

**XOM ASHYONING CHIQINDISIZ TEXNOLOGIYASI TIZIMIDA FARMATSEVTIKA
TARMOQLARINING IKKILAMCHI RESURSLARIDAN FOYDALANISH**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВТОРИЧНЫХ РЕСУРСОВ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ
ПРОИЗВОДСТВ В СИСТЕМЕ БЕЗОТХОДНОЙ ТЕХНОЛОГИИ СЫРЬЯ**

**THE USE OF SECONDARY RESOURCES OF PHARMACEUTICAL PRODUCTION
IN THE SYSTEM OF WASTELESS TECHNOLOGY OF RAW MATERIALS**

Shokir O'rinovich Yuldashev, O'zFA, O'simlik moddalar kimyosi instituti
Organik sintez laboratoriyasi katta ilmiy xodimi, PhD

Ibrohimjon Rahmonovich Asqarov, Andijon davlat universiteti
*Kimyo kafedrası professori, O'zbekistonda xizmat ko'rsatgan ixtirochi, O'zbekiston TABOBAT
Akademiyasi raisi*

Muhamatdin Xomidovich Mamarahmonov, Andijon davlat universiteti
Kimyo kafedrası dotsenti, PhD

Umid Xudayberganovich Niyazmetov, O'zbekiston Respublikasi Qishloq xo'jaligi vazirligi
Qishloq xo'jaligi fanlari nomzodi

Bexruz Norbadalovich Boymurodov, Qarshi davlat universiteti
Organik kimyo kafedrası o'qituvchisi

DOI: <https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol1.iss4.2022.98>

Annotatsiya. Aniqlanishicha, *Aconite septentrionale* (ADO'S) va *Thermopsis alterniflora* (TDO'S) dorivor o'simliklar chiqindilarida polisaxaridlarning umumiy miqdori a.q.m.ning 65 va 67,7% ni tashkil qiladi. mos ravishda xom ashyo. ADO'S chiqindilaridagi lignin miqdori - 18,4%, TDO'S ga nisbatan ancha yuqori - 13,4%. Chiqindilar farmatsevtika va parfyumeriya sanoati uchun turli xil aromatik va fenolik birikmalar ishlab chiqarish uchun xom ashyo sifatida ishlatilishi mumkin. ADO'S va TDO'S chiqindilaridagi pentozanlarning miqdori yuqori bolib (28,7 - 27,3%), ulardan gemitsellyuloza, ksiloza, ksilitol, shuningdek furfural va MB kabi qimmatbaho mahsulotlarni ishlab chiqarish uchun xom ashyo sifatida foydalanish imkonini beradi. MB AB eng yuqori fosfataza faolligini ko'rsatdi - 650,5 mg p-nitrofenol kg⁻¹ MB soat⁻¹. Fosfat erituvchi mikroorganizmlar tomonidan fosfataza fermentini ishlab chiqarishga shro'tning kimyoviy tarkibi hamda, mikroorganizm shtammining turi ham ta'sir qilishi aniqlangan.

Аннотация. Установлено, что суммарное содержание полисахаридов в отходах лекарственных трав *Aconitum septentrionale* (ШЛТА) и *Thermopsis alterniflora* (ШЛТТ) составляет 65 и 67,7% от а.с.в. сырья соответственно. Содержания лигнина в отходах ШЛТА -18,4 %, намного выше по сравнению ШЛТТ -13,4%. Отходы могут быть сырьем для получения различных ароматических и фенольных соединений для пищевой, фармацевтической и парфюмерной промышленности. Высокое содержание пентозанов в отходах ШЛТА и ШЛТТ (28,7 – 27,3%) позволяет применять их как сырьё для получения таких ценных товаров как гемицеллюлозы, ксилозы, ксилита, а также фурфурола и МБУ. Наибольшей фосфатазной активностью проявил МБУ АВ - 650,5 мг п-нитрофенола кг⁻¹ МБУ час⁻¹. Установлено, что для выработки фермента фосфатазы фосфатсольбилизирующими микроорганизмами влияет как химический состав субстрата, так и вид штамма микроорганизма.

Annotation. The total content of polysaccharides in the wastes of the herbs *Aconitum septentrionale* (AHM) and *Thermopsis alterniflora* (THM) was found to be 65 and 67.7% of a. d. m. of raw materials, respectively. The content of lignin in the AHM wastes is 18.4 %, much higher

in comparison with THM -13.4 %. The wastes can be a raw material for obtaining various aromatic and phenolic compounds for the food, pharmaceutical and perfumery industries. The high content of pentosans in AHM and THM wastes (28.7 - 27.3%) allows their use as a raw material for obtaining such valuable goods as hemicellulose, xylose, xylite, as well as furfural and MB. MB AB showed the highest phosphatase activity - 650.5 mg p-nitrophenol kg⁻¹ MB hour⁻¹. It was found, that the production of phosphatase enzyme by phosphate-solubilizing microorganisms is influenced by both the chemical composition of the substrate and the type of microorganism strain.

Kalit so'zlar: Dorivor o'tlar chiqindilari, polisaxaridlar, pentozanlar, gemitsellyuloza, ksiloza, ksilitol, gidroliz, fosforni mobilashtiruvchi mikroorganizmlar, *Bacillus subtilis* BS-26.

Ключевые слова: Отходы лекарственных трав, полисахариды, пентозаны, гемицеллюлоза, ксилоза, ксилит, гидролиз, фосформобилизующие микроорганизмы, *Bacillus subtilis* BS-26.

Keywords: herbal waste, polysaccharides, pentosans hemicellulose, xylose, xylite, hydrolysis, phosphorus-solubilizing microorganisms, *Bacillus subtilis* BS-26.

Kirish. Farmatsevtika sanoatining dorivor o'tlari chiqindilari, qishloq xo'jaligi o'simliklarining qo'shimcha mahsulotlari, o'rmon xo'jaligining yog'och chiqindilari va boshqa lignoselülozik materiallar bioyoqilg'i va boshqa qimmatbaho xalq iste'moli mahsulotlarini ishlab chiqarish uchun ishlatilishi mumkin bo'lgan potentsial arzon qayta tiklanadigan resurslardir [1-3]. Lignoselülozik biomassa asosan uchta polimerdan: tsellyuloza (30-50%), gemitsellyuloza (15-35%) va lignin (10-20%) iborat. Shuningdek, pektin, oqsillar, minerallar va ekstraktiv moddalar kabi oz miqdorda boshqa komponentlar mavjud bo'lib, ular fizik-kimyoviy yoki biologik usullar bilan monomer qandlar va turli aromatik birikmalar hosil qilish bilan gidrolizlanishi mumkin [2].

