხდინა ჩვენს მიერ შერჩეული შტამის საკვები არისა და კულტივირების პირობების ოპტიმიზაცია და ამით, თუ შესაძლებელი იქნებოდა, კიდევ უფრო გაგვეზარდა ცელულაზური და ქსილანაზური აქტივობები.

საკვებ არეში შემავალ კომპონენტებს შორის ნახშირბადის წყაროს ერთ – ერთი მნიშვნელოვანი ადგილი უჭირავს. იგი ხელს უწყობს, როგორც სოკოების ზრდას, ასევე ფერმენტების წარმოქმნას.

საკვებ არეში ნახშირბადის წყაროს შესარჩევად გამოვცადეთ ფილტრის ქაღალდი, მიკროკრისტალური ცელულოზა, სახამებელი, კარბოქსიმეთილცელულოზა, თივა, ალაოს ღივები, ხორბლის ქატო, აღნიშნული სუბსტრატები საკვებ არეში შეგვქონდა 1% რაოდენობით. ფერმენტის ინდუცირებადი ბუნების დასადგენად გამოვცადეთ 3, 5 და 6 ატომიანი მონო და დისაქარიდები: გლუკოზა, გალაქტოზა, არაბინოზა, რამნოზა, ქსილოზა, სორბიტი, მანიტი, მალტოზა, საქაროზა, ლაქტოზა, ცელობიოზა და გლიცერინი, რომლებიც საკვებ არეში შეგვქონდა 0,8% რაოდენობით ნახშირბადის მიხედვით. ცელულაზის ყველაზე მაღალი აქტივობა აღინიშნებოდა საკვებ არეში მიკროკრისტალური ცელულოზის, ალაოს ღივების შეტანისას (ნახ1)



ნახ. 1. ნახშირბადის სხვადასხვა წყაროების გავლენა

A. versicolor M-ის ცელულაზას ბიოსინთეზზე

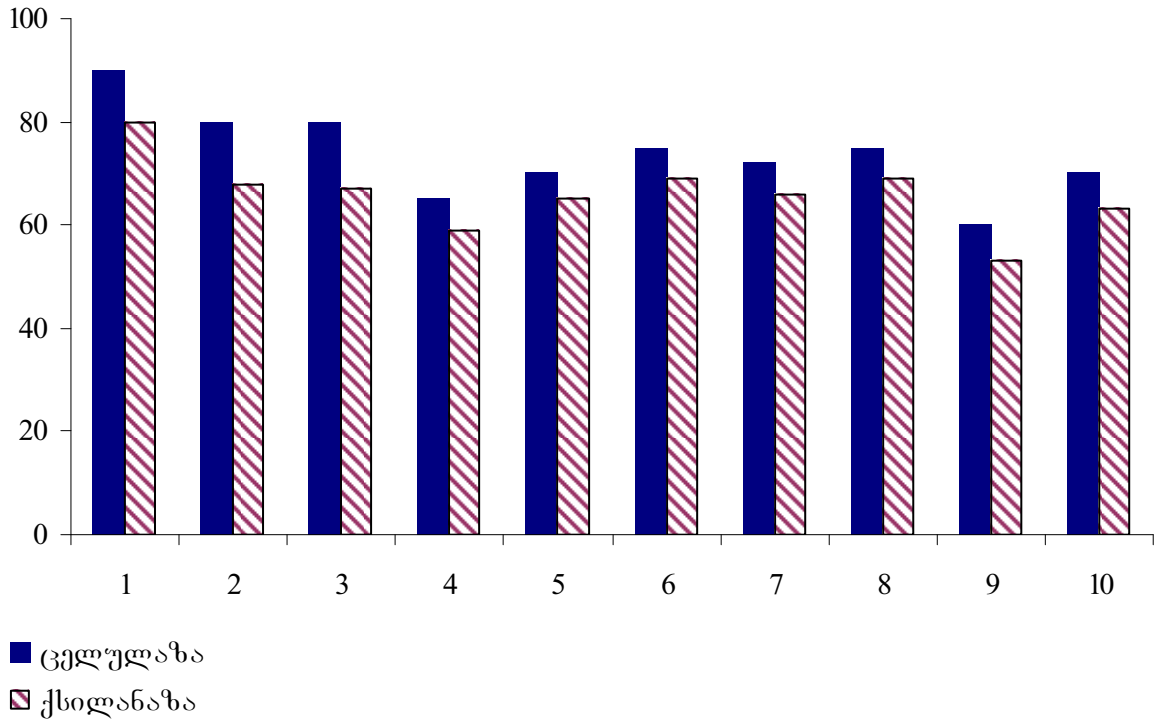
1-მიკროკრისტალური ცელულოზა; 2-გლუკოზა; 3-გალაქტოზა; 4-ფილტრის ქაღალდი; 5-რამნოზა; 6-ქსილოზა; 7-სორბიტი; 8-მანიტი; 9-ალაოს ღივები; 10-საქაროზა; 11-გაზეთის ქაღალდი; 12-ცელობიოზა; 13-გლიცერინი

მიღებული შედეგები ცხადყოფს, რომ ცელულაზის ბიოსინთეზი შტამი *A. versicolor*-**M**-ის მიერ აშკარად გამოხატულ ინდუცირებულ ხასიათს ატარებს, თუმცა ის, რომ ამ ფერმენტის ბიოსინთეზი აღინიშნებოდა ისეთ სუბსტრატებზეც, როგორებიცაა ქსილოზა, სორბიტი, მანიტი და განსაკუთრებით გლიცერინი მიუთითებს ცელულაზის კონსტიტუციურ სინთეზის ხასიათზე.

ცელულაზას ბიოსინთეზზე აზოტის გავლენის შესასწავლად ვიყენებდით არაორგანულ და ორგანულ წყაროებს. აზოტის მინერალური წყაროებიდან ვიყენებდით აზოტმჟავა ნატრიუმს, აზოტმჟავა კალიუმს, გოგირდმჟავა ამონიუმს, აზოტმჟავა ამონიუმს, ორჩანაცვლებულ ფოსფორმჟავა ამონიუმს, ამონიუმის ქლორიდს. აღნიშნული მარილების კონცენტრაცია არეში აღებული იყო 0,05 % აზოტის მიმართ.

აზოტის ორგანული წყაროებიდან ვიყენებდით სხვდასხვა კონცენტრაციების საფუვრის ექსტრატს, პეპტონს და შარდოვანას.

ჩატარებული ცდების საფუძველზე დავადგინეთ, რომ ინტენსიური ზრდა და ყველაზე მაღალი აქტივობა მიღებულია გოგირდმჟავა ამონიუმის მარილის გამოყენებისას (ნახ 2).

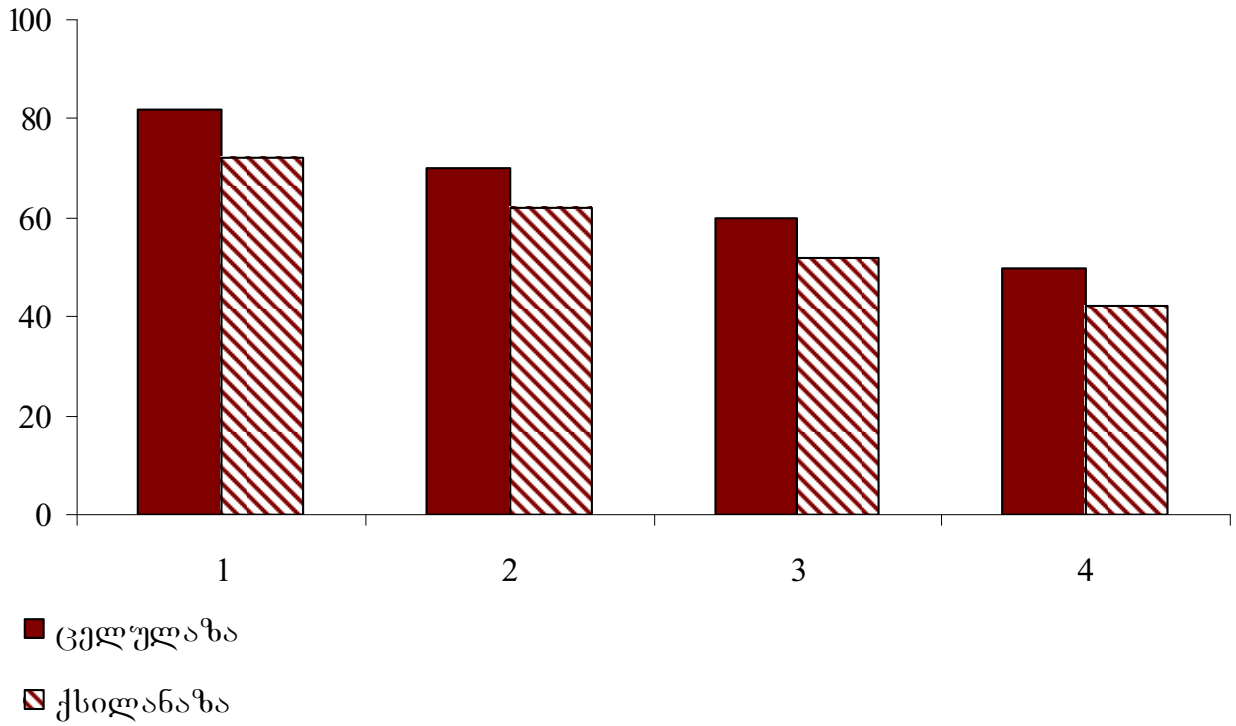


ნახაზი 2. აზოტის სხვადასხვა წყაროების გავლენა *A. versicolor*-M-ია ცელულაზასა და ქსილანაზას ბიოსინთეზზე

1-$(NH_4)_2SO_4$, 2-KNO_3, 3-NH_4NO_3, 4$NaN0_3$, 5-NH_4Cl, 6-$(NH_4)_2HPO_4$,
7-შარდოვანა, 8-საფუვრის ექსტრაქტი 1,1%, 9-საფუვრის ექსტრაქტი 1,5%, 10-საფუვრის ექსტრაქტი 3,0%.

ფოსფორის წყაროს ეფექტურობის გასარკვევად გამოვიყენეთ ერთ- და ორჩანაცვლებული ფოსფორმჟავა კალიუმის, ორჩანაცვლებული ფოსფორმჟავა ნატრიუმის და ამონიუმის ფოსფორმჟავა მარილები. საკვებ არეში, რომელშიც ნახშირბადის წყაროს წარმოადგენდა მიკროკრისტალური ცელულოზა, ხოლო აზოტის – ამონიუმის სულფატი, ზემოაღნიშნული ფოსფორმჟავა მარილები

შეგვქონდა 0,45%, ფოსფორის მიხედვით, ცელულაზას მაქსიმალური დაგროვება აღინიშნებოდა საკვებ არეში ორჩანაცვლებული ფოსფორმჟავა ამონიუმის არსებობისას.



ნახ. 3. ფოსფორის სხვადასხვა წყაროების გავლენა A*A. versicolor*-M-ის ცელულაზას ბიოსინთეზზე

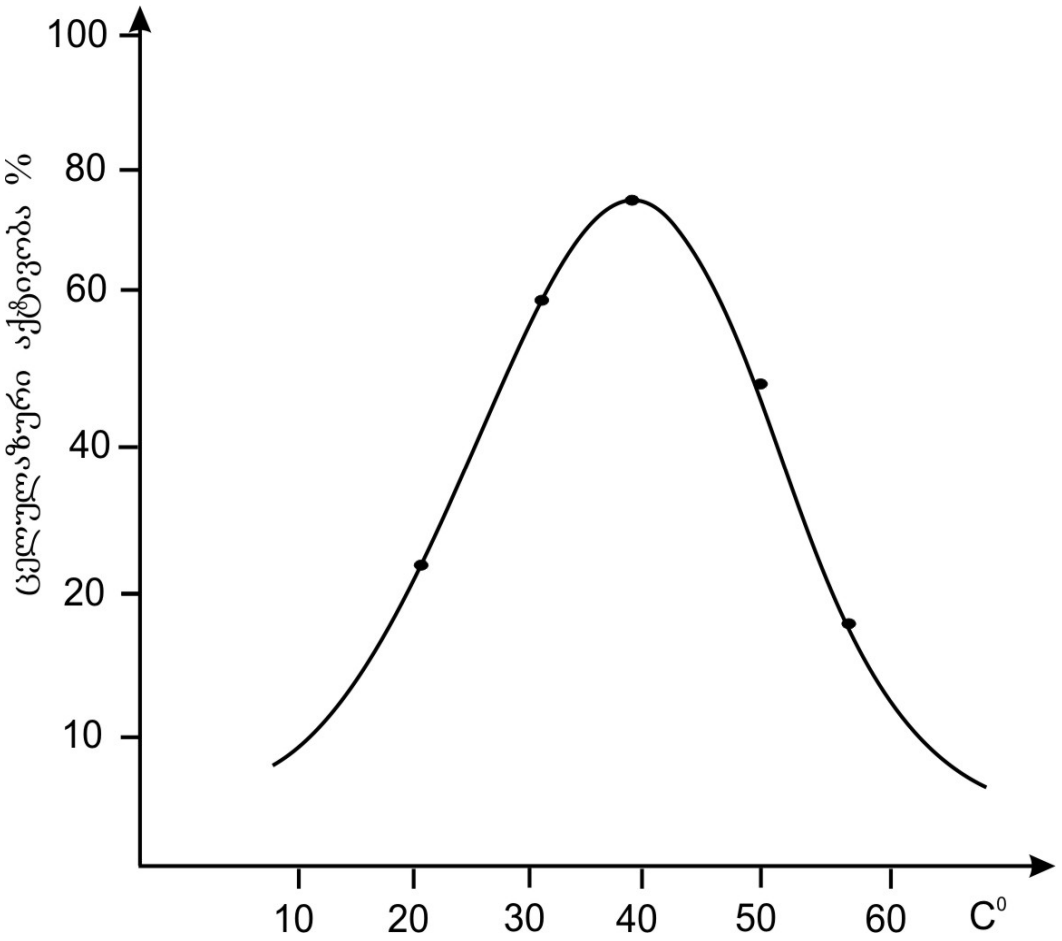
ფოსფორის წყაროები:
1 - KH_2PO_4, 2 - K_2HPO_4, 3 – Na_2HPO_4 , 4 – $(NH_4)_3PO_4$

როგორც ცნობილია, ვიტამინები შედიან ფერმენტების შემადგენილობაში და ამგვარად მონაწილეობენ ორგანიზმში მიმდინარე მრავალ მეტაბოლიტურ რეაქციებში. ჩვეულებრივად, მიკროორგანიზმების ვიტამინებზე მოთხოვნილება დგინდება ექსპერიმენტალურად. A*A. versicolor*-M-ის ვიტამინების მიმართ მოთხოვნილების დასადგენად ჩვენს მიერ შერჩეულ საკვებ არეში ვიტამინები შეგვქონდა სტერილურად კულტურის ჩათესვის წინ შემდეგი კონცენტრაციებით: 0,0005; 0,005; და 0,05 მკგ/მლ. მიღებული მონაცემების საფუძველზე შეიძლება დავასკვნათ, რომ გამოყენებული ვიტამინები *A. versicolor*-M-ის ბიოსინთეზზე პრინციპულ გავლენას არ ახდენენ. შევისწავლეთ ასევეA *A. versicolor*-M-ისA

ცელულაზის ბიოსინთეზზე ცალკეული ამინომჟავების გავლენა. ცელულაზას აქტივობის გაზრდა საკვებ არეში ამინომჟავების შეტანისას არ შეიმჩნეოდა.

მიკროორგანიზმების ფიზიოლოგიურ აქტივობასა და ზრდაზე დიდ გავლენას ახდენს ისეთი გარემო ფაქტორები, როგორიცაა ტემპერატურა, ტენიანობა, საინკუბაციო არის მჟავიანობა, წნევა, აერაცია და ა.შ.