Uglevodlarning yuqori miqdori (xom ashyoning 60-70% quruq moddalari), don ekinlarida uglevodlar miqdoriga yaqin bo'lganligi sababli, dorivor o'tlar qoldiqlari depolimerizatsiya qilinib qimmatli kimyoviy birikmalar olish uchun jozibali xom ashyo hisoblanadi. Xususan, shifobaxsh o'tlar chiqindilarida gemitsellyulozaning ko'pligi (15-35%) ularni gemitsellyuloza, ksiloza va ksilitol – farmatsevtika sanoati, oziq-ovqat sanoati, va kimyo sanoatida qo'llaniladigan mahsulotlar ishlab chiqarish uchun qimmatli xom ashyo manbai hisoblanadi [4-5].

Lignotsellyulozali o'simlik xom ashyosidan gemitsellyuloza, ksiloza, ksilitol va boshqa sanoat uchun muhim mahsulotlar ishlab chiqarish bilan foydalanish katta amaliy qiziqish uyg'otadi. Lignoselülozik xom ashyoning ikkinchi asosiy komponenti bo'lgan gemitsellyuloza C-5 qandlari (ksiloza va arabinoza) va C-6 qandlaridan (mannoz, galaktoza va glyukoza) iborat [5]. Tabiiy gemitsellyulozalar va uning hosilalari tibbiyotda immunitet tizimini tartibga solishda, patogen mikroflorani yo'qotishda qo'llaniladi. Gemitsellyulozaga asoslangan biologik parchalanadigan polimerlar saratonga qarshi dorilarni etkazib berish va nazorat ostida chiqarish uchun vositalardir [5-9]. Gemitsellyulozaning pentoza qandlarining dominant guruhi (80% gacha) ksilozadir [10]. Ksilozaning shirinligi saxarozanikining taxminan 50% ni tashkil qiladi. U inson tanasi tomonidan deyarli so'rilmaydi. Bu xususiyat uni diabetga chalinganlar uchun shirinlik sifatida ishlatishga imkon beradi. Saqichlar va tish pastalarini ishlab chiqarishda ksilitoldan (ksiloza hosilasi) foydalanish tish kariesining shakllanishiga to'sqinlik qiladi [11].

Gemitsellyuloza o't pufagi, ichak, jigar va oshqozonning surunkali distrofik yallig'lanishini davolashda qo'llaniladi. Preparat ovqat hazm qilish tizimining rezektsiyasi yoki nurlanishi bilan bog'liq bo'lgan sharoitlarni kompleks davolashda qo'llaniladi. Shuningdek, preparat oshqozon osti bezining ekzokrin funktsiyasi etarli emasligi holarlarida qo'llash tavsiya etiladi. [12-14].

Ksilozaning sanoatda ishlatilishi uning bir qator qimmatli hosilalarni berish qobiliyatiga asoslanadi. Ksilozani vodorod bilan qaytarganda pentaatomik spirt ksilitol olinadi. U glitserin

bilan bir qatorda ayrim qog'oz turlarini, sellofan, linolyum, mato, tamaki mahsulotlarining ishlab chiqarishda mahsulotning plastiklashtirish va namligini tartibga solish uchun, hamda, ksilitan, efirlar, alkid smolalari (ksiftallar), sirt faol moddalar, plastifikatorlar va boshqalar sintezida ishlatiladi [15-16]. Ksiloza nitrat kislotasi bilan oksidlanganda ikki asosli ksilotrioksiqlutar kislotasi hosil bo'ladi, u oziq-ovqat sanoatida limon kislotasi bilan bir qatorda, shuningdek, nodir metallar olishda kompleks hosil qiluvchi vosita sifatida ishlatiladi [12-13].

Shunday qilib, dorivor o'simliklarning lignoselulozli chiqindilarini sanoat qimmatli mahsulotlar ishlab chiqarish bilan konvertatsiya qilish imkoniyatini baholash dolzarb vazifadir.

Ishning maqsadi gemitsellyuloza va ksiloza, shuningdek mikrobiologik bioo'g'it (MB) ishlab chiqarish uchun ikkilamchi xomashyo sifatida *Aconite septentrionale* (ADO'S) va *Thermopsis alterniflora* (TDO'S) dorivor o'simliklar chiqindilari shro'tining kimyoviy tarkibini o'rganishdir.

Tadqiqot obyekti 80% etanol eritmasi bilan farmatsevtik moddalarni ekstraksiya qilishdan keyin qolgan ADO'S va TDO'S chiqindilari shro'ti, shuningdek, shro'tlar gidrolizatining organik chiqindilarini fosfat erituvchi mikroorganizmlar *Bacillus subtilis* BS-26 va *Trichoderma harzianum* F-888 bilan fermentatsiyalash natijasida olingan MB. Bunda, mikroorganizmlarning shtammi va shro't turlari bo'yicha farq qiluvchi 4 turdagi MB olindi:

MB AB - ADO'S va *Bacillus subtilis* BS-26 shtammi asosida;

MB AT - ADO'S va *Trichoderma harzianum* F-888 shtammi asosida;

MB TB - TDO'S va *Bacillus subtilis* BS-26 shtammi asosida;

MB TT - TDO'S va *Trichoderma harzianum* F-888 shtammi asosida;

Dastlabki chiqindilardagi asosiy komponentlarning tarkibi standart usullar bilan aniqlangan [17]. Olingan natijalar moddaning mutlaqo quruq og'irligi (m.m.q.o) bo'yicha qayta hisoblab chiqilgan.

Shro't - dorivor o'tlarning biomassa chiqindilari uzunligi 2-5 mm, qalinligi 1-3 mm bo'lgan kichik chiplardir. Muvozanat namlik darajasiga keltirish uchun shro't 3 soat davomida (103 ± 2) °C da oldindan quritilgan.

Tekshirilayotgan xomashyoning kul tarkibi mufel pechida 575 ± 25 °C da 3-4 soat davomida kalsinlash orqali aniqlandi. Tsellyuloza azot-spirтли usul bilan aniqlandi. Chiqindilarning biomassasidagi lignin miqdori miqdoriy izolyatsiya, ekstraktiv moddalarni oldindan olib tashlash va konsentrlangan mineral kislotalar bilan polisaxaridlarni gidrolizlash orqali aniqlandi. Gemitsellyulozani ajratib olish va miqdorini aniqlash uchun 10 g ADO'S va TDO'S o'simlik qoldig'i 100 ml hajmli tekis tubli konussimon kolbaga solinadi va 30 ml 0,5% li ammoniy sitrat suvli eritmasidan qo'shiladi, aralashtiriladi va suv hammomida 70 °C haroratda 2 soat davomida ekstraksiya qilindi, shundan so'ng ekstrakt ikki qatlamli doka orqali filtrlanadi. Ekstrakt ajratilgandan so'ng, qolgan shro't 20 ml suv bilan uch marta yuviladi.. Keyinchalik, shro't ekstraksiya kamerasiga joylashtirildi, 200 ml har xil konsentratsiyali (3; 4; 5; 6; 7; 8%) NaOH ning suvli eritmasi qo'shildi va xona haroratida (25 °C) 24 soat davomida ekstraksiya qilindi. Uch marta ekstraksiya qilingandan so'ng, ishqorli ekstraktlar qog'oz filtri bilan filtrlandi, ekstraktlar birlashtirildi, vakuum ostida dastlabki hajmning taxminan 1/10 qismiga konsentratsiya qilindi, konsentrlangan sirka kislotasi bilan pH 5 gacha kislotalandi. Shu bilan birga, gemitsellyuloza cho'kdi. Supernatant sifonlangan, cho'kma 3000 rpm tezlikda sentrifuga qilingan, ikki marta 50 ml dietil efir bilan yuvilgan va efir to'liq chiqarilgunga qadar havo oqimida quritilgan. [18].

Gemitsellyulozaning monosaxarid tarkibini aniqlash uchun kislotasi gidrolizi H₂SO₄ bilan 1 mol/L konsentratsiyada amalga oshirildi. [19]. Gidrolizatlardagi monosaxaridlar xromatografik usul bilan aniqlandi. Shakarlarni ajratish qog'oz ustida erituvchining uzluksiz oqishi bilan pasayish usulida amalga oshirildi. Erituvchi sifatida 5:1:5 nisbatda etil asetat - piridin - suv aralashmasi

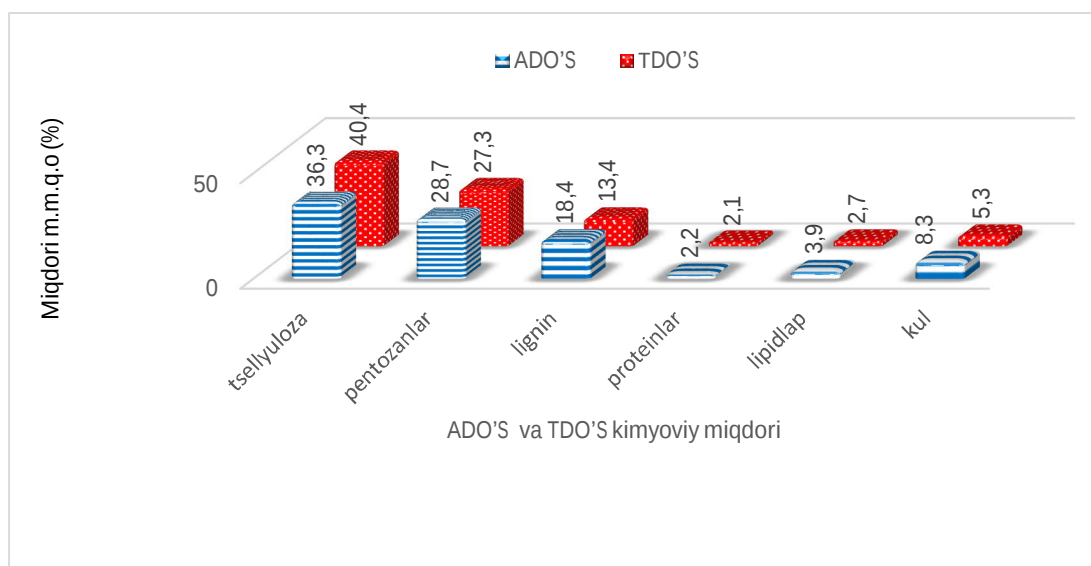
ishlatilgan. Yog'-mum fraktsiyasi Obolenskiy [17] bo'yicha o'simlik materialini spirt-toluol aralashmasi (1: 1) bilan ekstraktsiya qilish orqali aniqlandi.

MB ning fosfataza faolligini o'rganish. Fosfataza faolligini o'rganish uchun 1 g quruq MB 50 ml sig'imli tiqinlari bo'lgan Erlenmeyer kolbasiga, 4 ml universal bufer (pH 6,5), 0,25 ml toluol va 1 ml 0,115 M natriy eritmasidan solingan. p-nitrofenil fosfat (paranitrofenil fosfat-PNFF) va 5 daqiqa davomida aralashtiriladi. Kolba yopiladi va 37°C haroratda 1 soat davomida termostatga joylashtiriladi. Inkubatsiyadan keyin 1 ml 0,5 M natriy gidroksid qo'shiladi, 5 daqiqa davomida aralashtiriladi va suspenziya kulsiz filtr orqali 50 sm³ hajmli o'lchov kolbasiga filtrlanadi. Hosil bo'lgan p-nitrofenoldan filtrat sariq rangga ega.

Filtrning sariq rangining zichligi ko'k yorug'lik filtri (400-420 nm) bo'lgan fotokolorimetrdan o'lchanadi. Chiqarilgan p-nitrofenol miqdori p-nitrofenol standart eritmalaridan chizilgan kalibrlash egri chizig'idan hisoblanadi. Fosfataza faolligi mg p-nitrofenol kg⁻¹ tuproq h¹ da ifodalanadi[20].

Natijalar muhokamasi

Tadqiqotning birinchi bosqichida ADO'S va TDO'S chiqindilarining kimyoviy tarkibi aniqlandi. Dorivor o'tlar chiqindilarining kimyoviy tarkibini o'rganish natijalari shuni ko'rsatdiki, ADO'S va TDO'S ning o'simlik xom ashyosining asosiy komponenti uglevod komponentlari - tsellyuloza (mos ravishda 36,3-40,4%) va pentoza shakarlari bo'lib, ularning miqdori ADO'S chiqindilari 28,7% ni tashkil etgan bo'lsa, TDO'S da bu ko'rsatkich 27,3% ni tashkil etdi. Tsellyuloza asosan fizik-kimyoviy yoki biologik usullar bilan gidrolizlanishi mumkin bo'lgan glyukoza monomerlaridan iborat bo'lib, mikrobiologik kelib chiqadigan qimmatbaho mahsulotlarni olish uchun mikrobiologik konversiyalash uchun fermentlangan shakar hosil bo'lishi mumkin [2]. Lignoselülozik xom ashyoning ikkinchi asosiy komponenti bo'lgan pentozanlar asosan C-5 qandlaridan (ksiloza va arabino'za) tashkil topgan.



1-rasm. Lignosellyulozali xom ashyoning kimyoviy uglevodlari - ADO'S va TDO'S dorivor o'simliklar chiqindilari (mutlaq quruq moddalarning foizi)

Sabzavot xom ashyosining ikkinchi eng katta komponenti uglevod bo'lmagan komponent bo'lgan lignin bo'lib, uning chiqindilaridagi miqdori mos ravishda 18,4 va 13,4% ni tashkil etdi. Ligninlar o'simlik hujayralari devorlarida mavjud bo'lgan tabiiy fenolik makromolekulalar bo'lib, ular aromatik spirtlarning hosilalari bo'lgan uchta asosiy fenilpropan birliklaridan iborat: n-kumaril, koniferil va sinapil. Lignin juda murakkab amorf tuzilishga ega bo'lib, C-C va C-O

bog'lari bilan tasodifiy o'zaro bog'langan fenilpropan bo'laklaridan iborat. O'simlik hujayralarida lignin biologik to'siq va gemitsellyuloza va tsellyulozani bir-biriga bog'lash uchun "elim" vazifasini bajaradi [21]. Ligninning oksidlovchi yoki qaytaruvchi degradatsiyasi jarayonida turli xil aromatik va fenolik birikmalar hosil bo'ladi.