კულტივირების პირობების გავლენის შესწავლისას საწყის ეტაპად ავარჩიეთ ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურის დადგენა, ამისათვის შტამს ვზრდიდით ტემპერატურის ფართო დიაპაზონში 20^{0}C-დან 60^{0}C-მდე 5^{0}C ინტერვალით, ჩვენს მიერ შერჩეულ საკვებ არეში. მიღებულმა შედეგებმა გვიჩვენა, რომ ყველაზე უკეთესი ზრდა და ცელულაზას მაქსიმალური აქტივობა აღინიშნებოდა 40^{0}C კულტივირებისას. ტემპერატურის შემდგომო მომატება ან კლება იწვევს ცელულაზური აქტივობის მკვეთრ დაცემას (ნახაზი 4).



ნახ 4.*A.versicolor*-M ცელულაზას ბიოსინთეზზე კულტივირების ტემპერატურის გავლენა.

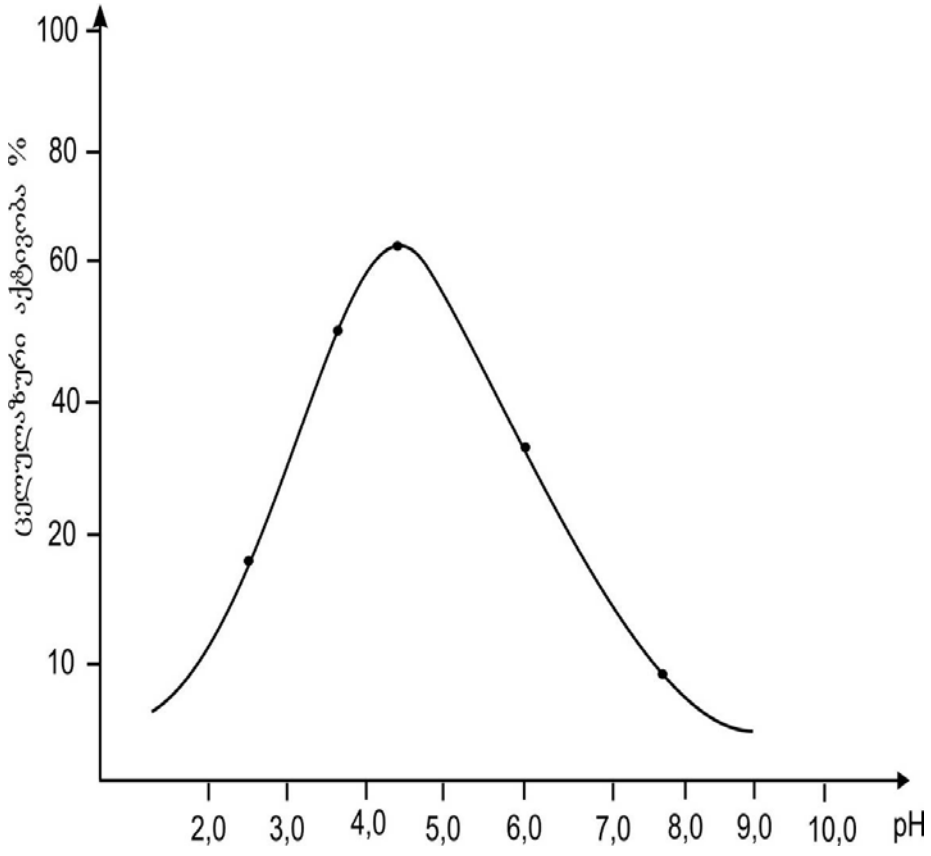
°C

არანაკლებ გავლენას მიკროორგანიზმების ზრდასა და ფერმენტების ბიოსინთეზზე ახდენს საკვები არის pH.

საკმაოდ ბევრი ლიტერატურული მონაცემებია ცნობილი pH-ის საწყისი მნიშვნელობისა და მისი ცვლილების დამოკიდებულების შესახებ. pH-ს მნიშვნელობის შეცვლით, შესაძლებელია ნივთიერებათა ცვლის საბოლოო პროდუქტების დაგროვების ხარისხობრივი ცვლილება.

საკვები არის ოპტიმალური საწყისი pH-ის დასადგენად კულტურას ვზრდიდით 40^0C-ზე ჩვენს მიერ შერჩეულ საკვებ არეში

საწყის pH ვცვლიდით 2,0 – 8,0 ფარგლებში, 0,5 – ის ინტერვალით, დადგენილ იქნა, რომ შტამის *A.awamori* 82-ის კარგი ზრდისა და გლუკოამილაზას აქტივობისათვის ხელსაყრელია საკვები არე – pH 5,0 – 6,0. ხოლო შტამი *A.versicolor*-M -ის კარგი ზრდისა და ცელულაზური აქტივობისათვის ხელსაყრელია საკვები არის pH 4,5. pH-ის ცვლა, მჟავიანობის უფრო დაბალი ან მაღალი მონაცემები იწვევდა ცელულაზური აქტივობის შემცირებას (ნახაზი 5).



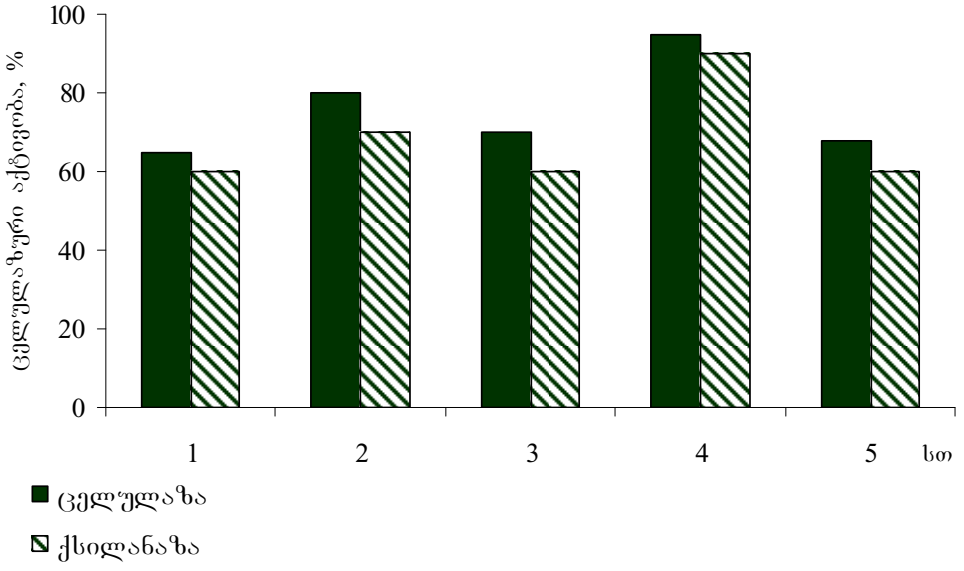
ნახ.5 *A.versicolor*-M ცელულაზას ბიოსინთეზზე საკვები არის pH-ის გავლენა.

ზოგიერთ შემთხვევაში ფერმენტის აქტივობის განმსაზღვრელ ფაქტორს წარმოადგენს ჩასათესი მასალის ასაკი. იგი გარკვეულ წილად მოქმედებს როგორც კულტურის ზრდაზე თხევად საკვებ არეზე, ასევე ბიოსინთეზის პროდუქტიულობაზე. ჩასათესი მასალის ასაკი ინდივიდუალურია თითოეული პროდუცენტისათვის.

ჩასათესი მასალის ოპტიმალური ასაკის დასადგენად შტამებს ვზრდიდით ერთიდან ოცდაათი დღის განმავლობაში. ჩვენს მიერ შერჩეულ საკვებ არეებში შეგვქონდა შესაბამისი კულტურების 1მლ წყლიანი სუსპენზიები, რომელებიც შეიცავდნენ $1:10^6$ კონიდიებს. მიღებული მონაცემებიდან გამომდინარე *A.versicolor*-M -სათვის 10 დღიანი კულტურა.

შერჩეულ თხიერ საკვებ არეებში შესაბამისად ცელულაზას დაგროვების დინამიკის გამოსავლენად *A.versicolor*-M ვზრდიდით 7დღის განმავლობაში და ცელულაზურ აქტივობებს ვსაზღვრავდით ყოველ 24 საათში. ტემპერატურა 35^0C, pH- 6,0.

ყოველდღიურად ვსაზღვრავდით აქტივობებს. მიღებული შედეგებიდან შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ უჯრედგარე ცელულაზას აქტივობა ვლინდება შტამის განვითარების დასაწყისიდან და ყველაზე მაღალი აქტივობა აღინიშნება მე-4 დღეს (სურ 6). შემდგომ კი იწყება აქტივობების შემცირება.



ნახ.6 *A.versicolor*-M-ის ცელულოზას აქტივობის დამოკიდებულება კულტივირების ხანგრძლივობაზე

ამრიგად, ჩატარებული გამოკვლევების საფუძველზე შტამი *A.versicolor*-M-სათვის შერჩეულ იქნა კულტივირების ოპტიმალური პირობები. საკვები არე (გ/ლ): მიკროკრისტალური ცელულოზა -1,0; სიმინდის ექსტრაქტი-1,5; $(NH_4)_2SO_4$ -0,3; K_2HPO_4 -0,2; $MgSO_4$.$7H_2O$-0,05; KCl- 0,05; $FeSO_4$. H_2O-0,02; კულტივირების ხანგრძლივობა – 96სთ, ტემპერატურა – 40^0C. საკვები არის საწყისი pH 4.5. აქტივობის მიხედვით საუკეთესო შედეგს იძლევა 10 დღიანი ჩასათესი მასალა.

საკვები არის ოპტიმალური შედგენილობისა და კულტივირების ოპტიმალური პირობების შერჩევის შედეგად შესაძლებელი გახდა შტამის *A. versicolor*-M-*ob* უჯრედგარეშე ცელულაზასა და ქსილანაზის აქტივობების გაზრდა დაახლოებით 25%-ით (ცხრილი 2).

ცხრილი 2

A. versicolor-M –ის ცელულაზური და ქსილანაზური აქტივობები (ერთ/მლ) საკვები არეების ოპტიმიზაციის შემდეგ

შტამი	საწყისი აქტივობები, ერთ/მლ		Aაქტივობები ოპტიმიზაციის შემდეგ	
	ცელულაზა (ფილტრის ქაღალდის მიხედვით)	ქსილანაზა	ცელულაზა (ფილტრის ქაღალდის მიხედვით)	ქსილანაზა
A.versicolor-M	0.85	20	1.05	25

3.3 ცელულაზას ფერმენტული პრეპარატების მიღება და ზოგიერთი ფიზიკო-ქიმიური თვისებების შესწავლა

ცელულაზას ტექნიკური პრეპარატების მისაღებად ვიყენებდით დალექვას ორგანული გამხსნელებით (აცეტონი, სპირტი). გამხსნელის ოპტიმალური თანაფარდობის დასადგენად გაფილტრულ კულტურალურ სითხეს ვუმატებდით სხვადასხვა მოცულობა ეთილის სპირტს და აცეტონს. დალექვისას მიღებულ ტექნიკურ პრეპარატებში ვსაზვღრავდით ცელულაზურ და ქსილანაზურ აქტივობებს (ცხრილი 3).

ცხრილი 3

დალექვისას ტექნიკურ პრეპარატებში მიღებული ცელულაზური და ქსილანაზური აქტივობები

კულტ. სითხისა და ორგ. გამხსნელის თანაფარდობა	ნალექში გადასული ცელულაზური აქტივობა % (საერთო აქტივობიდან) დალექვა სპირტით	ნალექში გადასული ცელულაზური აქტივობა % (საერთო აქტივობიდან)
1:1	50	3
1:2	60	15
1:3	70	35
1:4	90	75
1:5	90	75
	დალექვა აცეტონით	
1:1	35	20
1:1.5	40	45

აღმოჩნდა, რომ აქტივობები ყველაზე მაღალია ეთილის სპირტით დალექვისას თანაფარდობით კულტურალურ სითხესთან 4:1.

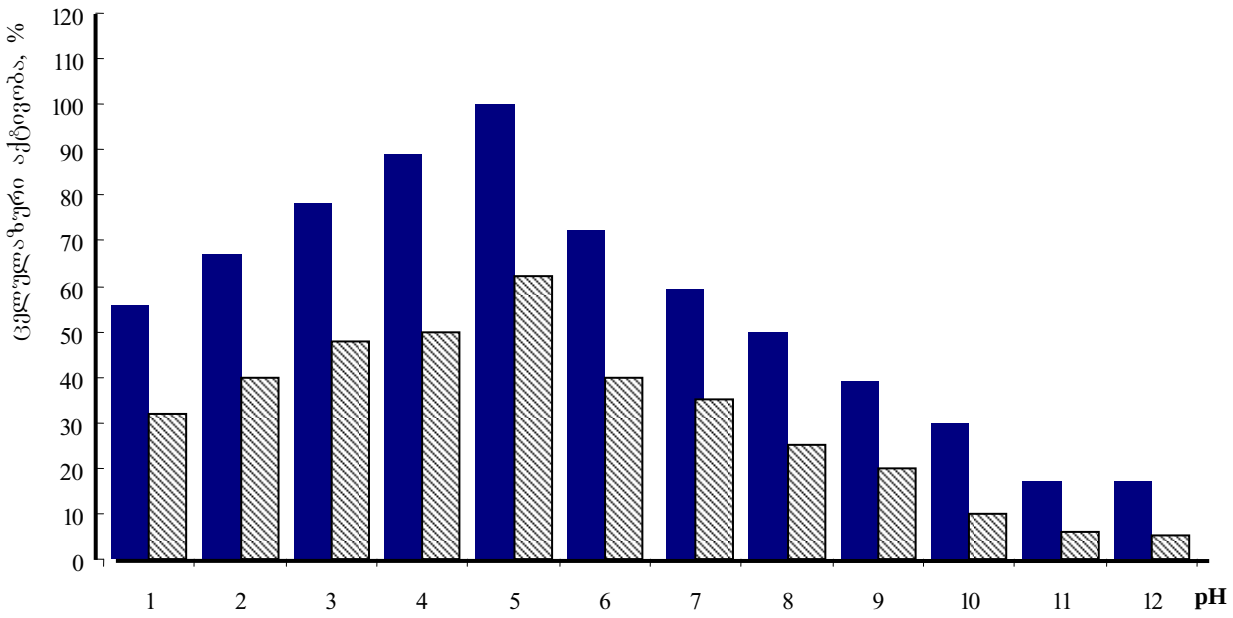
მიღებული ცელულაზური პრეპარატის პრაქტიკული გამოყენებისათვის აუცილებელი იყო მათი ზოგიერთი ფოზიკო-ქიმიური მახასიათებლების დადგენა. ამისათვის შევისწავლეთ ფერმენტის მოქმედების pH და ტემპერატურული ოპტიმუმები.

3.3.1 საინკუბაციო არის pH-ის გავლენა *A. versicolor* M-ის ცელულაზური პრეპარატების აქტივობაზე

ფერმენტული რეაქციის სიჩქარეზე საინკუბაციო არის pH-ის გავლენის შესასწავლად სუბსტრატად ვიყენებდით ფილტრის ქაღალდს. ფერმენტული პრეპა-რატის წონაკი სარეაქციო არეში შეტანამდე იხსნებოდა იმავე ბუფერში, რაშიც სუბსტრატი. საერთო ცელულაზური აქტივობის განსაზღვრა ხდებოდა ფილტრის ქაღალდის მიმართ.

pH-ის მნიშვნელობას სარეაქციო არეში ვცვლიდით pH 2,0 –8,0 მდე 0,5 შუალედით. ინკუბაცია მიმდინარეობდა თერმოსტატში 40^0C-ტემპერატურაზე. აქტივობას გამოვხატავდით პროცენტებში მაქსიმალურთან შედარებით. შედეგები ნაჩვენებია მე-7 ნახაზზე.

მიღებული შედეგების საფუძველზე შეიძლება დავასკვენით, რომ *A. versicolor* M- დან მიღებული ცელულაზას პრეპარატის მოქმედების ოპტიმუმი არის სუსტი მჟავა არე, კერძოდ pH 4,5;. როგორც ნახაზიდან ჩანს, pH-ის ოპტიმალური მნიშვნელობის დიაპაზონის მიღმა რეაქციის სიჩქარე მნიშვნელოვნად მცირდება. მაგ. pH 7,5- ის დროს რეაქციის სიჩქარე Vmax შედარებით მცირდება 6-ჯერ, ხოლო pH 2,5 დროს დაახლოებით 1,5-ჯერ.



ცელულაზა
ქსილანაზა

■ ცელულაზა

▧ ქსილანაზა

ნახ. 7. *A. versicolor* M-ის ცელულაზური პრეპარატის აქტივობის დამოკიდებულება სარეაქციო არის pH-ზე

ცდის პირობები:

ბუფერული ხსნარები: გლიცინ- HCl ბუფერი 0,05M, pH 2,0-3,5

აცეტატური ბუფერი – 0,05 M, pH 4,0-5,5;

ფოსფატური ბუფერი – 0,05 M, pH 6,0-8,0

ტრის- HCl-ბუფერი – 0,05 9,0

ინკუბაცია – 60 წთ; ტემპერატურა – 40^0C;

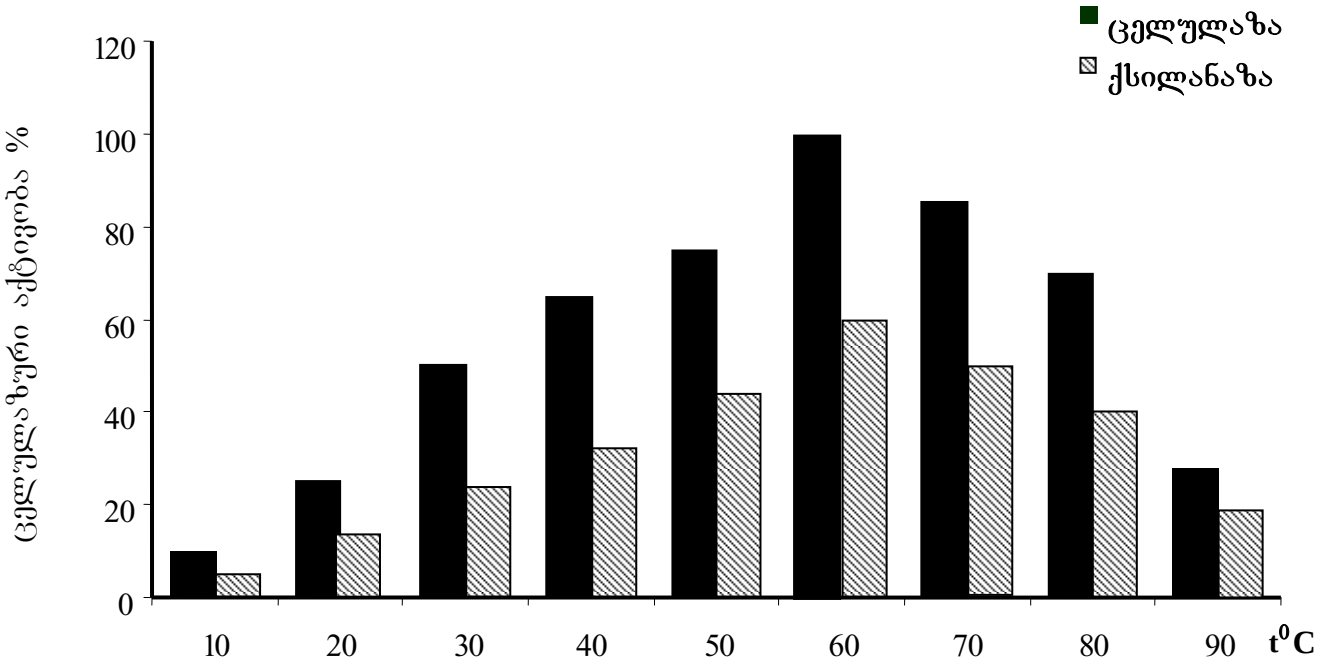
სუბსტრატი – ფილტრის ქაღალდი.

3.3.2 საინკუბაციო არის ტემპერატურის გავლენა *A. versicolor*-M-ის ცელულაზური პრეპარატის აქტივობაზე

A. versicolor M-ის ცელულაზური პრეპარატის ტემპერატურული მოქმედების ოპტიმუმის დასადგენად სუბსტრატად ვიყენებდით ფილტრის ქაღალდს.

სარეაქციო არის ტემპერატურას ვცვლიდით 10^0-დან 90^0C-მდე. ჰიდროლიზს ვატარებდით ოპტიმალურ pH-ზე. ვზომავდით საერთო ცელულაზურ აქტივობას ფილტრის ქაღალდის მიმართ. აქტივობის შედეგებს გამოვხატავდით პროცენტებში მაქსიმალურთან შედარებით. შედეგები ნაჩვენებია მე-3 ნახაზზე.

როგორც ნახაზიდან ჩანს, ცელულაზური პრეპარატი მაქსიმალურ აქტივობას ავლენს 60^0C-ზე. 60^0C-ის ზევით იწყება ცელულაზას სწრაფი დენატურაცია, რაც იწვევს ფერმენტული რეაქციის სწრაფ ვარდნას.



ნახ 8. საინკუბაციო არის ტემპერატურის გავლენა *A. versicolor*-M-*ის* ცელულაზური პრეპარატების აქტივობებზე.

ცდის პირობები: აცეტატური ბუფერი –0,05M, pH 4,6

ინკუბაცია 60 წთ.

სუბსტრატი – ფილტრის ქაღალდი.

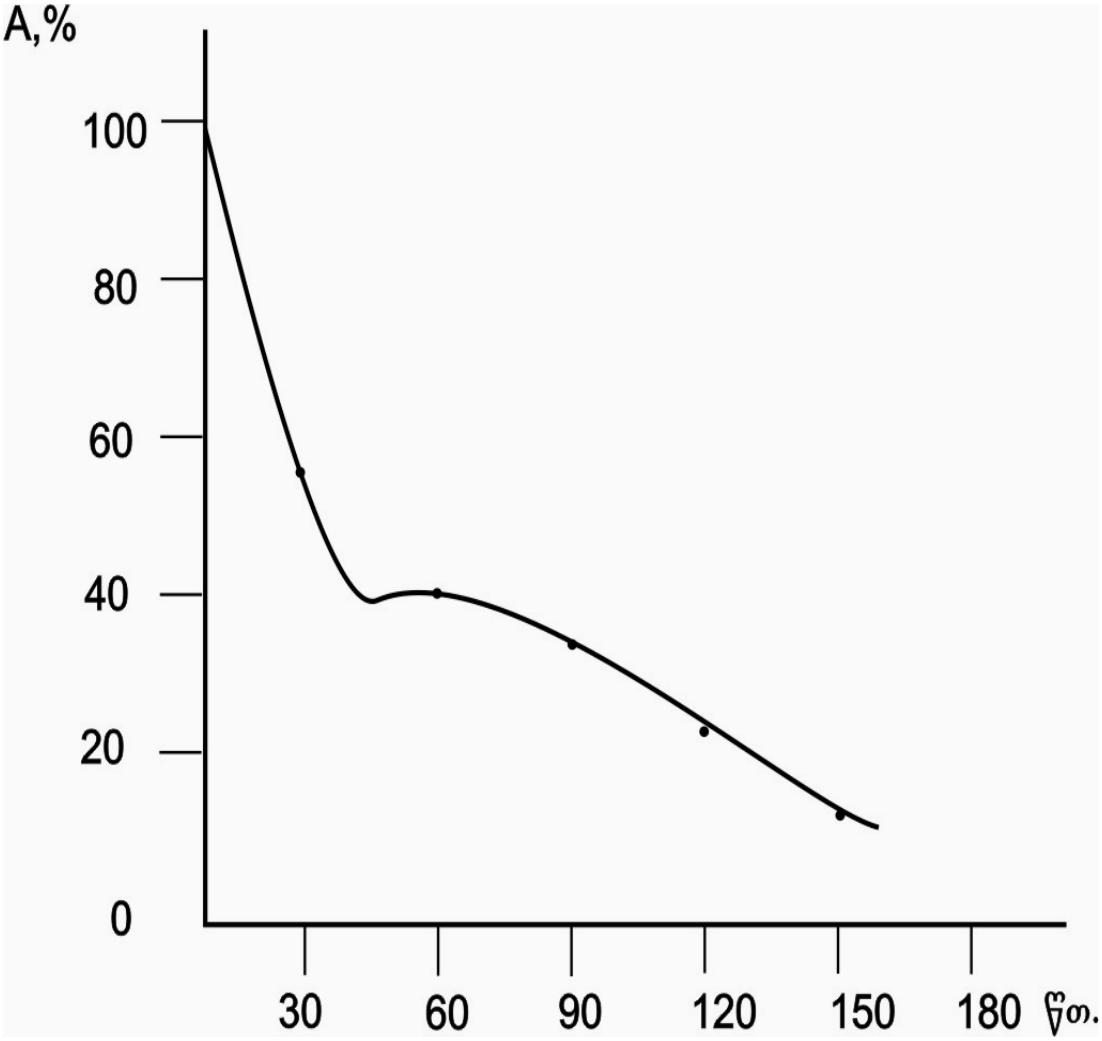
3.5.3 *A. versicolor*-M-ის ცელულაზის თერმომედეგობის შესწავლა

როგორც ცნობილია, პრაქტიკული თვალსაზრისით პრეპარატის მეტად მნიშვნელოვან თვისებას წარმოადგენს მისი თერმომედეგობა.

A. versicolor M-ის ცელულაზის თერმომედეგობის შესწავლის მიზნით ფერმენტული პრეპარატის ხსნარს ვაყოვნებდით 70^{0}C-ზე სუბსტრატის გარეშე. დროის გარკვეული ინტერვალის შემდეგ ვზომავდით ნარჩენ ცელულაზურ აქტივობებს. საწყის აქტივობას ვთვლიდით 100%-ად. ნარჩენ აქტივობას გამოვხატავდით პროცენტებში საწყისი აქტივობიდან (ნახ. 9).

როგორც ნახაზიდან ჩანს, 70^{0}C-ზე (პასტერიზაციის ტემპერატურა) ინკუბაციისას 2 სთ-ის განმავლობაში ნარჩენი ცელულაზური აქტივობა შეადგენს 40%-ს, რაც მიუთითებს წარმოდგენილი ფერმენტული პრეპარატის მაღალ თერმომედეგობაზე.

ამრიგად, ჩატარებული კვლევის შედეგად გამოვლენილია თერმომედეგი ცელულაზური პრეპარატი, რომლის პრაქტიკული გამოყენება გვაძლევს შესაძლებლობას ცელულოზის ჰიდროლიზი წარვმართოთ მაღალ ტემპერატურულ რეჟიმში, რაც მნიშვნელოვნად შეამცირებს ბაქტერიალურ დაბინძურებას და შესაბამისად გაზრდის გლუკოზის გამოსავალს.



ნახ. 9. *A. versicolor* M-ის ცელულაზური პრეპარატის თერმოინაქტივაცია

ცდის პირობები:

კულტივირების ტემპერატურა 40^{0}C სუბსტრატის გარეშე

0,05 M აცეტატური ბუფერი pH 4,5.

თავი IV

დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატების მიღება

4.1 სუბსტრატების დახასიათება

ჩვენი კვლევის ძირითად მიზანს შეადგენდა დაშაქრებული ჰიდროლიზატების მიღება სხვადასხვა ცელულოზაშემცველი მცენარეული ნარჩენებიდან და მათი გამოყენება პურფუნთუშეულის წარმოებაში. ამ მიზნით სუბსტრატებად შევარჩიეთ კვების მრეწველობის ნარჩენები, კერძოდ ვაშლის გამონაწნეხი და მანდარინის ფქვილი. ასევე მოვსინჯეთ სხვადასხვა ჯიშის ხორბლიდან მიღებული არაკონდიცირებულ ფქვილის პირდაპირი გამოყენების შესაძლებლობა მასში შემავალი ქატოს ფერმენტული გადამუშავების ხარჯზე.

პირველ ეტაპზე შევისწავლეთ ძნელადჰიდროლიზებადი მაღალმოლეკულური შაქრების, კერძოდ, ცელულოზისა და ჰემიცელულოზის შემცველობა შერჩეულ სუბსტრატებში. მიღებული მონაცემები მოყვანილია ცხრილში 4.

ცხრილი 4

ცელულოზაშემცველი სუბსტრატების ქიმიური შედგენილობა

(%) მშრალ ნივთიერებაზე გადაანგარიშებით

№	ქიმიური კომპონენტები	ხორბალი ''მცხეთა''	ხორბალი ''უფხო''	ვაშლის გამონაწნეხი	მანდარინის ფქვილი
1	წყალში ხსნადი ნივთიერებანი	70	67	26	20,5
	მათ შორის აღმდ. შაქრები	40	35	4,5	2,3
2	ცელულოზა პენტოზანები	5,21	4,5	15,7	10,0
3	ლიგნინი	4,86	5,30	17,3	4,3
4	ნედლი ცილა	0,66	1,2	13,2	4,6
5		13,90	10,10	5,0	4,0

როგორც ამ ცხრილიდან ჩანს, ვაშლისა და მანდარინის გამონაწნეხები მნიშვნელოვანი რაოდენობით შეიცავენ მაღალმოლეკულურ შაქრებს, რაც საშუალებას იძლევა მათი ჰიდროლიზით ცელულაზური პრეპარატების გამოყენებით, მიღებული

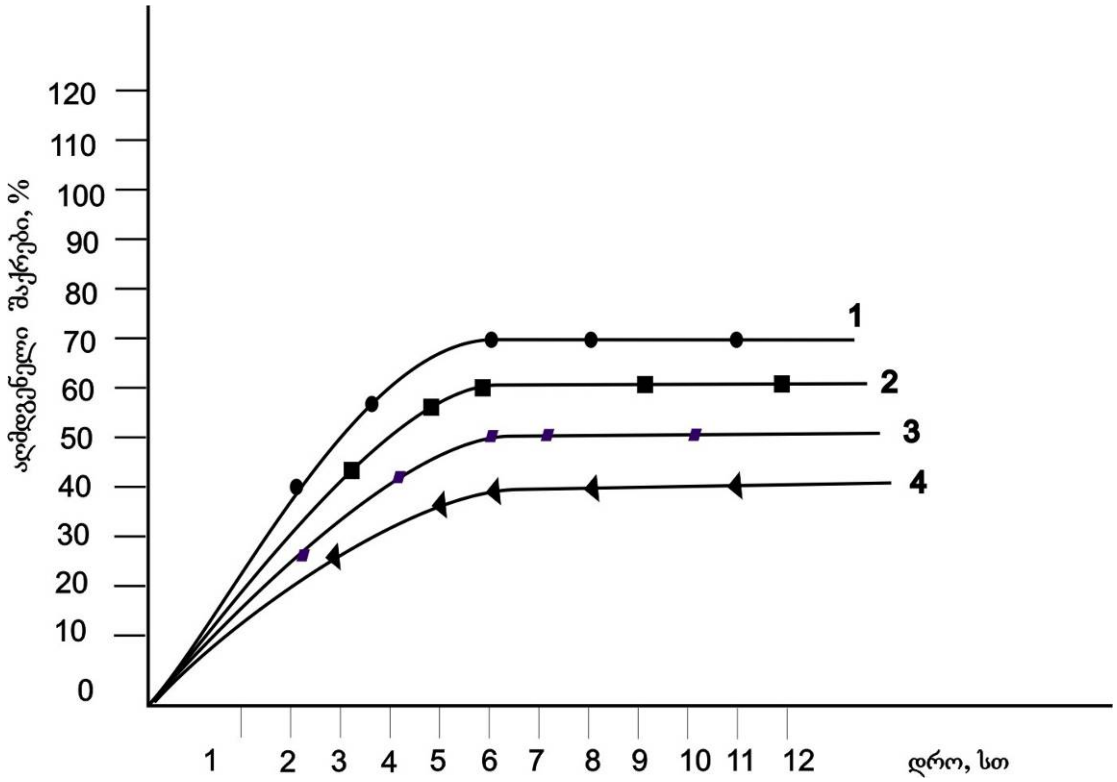
იყოს მაღალი შემცველობის დაშაქრებული სიროფები. რაც შეეხება ხორბალს, მასში ცელულოზისა და ჰემიცელულოზის საერთო რაოდენობა შედარებით მცირეა და საშუალოდ შეადგენს 10%-ს. მაგრამ, თუ გავითვალისწინებთ იმას, რომ ამ კომპონენტების არსებობა ხორბლის ფქვილში მნიშვნელოვნად ამცირებს ფქვილის ხარისხს, მათ მოცილებას კი სჭირდება დამატებითი ტექნოლოგიური ხარჯები, შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ აღნიშნული ბიოპოლიმერების თუნდაც ნაწილობრივი გარდაქმნა ხსნად შაქრებად ერთის მხრივ ხელს შეუწყობდა ფქვილის ხარისხის ამაღლებას, ხოლო მეორეს მხრივ შეამცირებდა შაქრის სამრეწველო დანახარჯებს.