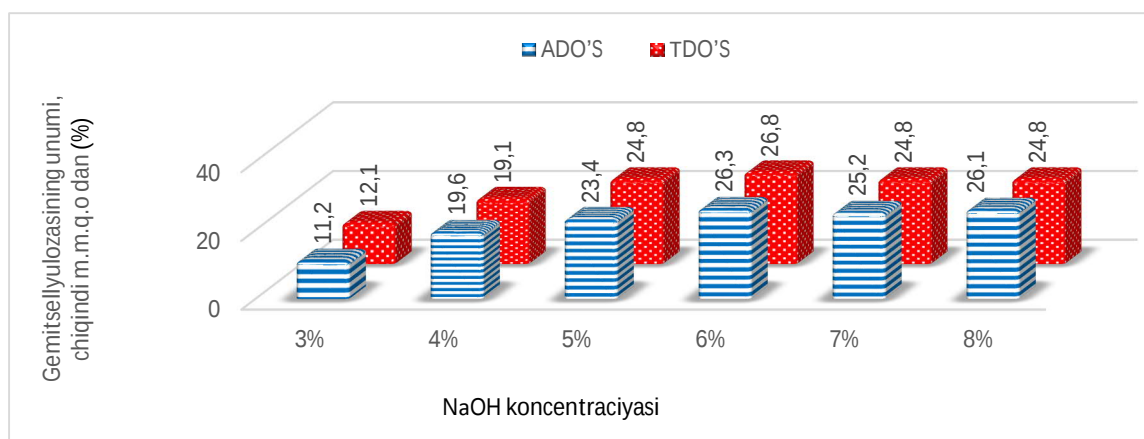
O'zining noyob tuzilishi tufayli lignin kimyoviy ishlov berish orqali qimmatbaho mahsulotlarga, jumladan, fenolik va aromatik kimyoviy moddalarni, shuningdek, suyuq yoqilg'ilarni ishlab chiqarish uchun muhim imkoniyatlarga ega. Aromatik aldegidlar oziq-ovqat, farmatsevtika va parfyumeriya sanoati uchun qimmatli xom ashyo hisoblanadi. Masalan, nilufar aldegid (3,5-dimetoksibenzaldegid) trimetoksibenzaldegid ishlab chiqarish uchun kerak, udan esa trimethoprim: - baktrim, biseptol va boshqa farmatsevtik preparatlari komponenti olinadi [23]. Gidrolitik lignindan foydalanishning keng ko'lamli sohasi sorbentlar ishlab chiqarishdir.

Chiqindilarning uglevod bo'lmagan moddalari - ADO'S va TDO'S chiqindilaridagi oqsillarning miqdori mos ravishda 2,2-2,1%, ADO'S ning yog'-mum ulushi 3,9%, ADO'S da esa 2,7% ni tashkil qiladi. Kul elementlarining tarkibi mos ravishda 8,3-5,3% ni tashkil etdi.

ADO'S chiqindilarida pentozanlar miqdori 28,7%, TDO'S chiqindilarida esa 27,3% ni tashkil qiladi, bu texnik ekinlar pentozanlar miqdori (32,6-34,3%) bilan mos keladi [21]. ADO'S va TDO'S chiqindilaridagi pentozanlarning yuqori miqdori ularni gemitsellyuloza, ksiloza, ksilitol, yoki gidroliz ishlab chiqarish korchonasida furfural ishlab chiqarish uchun arzon xom ashyo sifatida ishlatishga imkon beradi. Gemitsellyuloza, ksiloza, yuqorida aytib o'tilganidek, tibbiyot, kimyo va biotexnologiya sanoatida qo'llaniladi. Furfural neftni qayta ishlashda neft fraksiyalarini olefinlar va aromatik birikmalarning aralashmalaridan tozalash, o'simlik yog'larining fraksiyalarini - triglitseridlarni ajratish uchun ishlatiladi. Furfuralni qayta ishlashning asosiy an'anaviy yo'nalishi uni furfuril spirtiga gidrogenlash va undan issiqlikka chidamli turli xil smolalar sintezidir [1].

O'simlik biomassasi yondirilganda uning noorganik qismi - kul qoladi, bu ADO'S dagi quruq moddalarning 8,3% va TDO'S uchun 5,3% ni tashkil qiladi. Kul tarkibi bo'yicha ikkala namuna ham adsorbentlar (faollashtirilgan uglerod) ishlab chiqarish uchun xom ashyo talablariga javob beradi [22].

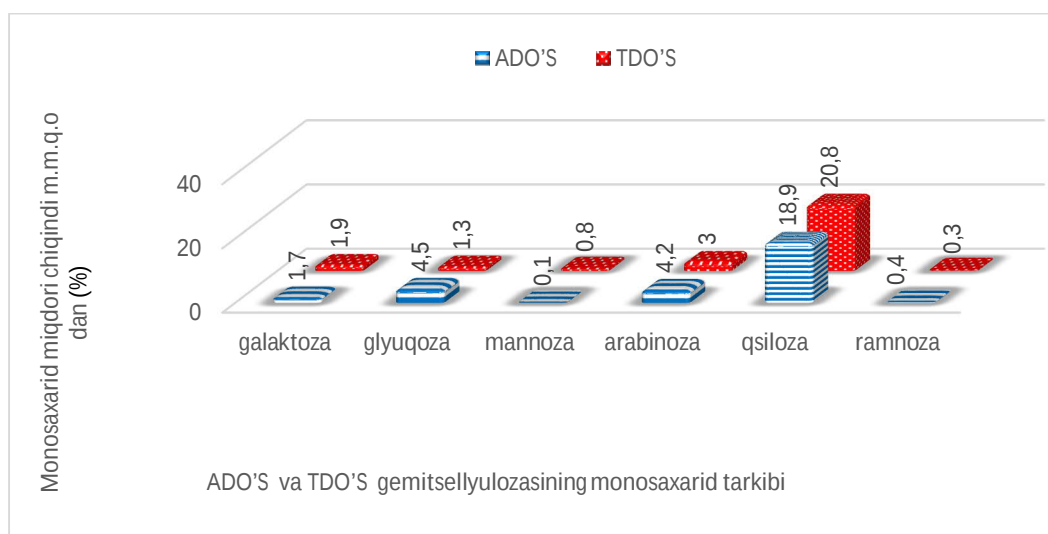
Ishning keyingi bosqichida biz ADO'S va TDO'S chiqindilaridagi gemitsellyulozaning miqdoriy tarkibini va uning monosaxarid tarkibini o'rgandik. Tajriba natijalari shuni ko'rsatdiki, chiqindilar tarkibida 26-27% gemitsellyuloza bor. Shu bilan birga, 25 °C haroratda 24 soat davomida 6% NaOH eritmasi bilan chiqindilarni uch marta ekstraktsiya qilish natijasida gemitsellyulozaning eng yuqori hosili olingan. Shu bilan birga, ADO'S va TDO'S chiqindilaridan gemitsellyuloza unumi mos ravishda 26,3-26,8% ni tashkil etdi (2-rasm).



1-rasm. ADO'S va TDO'S dorivor o'simliklar chiqindilaridan gemitsellyuloza hosili (mutlaq quruq moddaning %).

ADO'S va TDO'S lignoselülozli chiqindilarining gemitsellyulozasining monosaxarid tarkibini o'rganish natijalari shuni ko'rsatdiki, chiqindilarning monosaxarid tarkibi beshta uglerodli (ksiloza va arabinoza) va oltita uglerodli shakarlar (mannoz, galaktoza va glyukoza) bilan ifodalanadi [5]. ADO'S va TDO'S chiqindilarining har ikkala turidagi monosaxaridlarning eng katta ulushi pentoza shakar ksilozasidir (3-rasm).

Shu bilan birga, ADO'S ning kislota gidrolizatidagi ksiloza miqdori 18,9% ni tashkil etgan bo'lsa, TDO'S chiqindilarida ksiloza miqdori 1,9% ga yuqori bolib, 20,8% ni tashkil etdi.

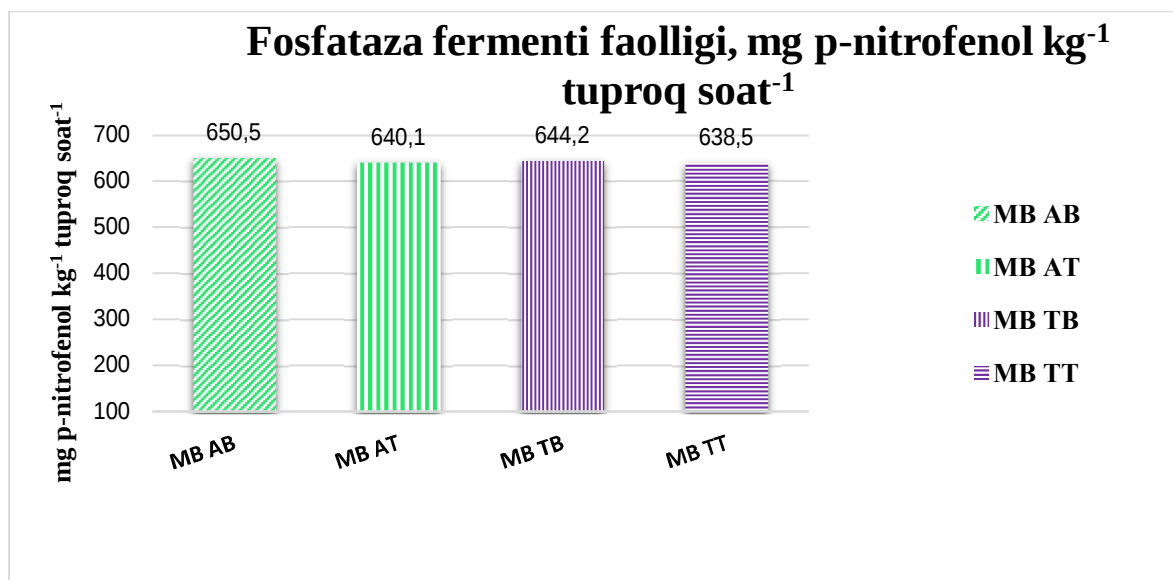


3-rasm. ADO'S va TDO'S gemitsellyulozasining monosaxarid tarkibi (mutlaq quruq moddaning %).

ADO'S va TDO'S gemitsellyulozalari kislotali gidrolizatini tegishli ravishda neytrallash va tozalashdan so'ng kristalli ksilozlarni olish mumkin. Shu bilan birga, ADO'S va TDO'S dan gemitsellyuloza unumi chiqindilarning og'irligi bo'yicha 26,3-26,8%, ksiloza esa 18,9-20,8% ni tashkil etdi.

ADO'S va TDO'S gidrolizatini tozalash jarayonida asosiy maqsadli mahsulotlardan (tsellyuloza, gemitsellyuloza, lignin) tashqari, ishlab chiqarishning qo'shimcha mahsuloti shaklida o'simlik materiallarining katta miqdordagi organik biomassasi hosil bo'ladi va bu biomassani tozalashdan so'ng MB olish uchun fosfat erituvchi mikroorganizmlarni etishtirish uchun yaxshi ozuqaga aylanqadi.

Fosfat erituvchi mikroblar tomonidan ishlab chiqariladigan fosfataza fermentlari fosforning turli efilari (fosfomonoesterlar) va fosfoangidrid birikmalarini gidroliz qilib, organik moddalarda fiksatsiyalangan fosforni minerallashuvini amalga oshiradi [24, 25]. Tuproqlarda fosfatazalar o'simliklar tomonidan mineral fosforning o'zlashtirilishiga ham yordam beradi. Fosfororganik birikmalar tuproq fosforining 20-80% gacha bo'lgan qismini tashkil qiladi va nuklein birikmalar, adenozin fosfor kislotasining hosilalari, fosfogumik komplekslar va kamroq darajada harakatlanuvchi shakar fosfatlari, glitserofosfatlar bilan ifodalanadi. Ular fermentativ gidroliz yo'l bilan fosfor kislotasi qoldiqlarini uzilishi oqibatida o'simliklar uchun o'zlashtiriluvchan holga otadi. [26,27].



4-rasm. Fosfataza fermenti faolligi mg p-nitrofenol kg⁻¹ tuproq soat⁻¹

MB larning fosfataza faolligini o'lchash natijalari shuni ko'rsatdiki, barcha MB lar yuqori fosfataza faolligiga ega. Shu bilan birga, MB AB eng yuqori fosfataza faolligini ko'rsatdi - 650,5 mg p-nitrofenol kg⁻¹ MB soat⁻¹. Fosfataza faolligining eng past darajasi MB TT bilan kuzatildi va 638,5 mg p-nitrofenol kg⁻¹ MB soat⁻¹ ni tashkil etdi. Shuni ta'kidlash kerakki, ADO'S gidrolizi chiqindilaridan olingan shro't asosida olingan MB AB va MB AT ADO'S T gidroliz chiqindilari asosida olingan MB TV va MB TT ga nisbatan ko'proq fosfataza faolligini (650,5-640,1) ko'rsatdi (644,2- 638,5 mg p-nitrofenol kg⁻¹ MB soat⁻¹ mos ravishda). Shu bilan birga, MB ning barcha turlari orasida *Bacillus subtilis* BS-26 shtammi asosida (ADO'S va TDO'S) gidroliz chiqindilarini fermentatsiyalash natijasida olingan MB eng yuqori fosfataza faolligini namoyon etadi. Bu shuni ko'rsatadiki, shro'tning kimyoviy tarkibi ham, mikroorganizm shtammining turi ham fosfat erituvchi mikroorganizmlar tomonidan fosfataza fermentini ishlab chiqarishga ta'sir qiladi. Bu esa tadqiqotchilarning natijalariga mos kelib [28,29,30], mineral va organik fosfatlarning erishi mikroorganizmlarning tur tarkibi va hayotiylikiga, ularning fosfataza fermentlari va organik kislotalarni ishlab chiqarishiga [30], shuningdek, shro'tning fizik-kimyoviy xususiyatlariga, hamda tuproqlarning genetik xususiyatlariga va dehqonchilik madaniyati darajasi bog'liq bo'ladi. [29,30].