4.2. ცელულოზაშემცველი სუბსტრატების ჰიდროლიზი ცელულაზური პრეპარატის გამოყენებით

შევისწავლეთ აღნიშნული სუბსტრატებიდან დაბალმოლეკულური ხსნადი შაქრების მიღების შესაძლებლობა მათი ფერმენტული დაშლით. ამ მიზნით, შერჩეულ სუბსტრატებს ვხსნიდით აცეტატურ ბუფერში, და ვამატებდით იმავე ბუფერში გახსნილ ფერმენტულ პრეპარატს. სარეაქციო ნარევს ვათავსებდით 55^{0}C – ზე. ჰიდროლიზის ხარისხს ვადგენდით დროის გარკვეული პერიოდის შემდეგ წარმოქმნილი დაბალმოლეკულური შაქრების რაოდენობის მიხედვით. ფერმენტული ჰიდროლიზის მიმდინარეობის დინამიკის შესწავლის მიზნით ჰიდროლიზის პროცესში სარეაქციო არედან ყოველ საათში ვიღებდით საანალიზო ხსნარს, ვადუღებდით 5 წთ ფერმენტის ინაქტივაციის მიზნით და ვსაზღვრავდით მასში აღმდგენელი შაქრებისა და გლუკოზის რაოდენობას. წარმოქმნილი გლუკოზის რაოდენობის მიხედვით ვმსჯელობდით ჰიდროლიზის ხარისხზე. მიღებული შედეგებიდან დავადგინეთ, რომ 6 სთ-იანი ჰიდროლიზის შემდეგ წარმოქმნილი შაქრების რაოდენობა აღარ იმატებს (ნახ. 10).

იმისათვის, რომ დაგვედგინა ჰიდროლიზის შეჩერების მიზეზი, სარეაქციო არეში ჰიდროლიზის დაწყებიდან 6 საათის შემდეგ ჩავამატეთ სუბსტრატის გარკვეული რაოდენობა და გავაგრძელეთ წარმოქმნილი შაქრების რაოდენობის კონტროლი. მიღებულმა შედეგებმა გვიჩვენა, რომ ჰიდროლიზის პროცესი არ გაგრძელებულა. ასეთივე შედეგი მივიღეთ სარეაქციო არეში Fფერმენტის ახალი ულუფის ჩამატების შედეგადაც. მიღებული მონაცემების საფუძველზე დავადგინეთ, რომ დაუჰიდროლიზებულია ცელულოზის მხოლოდ კრისტალური უბნები. ეს

შედეგები მიუთითებდა, რომ ჰიდროლიზის პროცესი ამომწურავია; ე.ი. ჰიდროლიზის ოპტიმალური ხანგრძლივობა შეადგენს 6 საათს.



ნახ. 10. ცელულოზაშემცველი სუბსტრატების ფერმენტული ჰიდროლიზის მიმდინარეობის დინამიკა

ცდის პირობები:

ჰიდროლიზის ტემპერატურა - 55^{0}C

0,05 M აცეტატური ბუფერი pH 4,5.

ცელულოზაშემცველი სუბსტრატები :

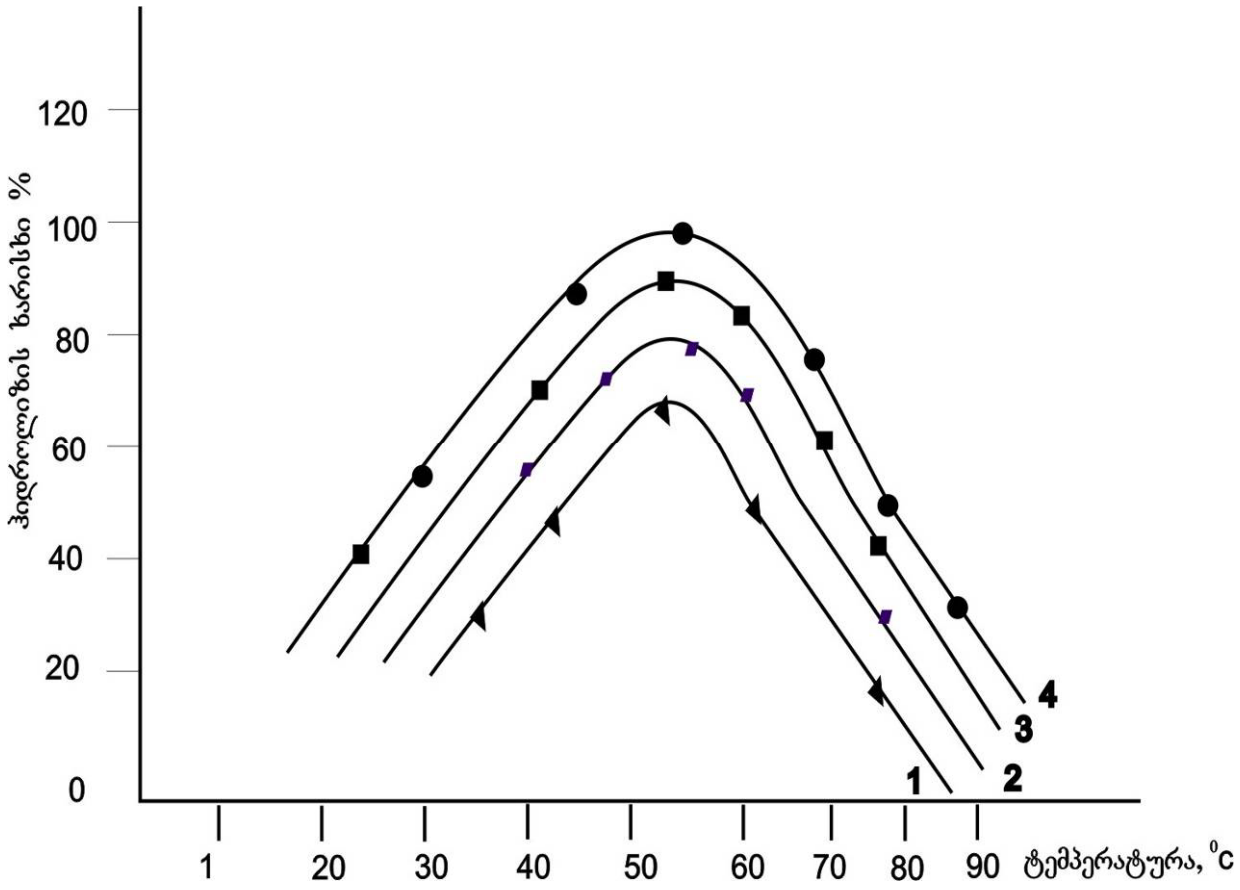
1 – ვაშლის გამონაწნეხი; 2 – მანდარინის ფქვილი;

3 – ფქვილი ხორბლიდან “მცხეთა”;

4 – ფქვილი ხორბლიდან “უფხო

ჰიდროლიზის პროცესის სამრეწველო მიზნებისათვის გამოყენების მიზნით შევისწავლეთ ცელულოზაშემცველი სუბსტრატების ფერმენტული ჰიდროლიზის მიმდინარეობის ოპტიმალური ტემპერატურა, სუბსტრატის კონცენტრაცია სარეაქციო არეში; სუბსტრატ-ფერმენტის თანაფარდობა.

ოპტიმალური ტემპერატურის დადგენის მიზნით მცენარეული სუბსტრატების ჰიდროლიზს ვატარებდით სხვადასხვა ტემპერატურაზე 20-60^{0}C ინტერვალში. ჰიდროლიზის ხარისხს ვაფასებდით წარმოქმნილი შაქრების რაოდენობის მიხედვით. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია ნახაზზე (ნახ. 11).



ნახ. 11. სხვადასვა ტემპერატურული რეჟიმების გავლენა ცელულოზის ჰიდროლიზზე

ცდის პირობები:

აცეტატური ბუფერი –0,05M, pH 4,6

ინკუბაციის დრო – 6 სთ

სუბსტრატები:

1 –ვაშლის გამონაწნეხი;

2- მანდარინის ფქვილი;

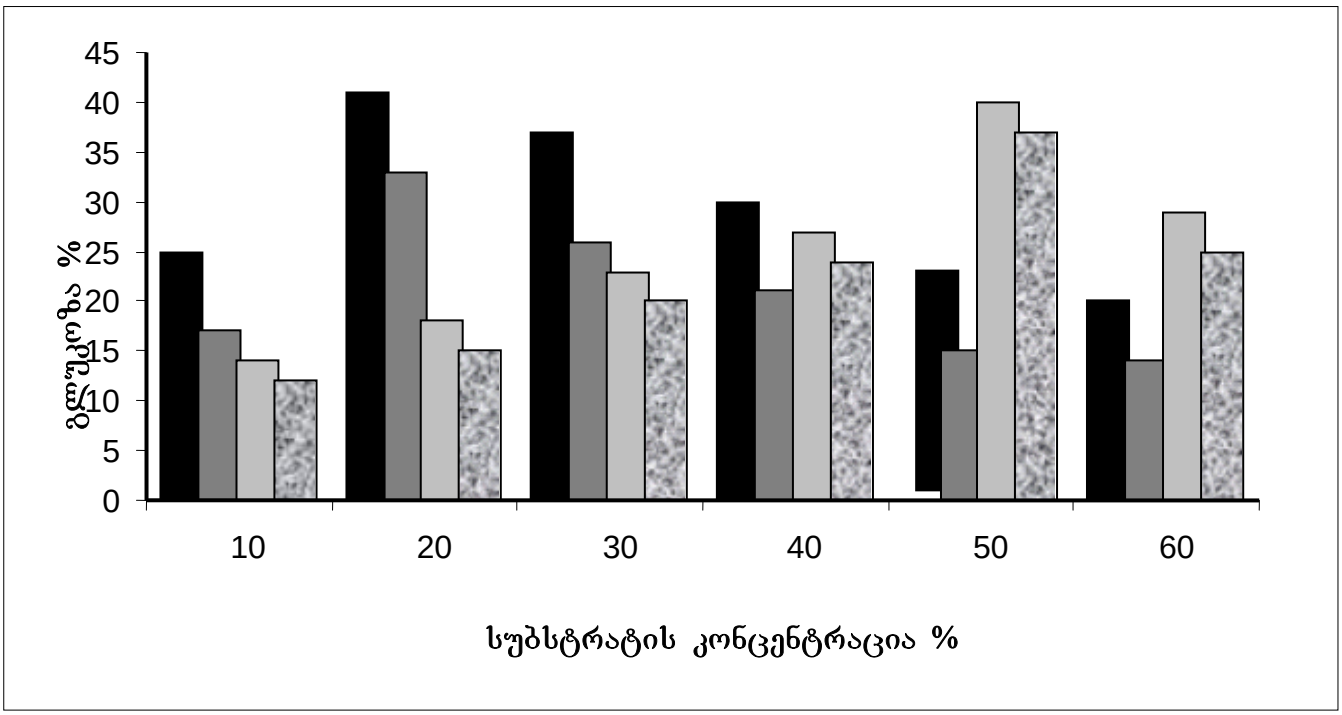
3 –ფქვილი ხორბლიდან “მცხეთა”;

4 -ფქვილი ხორბლიდან “უფხო”

მიღებული შედეგების საფუძველზე დავადგინეთ, რომ ჰიდროლიზის ოპტიმალური ტემპერატურა შეადგენს 55^{0}C.

შემდეგ ეტაპზე დავადგინეთ სუბსტრატის ის ოპტიმალური კონცენტრაცია, რომლის დროსაც მიიღება ჰიდროლიზის მაქსიმალური გამოსავალი. სარეაქციო არეში შეგვქონდა სუბსტრატის სხვადასხვა კონცენტრაციები 5მგ/მლ – 80მგ/მლ. მიღებული შედეგები მოცემულია მე-7 ნახაზზე. როგორც ამ ნახაზიდან ჩანს, სუბსტრატის ოპტიმალური კონცენტრაცია კვების მრეწველობის ნარჩენების გამოყენების შემთხვევაში შეადგენს 50მგ/მლ-ს, ხოლო ხორბლის ფქვილების შემთხვევაში – 20მგ/მლ-ს.

დავადგინეთ ასევე ფერმენტ სუბსტრატის კონცენტრაციების ოპტიმალური თანაფარდობა. ამ მიზნით, სარეაქციო არეში შეგვქონდა როგორც სუბსტრატის, ასევე ფერმენტის სხვადასხვა კონცენტრაციები. მიღებულმა შედეგებმა გვიჩვენა, რომ ფერმენტისა და სუბსტრატის ოპტიმალური თანაფარდობა შეადგენს 1:50.



ნახ. 12. ფერმენტული რეაქციის შედეგად წარმოქმნილი გლუკოზის რაოდენობის დამოკიდებულება სუბსტრატის კონცენტრაციაზე

ფერმენტული პრეპარატი *A.versicolor* M-ის ცელულაზა;

- ვაშლის გამონაწნეხი: -ფქვილი უფხო
- მანდარინის ფქვილ; -ფქვილი მცხეთა

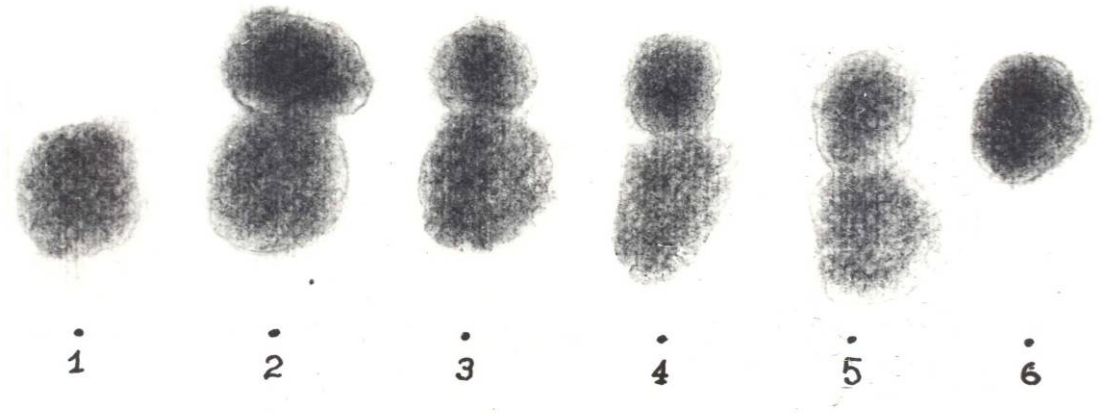
ცდის პირობები :

ჰიდროლიზის ტემპერატურა 55^0 C.

აცეტატური ბუფერი –0,05M, pH 4,6 მან

ინკუბაციის დრო – 6 სთ

ჩავატარეთ სუბსტრატების ჰიდროლიზი დადგენილ ოპტიმალურ პირობებში. 6 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ სარეაქციო არეში განვსაზღვრეთ როგორც გლუკოზის, ასევე აღმდგენელი შაქრების რაოდენობა. ჰიდროლიზის ხარისხმა შეადგინა – 55-60%. ქაღალდის ქრომატოგრაფიის გამოყენებით შევისწავლეთ ჰიდროლიზატში დაბალმოლეკულური შაქრების შემცველობა. როგორც მოსალოდნელი იყო ჰიდროლიზატი შეიცავდა ძირითადად გლუკოზას და მცირე რაოდენობით ქსილოზას (ნახ.13).