Xulosa. Shunday qilib, dorivor o'simliklar chiqindilarining kimyoviy tarkibi tahlili shuni ko'rsatdiki, ADO'S va TDO'S tarkibidagi polisaxaridlarning umumiy miqdori xom ashyoning 65-67,7% ni tashkil etadi, bu ularni depolimerizatsiya qilish yoli bilan farmatsevtika, kimyo va biotexnologiya sanoati uchun qimmatbaho kimyoviy birikmalar olish uchun jozibador xomashyoga aylantiradi. Lignin tarkibiga ko'ra (18,4-13,4%), chiqindilar oziq-ovqat, farmatsevtika va parfyumeriya sanoati uchun turli xil aromatik va fenolik birikmalar ishlab chiqarish uchun xom ashyo bo'lishi mumkin. Kul tarkibi bo'yicha ikkala ob'ekt ham og'ir metallar va radionuklidlar uchun adsorbentlarni ishlab chiqarish uchun xom ashyo talablariga javob beradi. Chiqindilardagi pentoanlarning yuqori miqdori (28,7 - 27,3%) ularni gemitsellyuloza, ksiloza, ksilitol kabi qimmatbaho mahsulotlarni ishlab chiqarish uchun xom ashyo sifatida yoki furfural ishlab chiqarish uchun gidroliz ishlab chiqarishda foydalanish imkonini beradi. Bir tonna ADO'S va TDO'S chiqindilaridan pentoza qandlarini tegishli ravishda ajratib olish va tozalash bilan 189-208 kg gemitsellyuloza va 263-268 kg ksiloza olish mumkin.

Fosfat erituvchi mikroorganizmlar *Bacillus subtilis* BS-26 va *Trichoderma harzianum* F-888 tomonidan shro't gidrolizatining organik chiqindilarini fermentatsiyalash natijasida olingan

barcha MB yuqori fosfataza faolligini ko'rsatdi ($650,5-638,5 \text{ mg p-nitrofenol kg}^{-1} \text{ MB soat}^{-1}$). Shu bilan birga, MB AB eng yuqori fosfataza faolligini ko'rsatdi - $650,5 \text{ mg p-nitrofenol kg}^{-1} \text{ MB soat}^{-1}$. Fosfat erituvchi mikroorganizmlar tomonidan fosfataza fermentini ishlab chiqarishga shro'tning kimyoviy tarkibi ham, mikroorganizmning shtammi turi ham ta'sir qilishi aniqlandi.

Введение. Отходы лекарственных трав фармацевтических производств, побочные продукты сельскохозяйственных растений, древесные отходы лесного хозяйства и другие лигноцеллюлозные материалы являются потенциальными дешёвыми возобновляемыми ресурсами, которых можно использовать для получения биотоплива и других ценных продуктов, товаров народного потребления [1-3]. Лигноцеллюлозная биомасса в основном состоит из трех полимеров: целлюлозы (30-50%), гемицеллюлозы (15-35%) и лигнина (10-20%) вместе с небольшими количествами других компонентов, таких как пектин, белки, минералы и экстрактивные вещества, которые могут быть гидролизваны физико-химическим или биологическими способами, с образованием мономерных сахаров и различных ароматических соединений [2].

Благодаря высокому содержанию углеводов (60-70% от а.с.в. сырья), близкому к содержанию углеводов в зерновых культурах, отходы лекарственных трав является привлекательным сырьем для деполимеризации и получения ценных химических соединений для широкого народного потребления. В частности, высокое содержания гемицеллюлозы (15-35%) в отходах лекарственных трав делает их ценным источником сырья для получения гемицеллюлозы, ксилозы и ксилита – продуктов, нашедших применение в фармацевтической, пищевой, химической и бродильной промышленности. [4-5].

Утилизация лигноцеллюлозного растительного сырья, с получением гемицеллюлозы, ксилозы, ксилита и другие промышленно важные товары, представляет большой практический интерес. Гемицеллюлоза, второй главный компонент лигноцеллюлозного сырья, состоит из сахаров C-5 (ксилоза и арабиноза) и сахаров C-6 (манноза, галактоза и глюкоза) [5]. Натуральные гемицеллюлозы и ее производные, применяются в медицине в регуляции иммунной системы, ингибировании патогенной микрофлоры. Биоразлагаемые полимеры на основе гемицеллюлозы являются агентами доставки и контролируемой высвобождения противоопухолевых препаратов [5-9]. Доминирующую группу пентозных сахаров (до 80%) гемицеллюлозы представляет собой ксилоза [10]. Сладость ксилозы составляет примерно 50% сладости сахарозы. Организмом человека она практически не усваивается. Эта особенность позволяет использовать ее в качестве сахарозаменителя для больных диабетом. Использование ксилита (производного ксилозы), в производстве жевательных резин и зубных паст предотвращает образования зубного кариеса [11]

Гемицеллюлоза используется в терапии хронических воспалительно-дистрофических поражений желчного пузыря, кишечника, печени и желудка. Препарат применяют в комплексном лечении состояний, ассоциированных с резекцией либо облучением органов пищеварительной системы. Также применение препарата показано при недостаточной внешнесекреторной функции поджелудочной железы. [12-14].

Промышленное использование ксилозы основано на способности ее давать ряд ценных производных. Так, при восстановлении ксилозы водородом получается пятиатомный спирт ксилит, используемый наравне с глицерином для пластификации и регулирования влажности продукции в производстве некоторых сортов бумаги, целлофана, линолеума, тканей, табачных изделий, а также для синтеза ксилитана, сложных и простых эфиров, алкидных смол (ксифталей), поверхностно активных веществ, пластификаторов и т. д. [15-16]. При окислении ксилозы азотной кислотой образуется двухосновная

ксилотриоксиглутаровая кислота, используемая в пищевой промышленности наравне с лимонной кислотой, а также в качестве комплексообразователя при производстве редких металлов и т. д [12-13].

Таким образом, оценка возможности конверсии лигноцеллюлозных отходов лекарственных трав, с получением промышленно ценных товаров является актуальной задачей.