ნახ.13. ცელულოზაშემცველი სუბსტრატების ჰიდროლიზატების თვისებითი ანალიზი ქაღალდის ქრომატოგრაფიის გამოყენებით.

ფერმენტული პრეპარატი *A versicolor* M

1- გლუკოზა (კონტროლი)

2- ვაშლისა გამონაწნეხი;

3-მანდარინის ფქვილი;

4-ფქვილი მცხეთა;

5-ფქვილი უფხო;

6- ქსილოზა (კონტროლი)

თავი V.დაშაქრებული ჰიდროლიზატების გამოყენება პურ-ფუნთუ-შეულის ნაწარმის მომზადებისას

კვლევის შემდეგ ეტაპზე მოვსინჯეთ დაშაქრებული ჰიდროლიზატების გამოყენება შაქრის შემცვლელად პურის ცხობის პროცესში და შევისწავლეთ მისი გავლენა ცომის თვისებებსა და მზა ნაწარმის ხარისხზე ხორბლის პურისა და შემკოჭავი ნამცხვრის მომზადების პროცესში (ცხრილი 5).

ცხრილი 5

დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატის გავლენა შემკოჭავი ცომის თვისებებსა და მზა ნაწარმის ხარისხზე

(ჰიდროლიზატის კონცენტრაცია 10% ფქვილის მასასთან შედარებით)

მაჩვენებლები	კონტროლი	ჰიდროლიზატის დამატებით
ცომი		
ტენიანობა %	25,6	25,8
ტემპერატურა	34-40	38-40
მოზელის ხანგრძლივობა	46	34
ძვრის ზღვრული დაძაბულობა (კილოპასკალი) КПА	87	68
მმზა ნაწარმი		
ტენიანობა %	6,7	6,5
გამოცხობის ხანგრძლივობა წმ	240	210
გაჯირჯვება %	129	152
ტუტიანობა გრად.	0,55	0,47
ზედაპირი	გლუვი, ღია ყავისფერი	Рპრიალა,ყავისფერი,სწორი
ფორმა	სწორი	სწორი
საერთო შაქრების შემცველობა საქაროზაზე გადაანგარიშებით	18,9	20,16
აღმდგენელი ნივთიერებების		

შემცველობა ინვერტულშაქარზე გადაანგარ. % (მშრალ ნივთ.)	1,64	5,80

პროცესის ოპტიმიზაციის მიზნით შევისწავლეთ ჰიდროლიზატის რაოდენობის გავლენა ცომისა და მზა ნაწარმის ხარისხზე. დაშაქრებული ჰიდროლიზატები შეგვქონდა ცომის მომზადების პროცესში 1-დან 15%-მდე ფქვილის მასასთან შედარებით. კონტროლად აღებული გვქონდა ცომი დანამატის გარეშე. ჩატარებული კვლევის შედეგები წარმოდგენილია ცხრილებში (ცხრილი 6).

როგორც მიღებული შედეგებიდან ჩანს, ჰიდროლიზატის დამატება მნიშვნელოვნად აუმჯობესებს როგორც პურის, ასევე ნამცხვრის ხარისხი თითქმის ყველა მაჩვენებელს. ამასთან საუკეთესო შედეგი მიიღება 12% (ფქვილის მასის მიმართ) ჰიდროლიზატის დამატებით.

ცხრილი 6

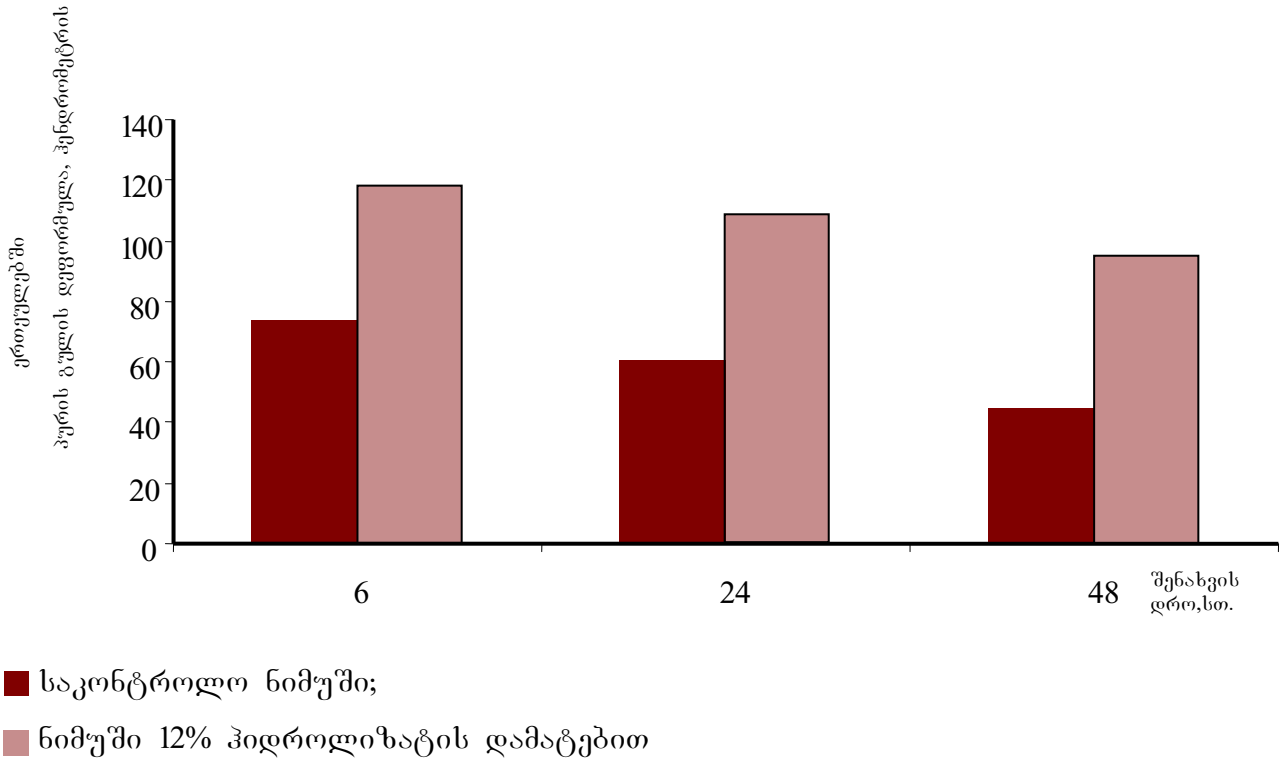
დაშაქრებული ჰიდროლიზატის კონცენტრაციის გავლენა ცომის თვისებებისა და პურის ხარისხზე

მაჩვენებლების დასახელება	კონტროლი, პური დანამატების გარეშე	ცომის თვისებებისა და პურის ხარისხის მაჩვენებლები ჰიდროლიზატის დამატების შემდეგ					
		ჰიდროლიზატის რაოდენობა, %					
		1	2	6	9	12	15
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
ცომი							
ტენიანობა %	43.5	43.5	43.8	44.6	44.8	45.2	45,0
მჟავიანობა %	2.6	2.6	2.6	2.8	3.4	3.6	3,4
ამწევი ძალა წთ.	17	16	13	9	11	15	12
სიმკვრივე გ/სმ	0.600	0.596	0.582	0.554	0.576	0.620	0,60
გაფუების ხანგრძლივობა, წთ	180	180	120	90	90	90	90
პური							
ტენიანობა %	42.2	42.2	43.0	43.8	440	44.2	44,2
ფორიანობა %	76	78	84	86	76	69	68

1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**
მჟავიანობა %	2.0	2.0	2.2	2.4	3.0	3.4	3,5
აქროლადი მჟავები% (საერთო მჟავიანობასთან)	15.8	19.2	28.5	34.0	39.4	54.2	54,5
აღმდგენელი შაქრები,% (მშრალ ნივთ)	0.68	1.19	2.67	3.48	3.80	4.02	4,0

ბისულფიტშეკავში-რებ-ული ნივთიერებების შემცველობა, მლ 0,1 N12							
პურის გულში	8.2	9.0	10.5	12.8	14.0	14.2	14,0
პურის ქერქში	30.5	32.8	36.4	38	40.8	41.9	41,0
პურის გულის მდგომარეობა	ნორმალური			მაღალი ხარისხის ელასტიური		ელასტიური	

როგორც მიღებული შედეგებიდან ჩანს. 12% ჰიდროლიზატის დამატებით მიღებული პური გამოირჩეოდა საუკეთესო სასაქონლო იერით, მუქი ქერქით, ელასტიური გულითა და ხანგრძლივი დროით სიახლის შენარჩუნების უნარით. იმისათვის რომ დავრწმუნებულიყავით ჩვენს მიერ მიღებული შედეგების უპირატესობაში, შევისწავლეთ დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატის გავლენა პურის გულის ფიზიკური თვისებების ცვლილებაზე შენახვის პროცესში (ნახ. 14).



ნახ. 14. დაშაქრებული ფერმენტული ჰიდროლიზატის გავლენა პურის გულის ფიზიკური თვისებების ცვლილებაზე შენახვის პროცესში

ცნობილია, რომ ცხობის პროცესში აქროლად კარბონილურ ნაერთთა რაოდენობის ზრდა მნიშვნელოვნად აუმჯობესებს პურის გემოსა და არომატს. განვსაზღვრეთ აქროლადი კარბონილური ნაერთების შემცველობა მზა ნაწარმში. აღმოჩნდა, რომ ჰიდროლიზატის შეტანა იწვევს აქროლად კარბონილურ ნაერთთა რაოდენობის ზრდას (ცხრილი 7).

ცხრილი 7

აქროლადი კარბონალური ნაერთების შემცველობა ჰიდროლიზატის დამატების შემდეგ

კომპონენტები მგ % (მშრალ მასაზე)	ჰიდროლიზატის გარეშე		12% ჰიდროლიზატის დამატებით	
	გულში	ქერქში	გულში	ქერქში
ფურფურული	5,02	18,02	6,60	31,26
ფორმალდეჰიდი	2,28	4,97	2,54	6,08
დიაცეტილი	0,20	3,80	0,24	5,10
აცეტალდეჰიდი	3,08	8,12	4,92	13,200
პროპიონის ალდეჰიდი	0,49	1,90	0,64	4,00
იზოერბომჟავა ალდეჰიდი	----	1,98	კვალი	3,14
იზოვალერიანის ალდეჰიდი	----	1,7	კვალი	2,95

განსაზღვრული იქნა აგრეთვე პურის ცომიდან გამორეცხილი ნედლი წებოგვარას თვისებები. მიღებული შედეგები მოცემულია ცხრილში. (ცხრილი 8).

ცხრილი 8

ნედლი წებოგვარას თვისებები

№	წებოგვარას ნიმუში	წებოგვარას თვისებების მაჩვენებელი			
		Nნედლი წებოგვარას შემც. % ფქვილის მასასთან შედარ.	დრეკადობა ხელსაწყოს ერთეულებში	წებოგვარას ბურთლას განთხევადება, მმ.	ჰიდრატული უნარი
1	Kკონტროლი (ცომიდან ჰიდროლიზატის გარეშე)	33,5	70,2	5,0	200
2	Fფერმენტული ჰიდროლიზატი (ფჰ) 3% ოდენობით	32,9	68,8	5,2	194
3	Fფერმენტული ჰიდროლიზატი (ფჰ) 6% ოდენობით	32,2	65,2	4,9	189
4	Fფერმენტული ჰიდროლიზატი (ფჰ) 12%	31,1	62,4	6,8	164

	ოდენობით				

ამრიგად, დადგენილია, რომ პურ-ფუნთუშეულის წარმოების პროცესში შაქრის შეცვლა დაშაქრებული ჰიდროლიზატებით ერთის მხრივ მნიშვნელოვნად აუმჯობესებს მზა ნაწარმის ხარისხს, ხოლო მეორეს მხრივ იძლევა შაქრის ხარჯვის შემცირებისა და ფქვილის უდანაკარგოდ გამოყენების შესაძლებლობას.

დასკვნები

1. სელექციის შედეგად შერჩეულია ცელულაზას აქტიური პროდუცენტი არატოქსიური და არაპათოგენური შტამი *Aspergillus versicolor*-M.

2. შერჩეულია *Aspergillus versicolor* M-*ის* აქტიური ცელულაზას ბიოსინთეზისათვის სიღრმული კულტივირების ოპტიმალური პირობები. დადგენილია საკვები არეების ოპტიმალური შემადგენლობა (გ/ლ): მიკროკრისტალური ცელულოზა -1,0; სიმინდის ექსტრაქტი-1,5; $(NH_4)_2SO_4$ -0,3; K_2HPO_4 -0,2; $MgSO_4$.$7H_2O$-0,05; KCl- 0,05; $FeSO_4$. H_2O-0,02 შესწავლილია კულტივირების ოპტიმალური პირობები: *Aspergillus versicolor* M-ის ბიოსინთეზისათვის ოპტიმალური ტემპერატურა შეადგენს 40^0C, საკვები არის საწყისი pH - 4,5. ეფექტურია 10-დღიანი ჩასათესი მასალა. ცელულაზის მაქსიმალური დაგროვება თხიერ საკვებ არეში აღინიშნება 96 სთ-იანი კულტივირების პირობებში. საკვები არეების ოპტიმიზაციით შტამის *Aspergillus versicolor* M-*ის* ცელულაზური აქტივობა გაზრდილია 25%-ით.

3. მიღებულია ცელულაზის ტექნიკური პრეპარატი. შესწავლილია ფერმენტული პრეპარატის ფიზიკო-ქიმიური მახასიათებლები. დადგენილია, რომ ფერმენტული პრეპარატის ტემპერატურული ოპტიმუმი შეადგენს 70^0C, pH ოპტიმუმი - 4,5-5,0.

4. შერჩეულია სხვადასხვა ცელულოზას შემცველი მცენარეული სუბსტრატები – ვაშლის გამონაწნეხი ; მანდარინის ფქვილი; სხვადასხვა ჯიშის არაკონდიცირებული ხორბლის ფქვილი. შესწავლილია აღნიშნულ სუბსტრატებში ჯამური ნახშირწყლების შემცველობა.

5. ოპტიმალური პარამეტრების შერჩევის შედეგად მიღებულია ჰიდროლიზატები გლუკოზის 55-65%-ის შემცველობით. დადგენილია გლუკოზის მაღალი შემცველობის სიროფის პურ-ფუნთუშეულის წარმოებაში გამოყენების შესაძლებლობა.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. გ. კვესიტაძე, ე. კვესიტაძე. ბიოტექნოლოგია. თბილისი. შ.პ.ს. "ეტრატი". 1999წ. - გვ
2. Агавекян Э.Л. Горкина Н.В. Фихте В.А. Эвлияние дисперсности соломи на целлюлолическую активность гриба *Aspergillus terreus* 17 «Приклад. биохим. и микробиол. 1981,17,№6,ст. 859-863.
3. Алексидзе Т.И. Мутантный штамм *Aspergillus terreus* АТ-490 продуцент целлюлолитических ферментов. Автореф. канд. диссер. Тбилиси, 1984,С.-24.
4. Азрилувич М. Р. Заменители сахара \\ Пищевые игредиенти 2001. №2. С42-45.
5. Арасимович В.В. Методы биохимических исследования растений. Ленинград. издательство Колос. 1972. С-20-29.
6. Алиханян С.И. Селекция промышленных микроорганизмов М. Наука.-1968ю 319с.
7. Апрасюхина Н.И., Тавобилов И.М., Родионова Н.А., Безбородов А.М. – Изучение содержания внеклеточных гемицеллюлаз у некоторых мицелиальных грибов. – Приклад. биохим. и микробиол., 1985, 21, вып. 6, с. 736-740.
8. Билай В.П. Плидопличк И.М. Аспергиллотоксилозы (Aspergillotoxic) В кню Токсикообразующие микроскопические гривы. Киев. Наукова Думка.-1970. С.-104-129.
9. Безородов А.М. биохимические основы микробного синтеза. –Ь. Легкая и пищевая промишленность.-1984-304.
10. Безородов А.М. Биосинтез биологически активных вешеств микроорганизмами.-М. Медицина.-1969.-235с.
11. Беккер З.З. Физиология грибов и их практическое исползование.- М. Изд. МГУ. -1963-269с.
12. Блиева Р. К. Изучение биосинтеза ферментов при глуьинном култировании плесневых грибов из рода ***Aspergillus/*** Rfyl/ Lbcc/ Fkvf-Fnf-1967/

13. Билай В.И. Виологтчески активные вещества микроскопических грибов и их применение. Киев, «Наукова думка»б 1965,с.265.
14. Билай В.И. Шематюк Целлюлозосадержащие микромицеты некоторых тиров почв УССР. Микробиол.ж. 1974,с.300-303.
15. Билай В.И., Стрижевская А. Я., Колеснева Г.В., Лизак Ю.В., Сравнительная целлюлазная и гемицеллюлазная активность почвенных микромицетов, В кн. Эксперименталная микология. Киев, «Наукова думка», 1968, ст. 56-64.
16. Билай Т. И., Термофильные грибы и их ферментативные своиства. Киев, «Наукова думка», 1985, ст.172.
17. Белецкая О.П., Стайкова Д., Панин А.А., Иванова Г.С., Кулаев Н.С. Влияние структуры индуктора на биосинтез и секрецию целлюлолитических ферментов гриба *Aspergillus terreus*. приклад. биохим. и микробиол. 1986, 22, № 6б с. 776-771.
18. Гавристов А.В., Жицкая Е.А., Чуракова Б. О., О режимах совместного культивирования продуцентов гидролитических ферментов «Микробиол.», 1986, 55, ст.407-412.
19. Гогуадзе В. Д., Микробиологическая характеристика красноземныхпочв Грузии. В. сб. « Микрофлора почв южной части СССР», М., «Наука» 1966,ст.246.
20. Грачева И.Ш., Ваганова М.С., Саловарова В.П., Образование целлюлаз почвенными дрожами рода *Trchosporon* и микроскопическими грибами. Микробиол., 1978, т.2, №2, 226-229.
21. Грачева И.Ш., Саловарова В.П., Герент М. В., Кузина В.М., Влияние посевного материала на биосинтез целлюлолитических ферментов. «Фермент. и спирт. пром-сть», 1982, №8, 31-33.
22. Головина И.Т., Изучение целлюлолитических ферментов термотолерантного штамма *Actinomyces distaticus*. – «Прикклад. Биохим. и Микробиол.», 1972, т8, №5, ст.31-33.
23. Грачева И. М., Колцова Э.В., Зотова Н.Б. Характеристика ферментативного комплекса, образуемого дрожжами End. Species// Микроб. Промишл. - 1975. -№1.-с.19-21.
24. Грачева И. М., Тухнология ферментных препаратов. –М. Пищевая пром-сть, 1975.С - 392.

25. Грачева И. М., Кривова А.Ю. Тухналогия ферментных препаратов 3-е изд., прераб. И доп. М. Изд-во «Элевар» 2000. С-512.
26. Глюк Н. Г., Губин М.Г., Жушман А.И. идр. Уровень производсва и промышленности в СССР и за рубеж 1986, вып 9,С.1-48.
27. Дреймане М.Л., ЗелтынЬ Р.П., Тараканова В.С. Вкн. «Микробиол. синтез ферментов и получение их препаративных форм», Рига, 1983,27-30.
28. Дубинин Н. П. Шербаков В.К. Сурков В.В. Антимутагенный и мутагенный эффект аминокислот, обладающих противолучевым действием .. ДАН СССР-1964. Т.159,№4.- С.913-914.
29. Дерканосова Н. М., Шеламова С.А., Абрамова И.Н. Диабетическое сахарное печенье и переработка сельхозсырья. 1999. № 9. с. 63-64.
30. Жехова А. Новые источники \ Сахарная свекла. 2000. № 7. с. 23. и.
31. Егова Т.А., Клунова С.М., Живухина Е.А. – Основы биотехнологии, Москва, 2003.
32. Захаров И.А., Квитко К.В. Генетика микроорганизмов.-Л.,1967.-С92-96.
33. Замотайлова А.П., Сафронова Л.Л. Использование отходов микробиологической промышленности для замены сельскохозяйственного сырья при производстве ферментов. В. сб. Тезис. докл. конф. молодых ученых «Микроорганизмы - продуценты биологически активных веществ»,Рига,1984, ст.145.
34. Зелтынь Р.П., Влияние питательной среды на биосинтез целлюлолитических ферментов термотолерантного гриба *Aspergullys terreus,* «Микробиол.», 1970, 39, №3, 574-582.
35. Иванова Н.П., Ерохина Л.И., Морозова Е.С., Сравнительное изучение способности различных бактериальных культур синтезировать целлюлолитические ферменты. «приклад. биохим. и микробиол.» 1977, Т.13, №4, ст.552-558.
36. Иваноав И.И., Гужова Э.П., Бурденко Л.Т., Влияние посевного материала на биосинтез целлюлолитических ферментов *Aspergullys terreus* 17р. «приклад. биохим. и микробиол.» 1980,16,ст. 60-63.
37. Имшенецкий А.А. Образование расс у дрожжей под влиянием собственных продуктов жизнедеятельности .. Микробиология -1935.-Т,I, Y №3.-С.350-363.
38. Калунянц К.А., Ваганова М.С., Шусь Г.В. и др. Оптимизация состава питательной среды для биосинтеза целлюлазы грибом *T.viride*. «приклад. биохим. и микробиол.»1976, т. 12, №2, 269-272.

39. Кастельянос С.А. Автореф. канд. диссер., Пущино,1986,ст.24.
40. Каткевич Р.Г., Каткевич Ю.Ю., Лиепиня Д.Э. – Ферментативный гидролиз полисахаридов древесины и соломы. 5. Сравнение Ферментативной гидролизу емости соломы, предварительно обработанной водяным паром и растворами щелочей. – Химия древесины, 1980, 4, с. 47-56.
41. Карнаушенко Л. И., Гордиенко Л.А., Корчак А.В. Влияние глюкозного сиропа на реологические свойства помадных конфет. Хранение и переработка сельхозсырья. 2000. № 5. с. 35-37.
42. Квачадзе Л.Л., Чхартишвили Д.А., Михлин Э.Д., Квеситадзе Г.И.,Влияние состава питательной среды на синтез внеклеточных целлюлаз *Sporotrichum pulverulentum.* «приклад. биохим. и микробиол.»1985, №5, 624-629.
43. Квачадзе Л.Л Экстремофильные микроскопические грибы: селекция продуцентов, выделение и характеристика амилаз, целлюлаз и протеазы. Автореферат докторской дисертации.Тбилиси, 1992.
44. Квеситадзе Г.И. Грибные и бактериальные амилазы. Тбилиси. Мецниереба. 1984.
45. Квеситадзе Г.И., Квачадзе Л.Л., Алексидзе Т.И., Логинова Л.Г., Иванова И.И., Гужова Э.П., Штамм *Aspergullys terreus* АТ-490 продуцента целлюлаз.Авт. св. 1252336 СССР, 1986, БИ №31.
46. Квеситадзе Г.И., Квачадзе Л.Л., Сихарулидзе Н.Ш., Нуцубидзе Н.Н., Микроорганизмы продуценты целлюлаз. Итоги науки и техники. Биотехнология. Т.II М. 1988, ст.150-223.
47. Квеситадзе Г.И Селекция продуцентов и характеристика амилолитических ферментов грибов рода *Aspergillu.* //Докт. диссер.,М.-1981.
48. Кудряшова Т.И., Фениксова Р.В., Тиунова Н.А., Биосинтез целлюлазы *Geotrichum candidum*, «приклад. биохим. и микробиол.» 1976, 7, №3 339-344.
49. Кобосяси С. Кайнума К. Крахмальный сахар. \\ Низон дзедо кекой дзасси. Nippon jorkyokai rasshi \\ Brew-Sos Gapan-1982. - 77. № 9. 9. p. 578-584.
50. Кожемякина В.Г. Автореф. канд. диссер. М., 1976, ст.34.
51. Конарева В.Г. Методы белкогово и аминокислотного анализа растений. Методические указания. –Ленинград. 1973.-С-30.
52. Кузнецова Я.К. В.сб. Тезиси докл. ШН Всес. конф. «Управляемое культивирование микроорганизмов».21-23 октября, Пущино ст.15.

53. Комплексная малоотходная технология биоконверсии целлюлозосодержащих материалов лесоперерабатывающих и сельскохозяйственных предприятий- Патент 2228954, Россия, МПК7 С12 N 9/00, 9/96 от 04.08.2003,

54. Коновалов С.А. Биосинтез ферментов микроорганизмами М. Пищевая промышленность.-1972.-С-270.

55. Кузминский Р.В., Поландова Р.Д., Димидов А.С.А. с.776857 СССР, МКИ А21 Д2/08.Спосов приготавления Ферментативного гидролиза муки – Опубл. 28.10.77.

56. Куянова И.В. Использование высоко фруктозных кукурузных сиропов в хлебопечении \\ Пищевая пром-сть. Сер.14. Научно-технический реф. сборник.- М. ЦНИИТЭ и пищепром.-1982. вып. 8 с. 16-17.

57. Левкина Л.М., Пилипович И.Н. Целлюлазная активность видов рода Cladosporium ik. ex. fr. Тр. Всес. РИИ защиты растений, 1971,29,140-148.

58. Лизак Ю.В. Вивечения целлюлаз у Cladosporium spp.i. Styzanus spp.,Микробиол.ж., 1968, 30, №2,224-227.

59. Лобанок А.Г., Шкляр Б.Х., Целлюлотическая активность грибов выделенных из торфа. «Вестник АНБССР»,Сер. «Биял навук»,1968,3,ст.108.

60. Лобанок А.Г., Романов С.А., Павловская Ж.И., и др. Характеристика свойств целлюлазных комплексов, продуцируемых грибом *Trichoderma lignorum* ∂ 534 на средах с целлюлозой и лактозой. «приклад. биохим. и микробиол.» 1976,12, №2, 227-232.

61. Лобанок А.Г. Биосинтез экзоферментов у микроскопических грибов Автореф. докт.диссер. Минск,1977,ст.48.

62. Логинова Л.Г., Борисова Л.Г., Зелтынь Р.П., Штамм гриба Aspergullys terreus 17р - продуцент целлюлотических ферментов. Авт.св.СССР №255890,1969,БИ №34.

63. Логинова Л.Г., Белякова Л.А., Гужова Э.П., Юсупова И.Х., Бурденко Л.А., Серегина Л.М., Термофильный *Myceliopora thermophila* разлагающий целлюлозу. «Микробиол»., 1983,52,№4,605-608.

64. Лосякова Л.С., В сб. Тезисы докладов II Всесоюзного сов. по ферментам микроорганизмов. ч. II, Минск,1978,23.

65. Мосиашвили Р.И. О непреривной селекции микроорганизмов из производства. Микробиология, 1949. 15,5.

66. Мусаева Т.И. // В кн. Биология ифизиология микроорганизмов. Ташкент. Пар.-1967. С.-15.

67. Наплекова Н.Н., Целлюлотическая активность микроорганизмов при пазных значениях р – В.кн. Аеробное разложение целлюлозы микроорганизмами в почвах западной Сибири. Новосибирск, Наука, Сиб. отд-ние,1974,ст.155-160.

68. Нюкша Ю.П., Коссиар Л.А., Активность целлюлазы у грибов в зависимости от р среды. Микол. и фитопатол., 1976, т.10.№3,477-484.

69. Оболенская А.В., Щеголев В.П., Аким Г. Л., Аким Э.Л., Емельянова И.З. Практические работы по химии древесины и целлюлозы. – М., Леснаяяя промышленность, 1965, 157, с. 58-59.

70. Окунев О.Н., Свистова И.Д., Жеребцов Н.А., Головлев Е.Л., Регуляция биосинтеза ендо-1,4- в- глюканазы, екзо-1,4-глюкозидазы и целлобиазы у *Aspergullys terreus*. Микробиол.,1983,62,№1,ст.39-45.

71. Острикова Н.А., Коновалов С.А., Особености мутантного штамма *Trichoderma viride* 44- продуцента целлблазы. «приклад. биохим. и микробиол.» 1980, 16, №1,56-64.

72. Такаити. Нокои Нобумаса, сакаи Тасихитэ. Использование различных ферментов для полученения сахаров из крахмала \\ Ню Фудо индасутори, New Food Ind – 1984. № 8. р. 16-21.

73. Полякова В.М. Автореф.канд.дисс. М., 1983, ст.24.

74. Примаков Ф.С., Царенко И.М., Антоненко Л.П.,О переработке щелков после варки древесины с водно-спиртовыми раствора ми. «Химия древесины» 1982,№4,23-25.

75. Панасенко В.Т. Экология плесневих грибов // Микробиология. 1944.-Т.13, №4.-С.158-170.

76. Патент 2007960 Великобритания МКИ А 23 1 /172. А23 1/12. Способ производства продукта гидролиза из цельного зерна //Lyskebi Ytarkelse Foradling заявлено 18.10.77. Опубл. 22.08.78.75.

77. Патент 0162582 ГДР МКИ 6131\08. Способ производства продуктов гидролиза кукурузного крахмала с помащью ферментов A. Horst, L. Detlev, B. Gisela. Академия наук ГДР. Заявлено 13. 12. 78. Опубл. 02. 12. 81.

78. Патент 4356266 США МКС 12р 7\14, с12 р19\14. процесс гидролиза крахмала и сбраживаемый гидролизат, полученный этим методом \\ Цуктук Сю

Мгддук б вщииы Аукккню National Disiller chenucal corp. заявлено 15. 08.80. Опубл. 26. 10. 82.

79. Патент 4376824 СШФ МКИ С 12р 19/24. Процесс производства глюкозо – фруктозных сиропов из неочищенного гидролизата крахмала //hurst Laus? Lioyd Nornian E- Nabisco Brands Ind №258183. Зфявлено 27. 04.81. Опуб. 15.03.83.

80. Пашенко Л. П., Зубцова А.В., Жеребцова Н.А. Применение ферментного препарата из *Ph. Delenice* в при приготовлении высокоосахаренных гидролизатов // хлебопекарная и конд. итерслая пром- ность. 1974. №2.С.16-19.

81. Пашенко Л. П., Зубцова А.В., Жеребцова Н.А получение и Применение высокоосахаренных гидролизатов при производстве хлевовулочных изделий // В сб. Физика- химические основы технологии. Воронеж – 1974. С. 7-11.

82. Пашенко Л. П. и др. Применение ферментативных гидролизатов для активации дрожжей //Изв. вузов. Пищевая технология. Краснодар- 1977.№2.С70-74.

83. Писаренко Т.Н., Яровенко В.Л., Доборлинская Г.М.// Микроб. промышленность.-1971. Т.3.-С.3.

84. Писаренко Р.Д. Пути эффективного использования ферментных препаратов в хлебопекарной промишленности //Материала 2-го Всусоюзн. совещ. по ферментам микроорганизмов.- Минск.-1978.

85. Писаренко Р.Д., Демидов А.С., Гусева Л.И. и др. высокоосахаренные ферментативные мучные полуфабрикаты в хлебопечении научно- технич. Реф. сборник. Сер. хлебопекарная и макаронная пром.-сть. М. ЦНИИТЭИ пищепром. 1980. №8 С.5.

86. Попандич И.А., Лурье И.С. Умирзакова С.Х., Островская Л.К. Применение ферментативных гидролизатов муки в производстве печенье хлебопекарная и кондитерская пром- сть -1976. №1 С.19-21.

87. Починок Х.Н. Бюллетень по физиологии растений. Киев. 1958. №2.