Целью данной работы является исследования химического состава шрота лекарственных трав *Aconitum septentrionale* (ШЛТА) и *Thermopsis alterniflora* (ШЛТТ) как вторичное сырьё для получения гемицеллюлозы и ксилозы, а также микробиологического биоудобрения (МБУ).

Объектом нашего исследования явились отходы ШЛТА и ШЛТТ, остающиеся после экстракции фармацевтических субстанций раствором 80 % -ного этанола, а также МБУ, полученный ферментацией органических отходов гидролизата шротов фосфатсольбилизирующими микроорганизмами *Bacillus subtilis* BS-26 и *Trichoderma harzianum*_F-888. При этом получена 4 вида МБУ различающийся видами субстрата и штамма микроорганизмов:

МБУ АВ – на основе субстрата ШЛТА и штамма *Bacillus subtilis* BS-26;

МБУ АТ – на основе субстрата ШЛТА и штамма *Trichoderma harzianum*_F-888;

МБУ ТВ – на основе субстрата ШЛТТ и штамма *Bacillus subtilis* BS-26;

МБУ ТТ – на основе субстрата ШЛТТ и штамма *Trichoderma harzianum*_F-888;

В исходном отходе определяли содержания основных компонентов стандартными методами [17]. Полученные результаты пересчитывали на абсолютно сухую массу вещества.

Шрот - биомасса отходов лекарственных трав представляет собой мелкую стружку длиной 2-5 мм, толщиной 1-3 мм. Шрот предварительно высушивали при $(103 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 3 ч для доведения до равновесной влажности.

Зольность исследуемого сырья определяли прокаливанием в муфельной печи при $575 \pm 25^\circ\text{C}$ в течении 3 - 4 часов. Целлюлозы определяли азотно-спиртовым методом. Содержания лигнина в биомассе отходов определяли количественным выделением, предварительно удаляя экстрактивные вещества и гидролизом полисахаридов концентрированными минеральными кислотами. Для экстракции и определения количества гемицеллюлозы 10 г растительных отходов ШЛТА и ШЛТТ помещали в плоскодонную коническую колбу объемом 100 мл, и приливали 30 мл 0,5% водного раствора цитрата аммония, перемешивали и проводили экстракцию выжимок на водяной бане при температуре 70°C в течение 2 часов, после чего экстракт отделяли от выжимок, процеживали через двойной слой марли. После отделения экстракта оставшиеся выжимки промывали водой по 20 мл. три раза. Далее выжимки помещали в экстракционную камеру, приливали по 200 мл различных концентраций (3; 4; 5; 6; 7; 8 %) водного раствора NaOH и экстрагировали при комнатной температуре (25°C) 24 часа. После трехкратной экстракции щелочные экстракты фильтровали бумажным фильтром, объединяли экстракты, концентрировали под вакуумом примерно до 1/10 первоначального объема, подкисляли концентрированной уксусной кислотой до pH 5. При этом гемицеллюлоза выпадают в осадок. Надосадочную жидкость сифонировали, осадок центрифугировали при 3000 об./мин, промывали дважды диэтиловым эфиром по 50 мл и высушивали в токе воздуха до полного удаления эфира. [18].

Кислотный гидролиз для определения моносахаридного состава гемицеллюлозы проводили H_2SO_4 концентрацией 1 моль/л. [19]. Моносахариды в гидролизатах определяли хроматографическим методом. Разделение сахаров провели нисходящим способом при

непрерывном протекании растворителя по бумаге. В качестве растворителя использовали смесь этилацетат - пиридин - вода в соотношении 5:1:5. Жиро-восковую фракцию определяли экстрагированием растительного сырья спирто - толуольной смесью (1:1) по Оболенскому [17].

Исследование фосфатазной активности МБУ. Для исследования фосфатазной активности 1 г воздушно-сухой МБУ помещали в 50 мл колбу Эрленмейера с притертыми пробками, добавляют 4 мл универсального буфера (рН 6,5), 0,25 мл толуола и 1 мл 0,115 М раствора п-нитрофенилфосфата натрия (паранитрофенилфосфат-ПНФФ) и смесь перемешивают 5 мин. Колбу закрывают и помещают в термостат на 1 ч при 37 °С. После инкубации добавляют 1 мл 0,5 М гидроокиси натрия, перемешивают 5 мин. и суспензию фильтруют через беззольный фильтр в мерную колбу на 50 см³. Фильтрат окрашен в жёлтый цвет от освобождённого п-нитрофенола.

Плотность жёлтой окраски фильтрата измеряют на фотоколориметре с синим светофильтром (400-420 нм). Количество освобождённого п-нитрофенола вычисляют по калибровочной кривой, составленной из стандартных растворов п-нитрофенола. Активность фосфатазы выражают в мг п-нитрофенола кг⁻¹ МБУ час⁻¹ [20].

Обсуждение результатов

В первом этапе исследований определяли химический состав отходов ШЛТА и ШЛТТ. Результаты исследования химического состава отходов лекарственных трав показали, что основной составной частью растительного сырья ШЛТА и ШЛТТ являются углеводные компоненты – целлюлоза (36,3-40,4% соответственно), и пентозные сахара, количество которых в отходах ШЛТА составило 28,7 %, в то время, как у ШЛТТ этот показатель составил 27,3%. Целлюлоза в основном состоит из мономеров глюкозы которая могут быть гидролизваны физико-химическим или биологическими способами, с образованием сбраживаемых сахаров для микробиологической конверсии с получением ценных товаров микробиологического происхождения [2]. Пентозаны, второй главный компонент лигноцеллюлозного сырья, состоят в основном из С-5 сахаров (ксилоза и арабиноза) и С-6 сахаров (манноза, галактоза и глюкоза) [5] и применяются в медицине в регуляции иммунной системы, ингибировании патогенной микрофлоры, в терапии хронических воспалительно-дистрофических поражений желчного пузыря, кишечника, печени, желудка и как биоразлагаемые полимеры являются агентами доставки и контролируемой высвобождения фармацевтических препаратов [6-10]

Благодаря высокому содержанию углеводов (65-67,7% от а.с.в. сырья), отходы лекарственных трав является привлекательным сырьем для деполимеризации и получения ценных химических соединений для широкого народного потребления.