88. Прокопенко А.Д., Роитер И.М. Иследование свойства теста для прияников с ферментативных гидролизатов муки // хлебопекарная и кондитерская пром- сть.1987.

89. Пучкова Л.И. Лавораторный практикум по технологии хлебопекарного производства \\ Пищевая пром-сть. – М. 1982.

90. Раутенштейн Я.Н. Самосагревание пщеници и роль микроорганизмов в этом прцессе // Микробиология. – 1939.-Т.3. №5.Сю-555-570.

91. Решетрилов А.Н., Лобанов А.В., Морозова Н.О., Грин Р.В., Леазерс Т.Д. Применение элементов теории распознавания образов при помащи микробного сенсора // Сенсорные системы 1998.№4,Т 12. С 486-495.

92. Решетрилов А.Н., Китова А.Е., Алферов В.А., Понаморева О.Н., Кузмичев А.В., Ежков А.А. Ферментные и микробные сенсоры для анализа глюкозы биотехнология-2003. Тез. Докл. Семинара-презентации инновационных науч-техн. Пректов. 24-25 ноябрь. 2003. Пущино,2003. С-64-65.

93. Решетрилов А.Н., Китова А.Е Биосенсорные экспресс анализаторы концентрации растворенных крахмала, глюкозы и практич. Задач спиртовой отрасли. М. Институт Биох. и физиол. микроор. 2004.

94. Радуонене В. О. Микромицеты – утилизаторы растительных отходов. *Microorganismele si metabolitii lor in economia*. III-a conferinta nationala cu *participare internationala* 26, 27 *septembrie* 1996.*Rezumatele lucra rilor, Chisinaau*, 1996,23.

95. Салманова Л.О., Жданова Л.А., Термостойкость целлюлазы и гемицеллюлазы ферментного препарата из *Trichotecum roseum*. «приклад. биохим. и микробиол.»1971,7, ст.30-33.

96. Саловарова В.П., Грачев Ю.П., Ваганова М.С., Влияние состава питательной среды на биосинтез целлюлотических ферментов при глубинном культивировании гриба *Trichoderma longibrachiatum* 7-26. «приклад. биохим. и микробиол.»1978, 14,№2,172-176.

97. Спесивцева Н.А., Методы определения токсичности кормов в кн.Методы исследования в ветеринарной микологии, М., изд. «Колос»,1971,ст.224-235.

98. Савич А.Н., Сидоренко Ю.И. Ежемесячный научно-практический интернет журнал «Качество, безопасность и экология пищевых продуктов и производств» новые виды сахаров и сриртов. 2004.

99. Самсонова Р.А., Евгенева В.С. Иозосироп-новое подслащивающее вещество пищевая про-сть. Сер. 3. Научно- технич. сборник. М. ЦНИИТЭИ пищепром. 1982.Вып. 5. С.11-12.

100. Сапронов А.Р. Технология сахарного производства – 2-е изд., исправил. И доп.-М. Колос. 1999. С-495.

101. Саркисов А.Х. Микотоксикозы. М. 1954. С216.92.

102. Смирнова – Иконикова М.И. Влияние географического фактора на содержание и состав белков семян зернобобовиых культур // Биохимия зерна. АН СССР. 1960. №5. С 228-247.

103. Соифер В.Н. Молекярные механизмы мутагенеза. М. – 1969, с. 353-235.

104. Ташпулатов Ж.А., Теслинова Н.А., Влияние источников азота в среде на целлюлотическую активность *Trichoderma lignorum* 19. В сб. Структура и метаболизм микроорганизмов. Ташкент, ФАН, 1975,127-133.

105. Ташпулатов Ж.А., Джалалова Х. Абдулаев Т., Мирзахимова М. Целлюлазы *Trichoderma lignorum*19.В кн. Целлюлазы микроорганизмов. М.»наука», 1981, 114-124.

106. Тиунова Н.А., Родинова Н.А., Мартинович Л.И., Ферметная система *eotrichum candidum,* гидролизующая целлюлозу. «приклад. биохим. и микробиол.» 1980, т.16, №1, 40-45.

107. Татаренко Е.С., Высоцка М.А. изменчивость и коррелятивная зависимость между морфолога-культуральними и биохимическами признаками плесневых грибов // микробиологич. Журн.- 1961. –Т. 3. №3. С.-25-31.

108. Турещенко Е.Н. Особенность апаратурного оформления ферментного цеха Воскресенского спиртового завода //Фермент и спирт. Промышл. – 1983. №3. С. 25-28.

109. Фениксова Р.В. Ферменты микроорганизмов. М. «Наука». 1973. С.7.

110. Фритц Дж., Шенк Г**.** 1978. Количественный Анализ, Москва, «Мир», 557.

111. Частухин В.Я., Микромицеты и их роль в динамике растительности при осушении болот. «Ботан. журн.», 1967,52,№2,214-222.

112. Чурилова И.В., Максимов В.И., Клесов А.А, Очистка и свойства низкомолекулярной эндоглюканазы целлюлозного комплекса из *Trichoderma koningii.* «Биохимия», 1980, 45, №4, 669-677.

113. Чхартишвили Д.А., Термофилние микромицеты – продуценты целлюлаз. Автореф. кандю дисс. Тбилиси,1986,ст-24.

114. Шаламберидзе Н.Г., Целлюлазы гриба *Trichoderma viride* 185, выделенного из почв Грузии. Автореф, канд. дисс., Тбилиси,1971,ст.24.

115. Шелкова С.С. Образование целлюлолитических ферментов *Aspergillus terreus* узу-1 в зависимости от условий культивирования. В.сб. Биологические активные вещества микроорганизмов и их исползованиеТашкент ФАН, 1974,46-52.

116. Шербухин В.А., Миронова Л.И., Кондырева Л.В., Грюнер В.С., Определение глюкозы методом с использованием фероцианидов калия. «приклад. биохим. и микробиол.»1970, 6, №4, ст. 467-470.

117. Щербакова Е.Я., Караджова З.С., Ермакова В.П.А.с.407946Штамм гриба *A. niger* Ленинградский-5 для производства лимонной кислоты опуб. в Б.Н., 1974, №471.

118. Шинкаренко Н.Т., Калунянц К.А., Лосякова Л.С. Складнев А.А. Питательная среда для культивирования продуцентов глукоамилазы // опуб. В.Б.И. 1983. А.с. 1024500.

119. Юркевич В.В. – Малый практикум по биохимии. – М., МГУ, 1979, с.19.

120. Яровенко В.Л., Марчиненко В.А., Смирнова В.А и др. Технология спирта // Под редакцией проф. В.Л. Яровенко., м. «Колос- Пресс». 2002.

121. Aguilar G., Huitron C., Application of fed-bach cultures in the production of extracellular pectinases by Aspergillus sp. Enzyme. “Microbiol. Tecnol.”,1986,9,541-545.

122. Allen A.L., Andreotti R.L., Continuous culture of Aspergillus phoenicis QM 329 for the production of cellobiase. Microbiol., 1982, №24,2747-2751.

123. Amm A.B., Anderson A.F., Ponelson M.L., Production of plant cell wall degrading enzymes by Phoma medicaginis f. sp. Pinodella. “Phytopathology”,1979, 62, №2,372-375.

104. Andrezejczuk-hybel J., Kactowski S. Condition and course of accumulation and excretion of amylases in culturese of *Aspergillus orizae* \\ Bull. acad. pol. Sci. Ser. Sci. Biol. 1971. – Vol. 19. № 5. 313-316.

124. Aleshin A., Stoffer B., Frisov L., Svensson B., Honzatko R. Biochemistry,1996, V.35. P. 8319-8328.

125. Apdegraff D.N. Utilization of cellulose from waste paper by Myrothecium verrucaria.- Biotechnol., Bioeng., 1971, 13,1,P.77-78.

126. Armbruster C. 1962.New enzyme- producing organism and improved Enzyme preparation for hydrolysis process. Great Britain Patent №904423.

127. Arjia Miettinen-Oinonen – *Trichoderma reesei* strains for production of cellulases for the textile industry – To be presented with the permission of the Faculty of Biosciences of the University of Helsinki, for the public criticism in the Auditorium 1041 at the Department of Biological and Environmental Siences, Biocenter 2, Viikinkaari 5, Helsinki, on November 5th, 2004.

128. Arjia MO, Londesborough J, Joutsjoki V, Lantto R, Vehmaanpera J. – 2004. Three cellulases from *Melanocarpus albomyces* for textile treatment at natural pH. Enzyme Microbe Technol. 34:332-341.

129. Beishuizen J.W. Enzymatik Production of specialize syrups from New Zealand groin maize and weat chain. №7. 1982 Vol.46,№6,P.125-1.

130. Bhat KM, McCrae SI, Wood TM. – 1989. the endo (1-4)-β-D-glucanase system of *Penicillium pinophilum* cellulases: isolation, purilication and charaxterization of five major endoglucanase components. Carbohydr Res. 190; 279-329.

131. Bhat M. and Bhat S. – 1997. Cellulose degrading enzyme and their potential industrial applications. Biotechnol. Adv. 15:583.620.

132. Basu m. Merhrotra B.S. Celluiolitic activity of sonae thermophilic microorganisms "Indian J. Mycol. and Plant. Patol". 1978. 8. № 1. p. 6-12.

133. Berghem G.E.R., Petterson G. F., The mechanism of enzymatic cellulose degradation: Purification of a cellulolytic enzyme from Trichoderma viride activ on high-ly ordered cellulose. "Eur. J. Biochem''. 1973, 37, №1,P.21-30.

134. Bhaskaran R., Prasad N.N., Protopectinase, polygalacturonase, cellulases, beta-glucosidase and fusaric acid of fusarium oxysporum f. melonis., "Indian F.Exp. Biol.'', 1971,19, №4, 516-518.

135. Boretti G., Garofano L., Montecuchi P., Spalla C. Cellulase production with Penicillium iriense. Arch. Microbial., 1973, vol., 92, №3, 189-200.

136. Christakopoulos P, Kekos D, Macris BJ, Claeyssens M, Bhat MK. 1995a. Purification and Characterization of less randomly acting endo-(1-4)-β-D-glucanase from culture filtrates of *Fusarium oxysporum*. Arch Biochem Biophys. 316:428-433.

137. Christakopoulos P, Kekos D, Macris BJ, Claeyssens M, Bhat MK. 1995b. Purification and mode of action of low molecular mass endo-(1-4)-β-D-glucanase from culture filtrates of *Fusarium oxysporum*. J Biotechnol. 39:85-93.

138. Christensen C. M. grain storage studies. Maid invasion of wheat Stored for sixteen months at moisture contents below 15 per. cent. – Gereal Chem., 1955., v. 32, № 8, p. 107-116.

139. Chahal D.S., Moo-Young M. Vlach D. Protein production and grovth characterisation of Chaetomium cellulolyticum during soild staye fermentatiiion of corn stover. Biotechnol. Bioeng. 1983, 75, № 4. p. 597-603.

140. Canevaschini G., coudray M., Rey F., et all. Induction and catabolite repression of cellulase synthesis in the termophilic fungus Sporotrichum thermophile "J.Gen.Microbiol.", 1979,vol.110, №10,p.291-303.

141. Davet P. Research cooletotrichum coccodes: V. Observation concerning some enzimes contributing to parasitic disoders in tomato roots"Ann. Phytopatol", 1976,8, №1,79-82.

142. Desai A.F., Betrabet S.M., Cellulase activity of microorganism isolated from cotton deteriorated during storage ''Indian. J. Biochem. Biophys.", 1972,vol.9, №2,P.212-214.

143. Deese D.C., Stahmann M., Role of pectic enzymes in suscep-tibility and resistance to Fusarium and Verticillium with of plant "Abs. Phytopatol", 1960,50, №6,633-640.

144. Deseatnic A., Tinrin S., Labliue S., Fractionared complexului cellulazic produs dee micromiceta Aspergillus flavus. Microorganismele si metaboliti for in economia nationala. A IIIa conferinita nationala cu participre internationala 26,27 septembric 1996. Resumatele lucrarilor, Cisinau 1996,5.

145. Deshpande V., Eriksson K., Petterson B. Production , purification and partial characterization of 1,4- beta-glucosidase enzymes from Sporotrichum pulverulentum."Eur. J. Biochem.", 1978,vol.90. №1, 191-198.

146. Dellwing H., Schandes X., Megnet K., Catabolite repression and cyclic adenosin 3,5 – monophosphate in saccharomyces cerevisiase. Brew. Dig. 1973,vol.48, №8, 64-69.

147. Eberhart B.M., Beck R.S., Goolsky K.M., Cellulase of Neurospora crassa "J. Bacteriol.", 1977,130, №1,181-186.

148. Ellis S., Simpson M.The chromatography of grouth hormone on cellulose derivatives . J. Biol. Chem. 1956.-Vol.220-P.933.

149. El-Kersh T.A., Toama M.T.I., Abdel-Aziz M., Cellulase production by Phoma glomerate and *Rhizoctonia solani*. Egypt. J. Pharmac. sci.,1974, vol.15. №2,185-194.

150. Eriksson K.E., Enzyme mechanisms involved in cellulase hidrolysis by the rot fungus *Sporotrichum pulverulentum*. Biotechnol. and Bioeng., 1978,vol. 20, №2, 317-332.

151. Enari T.M., Microbial. cellulase. In Microbiol. Enzym. and apll. Sci. Publishers, London, New-york,1983,183-223.

152. Erikssen J, Goksoyr J. 1977. Cellulases from *Chaetomium thermophile* Var. dissiutum. Eur J Biochem. 77:445-475.

153. Eriksson K.E, Pettersson B. 1982/ Purification and partical characterization of two acid proteases from the white rot fungus *Sporotrichum pulverulentum*. Eur. J. Biochem. 124:635-642.

154. Flanningan B., Sellars P.N., Activities of thermophilous fungi from barley kernels against arabinoxylan and carboxymethyl cellulose. "Trans. Brit. Mycol. Soc., 1972,58, №2, 338-341.

155. Fahrich P., Irgang K., Cellulase and protein production by Chaetomium cellulolyticum strains grown on cellulosic substrates. "Biotechnol.Letl.", 1981,3, №5,p.201-206.

156. Fohri B.N., Pandey A.R., Zopt L., Cellulose breakdown Rhisopus chizopodiformis Zopt., Thermophile mould- Indian J. Microbiol., 1982,22, №1,p.76-78.

157. Fungal cellulases for novel industrial applications. In: Rao GP, Manoharachari C, Bhat DJ, Rajak RC, Lakhanpal TN Eds. Frontiers of Fungal Diversity in India. Lucknow: International Book Distributing Co., 143-159).

158. Gaouar O., Zakhia N., aymard c., Rios G. M., M-6st International Conference on Inorganic Membranes Montepellier. Program and book of abstracts. 2000, c. 182.

159. Grossman F.L.R., Cellulase © activity in healthy and Fusarium infected tomato plant. "Phytopatol.J", 1973,76, №1,90-93.

160. Gupta D.P., Heale F.B., Induction of cellulase in vertillium alboatrum. "F.Gen.Microbiol.", 1970,vol.63, №2,163-173.

161. Garber E.D., Beraha L., Shaffer S.C., Genetics of phytopathogenic fungi."Bot.Gas.",1965, 126,(1),40-46.

162. Hitzman D.O. Fermentation pardes cultures mixtes their mophiles (phillips petroleum Go)- C129 B/06,A23F 1/100, №241261-2,2.12.77. №7736363,20.07.80.Patent USA.

163. Hulm M.A., Straks D.W., regulation of cellulase production by Myrothecium verrucaria grown on non-cellulosic substrates-J.-Gen.Microbiol.1971.vol.69.,. №1,145-155.

164. Hayashida S, Mo K. 1986. Production and characteristics of avicel disinterating endoglucanase from a protease-negative *Humicola grisea* var.*thermoidea* mutant, Appl Environ Microbiol. 51:1041-1046.

165. Hayashida S, Ohta K, Mo K. 1988. Cellulases from *HumicolaInsolens, Humicola grisea* In: Kellogg and Wood TM. Eds. Methods in Enzymology, Academic Pess, London: New York, 160: 323-332.

166. Howell I.A., Mangat M. N. Enzyme deactivation during Cellulose hydrolysis Biotechnol. Bioeng. – 1978. – 20. p. 847 – 863.

167. Husain A., Dimond A. E. Role of cellulolytic enzymes in pathogenesis by Fusarium oxysporum f. Lycopersici. " Phytopatology ", 1960, 50, № 2, 329-331.

168. Ishaque M., Kluepfel D. Celluiase complex of a mesophilic Strepomyces strain. " Can. J. Microbiol., 1980, 26, № 2, 183-189.

169. J.P.H. van Wyk and M. Mohulatsi, Utilization of used paper Materials as a renewable resource for bioproduct development, Australasian Biotechnology, Vol. 11 No. 5, 2001, pp. 38-39

170. Knoesel D., Resz A., Fungi from compost of waste material inStaedthygiene, "Chem. Abstracts.", 1973, 24(6),p.143-148.

171. Kassim E.A., Cellulase activity of Rhizopus sp.Egypt J. Microbiol., 1983,Spec.issue, p.171-178.

172. Klappach G., Kerns G., Polter E., In.Int.Symp.C.A. Mete. Food Ind. and Environ. Budapest, sept.9-11, 1982,67-71.

173. Kilian S.G., Prior B.A., Ventos T.T., Lategon P.M., Production purification and properties of beta-glucosidase of from Candida wikerhamii. "Appl.Microbiol.Biotechnol", 1985,21,p.148-155.

174. Karla M.K., Sandhu D.K., Образование целлюлаз и их локализация в Trichoderma harzianum. Folia microbiol., (CSSR), 1986,31, №4,p.303-308.

175. Kang M.K., Rhee Y.H. 1995. Carboxymetyl cellulases active and stable at alkaline pH from alkalophilic *Cephalosporium sp*. RYM-202. Biotech Lett. 17:507-512.

176. Khandke KM, Vithayathil PJ, Murty SK. 1989. Purification of xylanasa, β- glucosidase, endocellulase, and exocellulase from thermophillic fungus *Termoascus auranticus.* Arch Biochem Biophys. 274:491-500.

177. Kladwang Wipapat, Lene Lange, Nigel Hywel Jones and Amaret Bhumiratana. –Alkaline-tolerant fungi as a for Alkaline Enzymes, 2002 Mycology Laboratory, The National Center for Genetic Engincering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Thailand.

178. Kubicek CP, Messener R., Gruber F, Mach RL., Kubicek PEM., 1993. The *Trichoderma ressei* cellulae regulatory puzzle from the interior of a secretory fungus. Enzyme microb Technol 15: 90-99.

179. Kubicek CP, 1992. The cellulase proteins of T.reesei: The stucture, multiplicity, mode of action and regulation formetion. Adv. Biochem. Eng. 45:1-27.

180. Kumar PKR, Singh A, Schugeri K., 1991. Formetion of acetic acid from cellulosic substrates. Appl. Microb. Biotechnol. 34: 570-572.

181. Kvesitadze G., Kvachadze L., Aleksidze T., Chartishvili D., Exogenous cellulases of thermophilic micromycetes,Part 1 Selection of producers. “Acta Biotechnol”, 1986,6, №1,101-106.

182. Kvesitadze G., Gogilashvili L., Svanidze R., Bbuachidze T., Chirgadze L., Nnizharadse D., Exogeneous cellulase of thermophilic micromycetes 11 thermostability of enzyme preparation. “Acta Biotechnol.”, 1986,6, №4, 361-367.

183. Kvachadze L., Kvesitadze G., Cellulases of thermophilic micromycetes. FEMS Symposium Bbiocemistry Gggenetics of Cellulose Ddegradation, Paris,1987,39.

184. Lachke AH, Bastawade KB, Powar Vk and Srinivasan MC. 1983 Enhanced prodiction of beta-D –glucosidase by *Penicillum funiculosm* in aumberged culture. Biotechnol lett. 5:649-652.

185. Lachke AH, Bastawade KB, Powar Vk and Srinivasan MC. 1986. Isolation of hyper cellulolytic mutant (CU-1) of *Penicillium* funiculosum. Enzyme Microb Technol. 8: 105-109.

186. Larios G., Gilbon A., Jara Y., Huitron G. in. Enzime Eng. Del. G. 6. th int Enzime Eng. Conf. Kashikojima Sept, 20-25, 1981, New York-London, 1982, 353-354.

187. Leisola S. a., Ulmer D. C., Pitkanen K., Piecher a., Induction of cellulases in Chaetomium cellulolyticum by cellobiose. “Biotechnol. Bioeng.” 1985, 27, 1379-1391.

188. Lee B.H., Blackburn T.Hh., Cellulase production by a thermophylic Clostridium spesies-Aappl.Environ Microbiol.1975, vol.30. №3,346-353.

189. Lee B.H., Fersberg C.W., Gibbins L.N., Cellulolytic activity of Clostridium acetobutylicum. “Appl.Env.Mmicrobiol.1985, 50,220-228.

190. Li Sung Bin . Изучение процесса синтеза целлюлолитических ферментов эумицетов. Игдд.Acad.Sci. D.P.R. Korea,1986, №3,38-41.

191. Maheshwari R., Bharadwaj G., and Bhat, M., 2000. Thermophilic fungi: their physiology and enzymes. Microbiol. Mol. Rev. Vol. 64: p.461-188.

192. Makman R.S., Suterland E.w. adenosine 3,5 – monophosphate in Escherichia coli. “ J.Biol. Chem.” 1965, vol. 24, 1309-1314.

193. McHale A, Coughlan M P. 1980. Synergistic hydrolysis of cellulose by components of extracellular cellulase system of *Taleromyces emersonii*, FEBS Lett. 117: 319-322.

194. Montenecourt B S.1983. *Trichoderma reesei* cellulases. Trends Biotechnol. 1:156-161.

195. Murashima K., Moriya T., Hamaya T., Koga J., Sumida N., Aoyagi K., Murakami T, and Kono T. 2000. Enzyme endoglucanase and cellulase preparations containing the same. Pat. US 6, 159, 720.

196. Murashima K., Nishimura T.,Nakamura Y., Moriya T., Koga J., Sumida N., Yaguchi T. and Kono T. 2002. Purification and characterization of new endo-1,4-β-D-glucanases from *Rhizopus oryzae.* Enzyme Micrib. Technol. 30: 319. 326.

197. Martin Chaplin , Articles- Glucose from cellulose, 20.12.2004.

198. Mandels M., Reese E., Induction of cellulase in fungi by cellobiose. “J.Bacteriol”.,1960,79,№6, 826.

199. Mandels M., Parrish F., Reese E., Sophoroe as an inducer of cellulase in *Trichoderma viride*.”J.Bacteriol.”,1962,vol.-83, №2,400-408.

200. Mandels M., Sternberg D., Andreotti R., Microbial sources of cellulase.”Symp.Enz.Hhydrolis.Cell.,”, 1975,Finland,81.

201. Millen F.M., Bateman D.F., Polysaccharide degrading in the cellulase fermentation. “Process. Biochem.”, 1978,Vol.13, №5,p.6-13.

202. Mishra S., Kapcor K.K., Join M.K., Sing C.P., Cellulose degradation by *Humicola lanuginosa*. Britt.Mycol. Soc. 1981,76, №1,p.159-160.

203. Moubasher A.H., Mazen M.B., Assay of cellulolytic activity of cellulose-decomposing fungi isolated Egyptian soils. J. Basic Microbiol. 1991,31, №1,p.59-68.

204. Nehemian K., Arun M., Mukadam D.S., Deshpande K.B., Production of extracellular enzymes in mutants isolated from Trichoderma viride unable to hydrolyse cellulose. “Acta Bot. India”., 1977, №1, p.195-198.

205. Nisizawa T., Suzuki H., Nazayama M., Nisczawa K. Inductive formation of cellulase by sophorose in Trichoderma viride. “J. Biochem.”,1971, 70, №3,375-385.

206. Nisizawa T., Suzuki H., Nisczawa K.Catabolite repression of cellulase formation in Trichoderma viride. “J. Biochem.”, 1972,vol 71, p.999-1007.

207. Nusrath M. Effect of nitrogen sources and amino acides on growth and cellulolytic decomposing fungi. Geobiot (Fodhpur), 1978,5, №1,p.111-113.

208. Nisizawa T.V. Mode of action of celluiases. “Ferment. technol. “ 1973, 51, № 4, 267-304.

209. Norkrans B. Cellulase and Cellulolysis. “ adv. Appl. Microbiol. “ 1967, 9, 91.

210. Olutiola P.O. Cellulase enzymes in culture filtkates of Aspergillus flavus. “Trans.Brit.Mycol.Soc.”, 1970, №2,p.265-268.

211. Parry G.B., Seater G.H., In.Proc. Int. Symp. EES. Programme Pecycl.Urban and Ind. waste, Luxembourg, 8-10 may,1984,159-167.

212. Pugh L.J.F., Kuthubutheen A.J., The effect of fungicides on celluloase and starch hydrolysis by thermophilous and mesophilic Fungi. “J. Therm.Biol.”, 1979,4, №1,23-28.

213. Romanelli R.A., Houston C.W., Barnett S.M., Studies on Thermophilii cellulolytic fungi “Appl. Microbiol,”,1975, 30, №2,p.276-281.

214. Roussos S., Rainbault M. Hydrolyse de la cellulose par les moissurers,1,”Screening”des souches cellulolytigues.”Ann. Microbiol.’’, 1982,133, №3.p.455-464.

215. Rath Chandi C. – Termophiles: A novel group of microorganisms for 21st century – Centre for Post Graduate studies in Microbiology, OUAT, Bhubaneswar, India – 751003.

216. Rath C. C. and Subramanyam V. R. (1997). A note on thermotolerant cellulolytic fungi from a hot spring at Taptapani, Orissa, Microbios. 89: 157 –161.

217. Roy SK, Day SK, Raha SK, Chakrabarty Sl. 1990. Purification and properties of an extracellular endoglucanase from *Myceliopthora thermophila* D-14 (ATCC 48104). J Gen Microbiol. 136: 1967 -1671.

218. Ronald P. de Vries* and Jaap Visser. *Aspergillus* Enzymes Involved in Degradation of Plant Cell Wall Polysaccharides Microbiology and Molecular Biology Reviews, December 2001, p. 497-522, Vol. 65, No. 4.

219. Savory J.G., Breakdown of timber by Ascomycetes and fungi imperfecti.’’Ann. Appl. Biol.’’., 1954,41, №2,p.336-347.

220. Sternberg D., Vijayakumaz P., Reese E., Beta –glucosidases. Microbial production and effect on enzymatic hydrolyses of cellulose.”Can. J. Microbiol.”, 1977,vol.23, №2,139-147.

221. Sen. S., Abraham T.K., Charkabarty S.L., Characteristic of the cellulase produced by Myceliophtora thermophillia D-14 ‘Can.J.Microbiol.”, 1982,28, №3,p.271-277.

222. Sen Sribir, Abraham T.K., Chakarabarty S.L., утилизация целлюлозных отходов термофольными грибами. Adv.Biotechnol. Proc. 6th Init Ferment.Symp.London.(Canada) 20-25 july,1980,vol.2., Toronto e.a., 1980,p.633-637.

223. Smith M.H., Gold M.H. Phanerochaete chrysosporium beta-glucosidases induction, cellular localization and physical characterization.”Appl.Environ. Microbiol.”, 1979,37, №5,p.938-942.

224. Somkuti L.A., Babel F.L., Somkuti A.C., Synthesis of cellulase Mucor pusillus and Mucor michei. “J. Gen.Microbiol.”,19-74,81, №1,1-6.

225. Spano L.A. Raw material sources: Biotechnol. and Bioeng. Symp. 1976, №6,p.273-298.

226. Sternberg D., Production of cellulase by *Trichoderma viride*.”Biotechnol. and Bioeng.”, 1976,6, №1, p.35-53.

227. Schou Charlotte, Christensen Margrethe H.. and Martin Schu > Lein.”-Characterization of a cellobiose dehydrogenase from *Humicola insolens* – Iuvens kemiske Fabrik, Ballerup, DK-2750, Denmark, and Novo Nordisk A/s, Bagsvaerd, DK-2880, Denmark Biochem. J. (1998) 330, 565-571 (Printed in Great Bri).

228. Somogi M. Notes of sugar determination. – J.B.C., 1952, 195, p. 19-23.

229. Sternberg D. β-glucosidase of Trichoderma. Ist biosyntesis and role in saccharification of cellulose. “ Appl. Environ, Microbiol. “ 1976, 31, № 5, 618-654.

230. Stewart J. G., Parry J.B. Factors influencing the production of cellulase by *Aspergillus fumigatus* (fresmsis). “ J. Gen. #”, 1981, 125, № 1, 33-39.

231. Stewart I.C., Lester A., Milburn B. Образование целлюлаз культурой *Aspergillus fumigatus*. Appl. Biochem. and Biotechnol., 1984, № 4, p. 417-418.

232. Szezodrak G., Rogalski G., Ilczuk Z., Acta Microbiol.Pol., Целлюлолитическая активность плесневых грибов и оценка применимости целлюлозных отходов для биосинтеза целлюлаз и ксиланазы культурой Aspergillus terreus F-413.1984,33, №3-4,p.217-225.

233. Tangnu S., Blanch H.N., Wilke C.A., Enchanced production of cellulase and glicosidase by Trichderma production of cellulase and- glicosidase by Trichoderma reesei (Rut C30).”Biotechnol. Bioeng.”,1981,23, №8,1837-1849.

234. Vandanme Erick J., Lodge J.M., Geeraerts Hexman A.M. Cellulase activity of a thermophilic *Aspergillus fumigatus* (Fresenius)strain.”J/Chem>Technol. Biotechnol.”,1982,32, №10,p.968-974.

235. Vyas Santos R. – Characterization of Alkali stable Fungal Cellulases and their potetial Industrial- Applications, a thesis submited to the University of pune For the degree of Doctor of Philosopy in

Biochemical Scienes National Chemikal Laborat Pun 411 008.

May, 2004.

236. Vyas S, Lachke A, Ahmad A. 2003 Fungal cellulases for novel industrial applications. In: Rao GP, Manoharachari C, Bhat Dj, Rajak RC, Lakhanpal TN Eds. Frontiers of fungal Diversity in India. Lucknow: International Book Distributing Co., 143-159.

237. Wasty E.H., Michall S.U., Flarosi H.M., Salch M.A., Comparative studes on petolytic and cellulolytic anzymes activities of two isolates of Altarnaria porii.”Acta phytopatol”., 1977,12, №1,p.277-282.

238. Wood N.E., Neibauer D.G., Stuzenberger F.Cyclic AMP levels during induction and repression of cellulase biosyntesis in Thermonospora curvata.”J.Bacteriol.”,1984,160, №3,1047-1054

239. Wood TM< McCrae SI. 1982. Purification and some properties of a (1,4)- β-D-glucan, glucohydrolase associated with the fungus *P. funiculosum.* Carbohydr Res. 110: 291-303.

240. Wood TM. 1992a. Microbial enzymes involved in degradation of cellulose component of plant cell wall, In: Rowett Researh Institute annual Report, p 10-24.

241. Wood TM. 1992b. Fungal cellulases. Biochem Soc Trans. 20: 46-53.

242. Wang Lifu, Zan Bangj, Ge Linghuma, wang Lixuan. “Acta Microbiol. sin. 1983, 23, №2, p. 143-149.

243. Wenzel H.F.J. In: The chemical technology of wood.-New York, Academic Press,1970,p.157-252.

244 Zuber H. Thermophilic bacterien.”Chem. Unz.Zeit.,” 1980,5,13.

245 Zonneveld B.J.M.The effect of glucose and manganese on adenosin 3,5-monophosphate levels during growth and differentation of *Aspergillus nidulans* .Arch.Microbiol.,1976,vol.108, №1,41-44.

246. Wheals AE, Basso LG, Denisc MG, Amormim HV.1999. Fuel ethanol after 25 years. Trends in Biotechnol. 17:482-487.