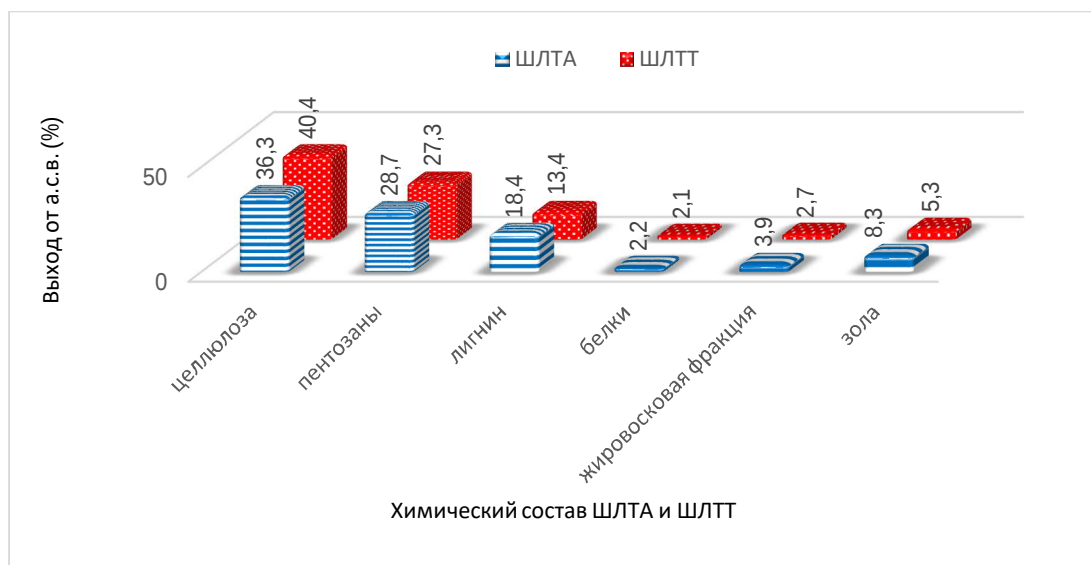


Рисунок 1. Химический углеводов лигноцеллюлозного сырья - отходов лекарственных трав ШЛТА и ШЛТТ (% от а.с.в)

Вторым по количеству компонентом растительного сырья является лигнин – неуглеводный компонент, содержание которого в отходах составило 18,4 и 13,4 %, соответственно. Лигнины - это природные фенольные макромолекулы, которые присутствуют в стенках растительных клеток, состоящих из трех основных фенилпропановых единиц, являющихся производными ароматических спиртов: п-кумарилового, кониферилового и синапилового. Лигнин имеет весьма сложную аморфную структуру, состоящую из фенилпропановых фрагментов, хаотично сшитых между собой С-С- и С-О-связями. В растительных клетках лигнин функционирует в качестве биологического барьера и «клея» для связывания между собой гемицеллюлоз и целлюлозы [21]. При окислительной или восстановительной деструкции лигнина образуются различные ароматические и фенольные соединения.

Благодаря своей уникальной структуре лигнин также имеет значительный потенциал для химической переработки в ценные продукты, в том числе для производства химикатов фенольной и ароматической природы, а также жидких топлив [22]. Ароматические альдегиды являются ценным сырьем для пищевой, фармацевтической и парфюмерной отраслей промышленности. Например, сиреневый альдегид (3,5-диметоксибензальдегид) целесообразно использовать для производства триметоксибензальдегида, из которого затем получают лекарственный препарат триметоприм - компоненты бактрима, бисептола и других фармацевтических препаратов [23]. Крупномасштабным направлением утилизации гидролизного лигнина является получение сорбентов.

Неуглеводные вещества отхода – содержания белков в отходах ШЛТА и ШЛТТ 2,2-2,1 % соответственно, жиро-восковая фракция ШЛТА составляет 3,9%, в то время как у ШЛТТ -2,7%. Содержания зольные элементов составил – 8,3-5,3 %, соответственно.

Содержание пентозанов в отходах ШЛТА составляет - 28,7 %, а в отходах ШЛТТ – 27,3 %, что сопоставляемо с техническими сельскохозяйственными культурами 32,6-34,3% [21]. Высокие содержания пентозанов в отходах ШЛТА и ШЛТТ позволяют их применять как дешёвая сырьё для получения гемицеллюлозы, ксилозы, ксилита или гидролизном производстве для получения фурфурола. Гемицеллюлоза, ксилоза как уже сказано выше используются в медицине, химической и биотехнологической промышленности. Фурфурол применяется в нефтепереработке для экстракционной очистки масляных фракций от примесей олефинов и ароматических соединений, для разделения фракций растительных

жиров - триглицеридов. Традиционным и основным направлением переработки фурфурола является его гидрирование в фурфуриловый спирт и синтез из него различных термостойких смол [1].

При сжигании биомассы растений остается ее неорганическая часть – зола, которая находится в пределах 8,3 % от сухого вещества в ШЛТА и 5,3 % у ШЛТТ. По содержанию золы обе пробы удовлетворяют требованиям к сырью для получения адсорбентов (активированного угля) [22].

Следующем этапе работ нами исследовано количественное содержание гемицеллюлозы в отходах ШЛТА и ШЛТТ и ее моносахаридный состав. Результаты эксперимента показали, что в отходах содержатся 26-27% гемицеллюлозы. При этом наибольший выход гемицеллюлозы получен при трехкратной экстракции отходов 6% ным раствором NaOH в течение 24 ч при температуре 25 °С. При этом выход гемицеллюлозы из отходов ШЛТА и ШЛТТ составил 26,3-26,8 % соответственно (рис. 2).

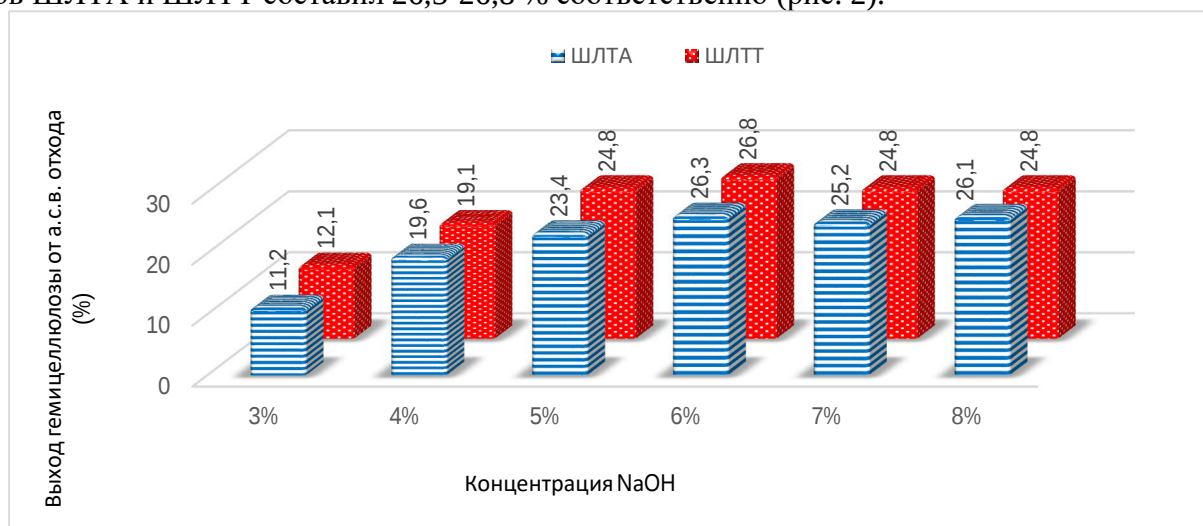


Рисунок 2. Выход гемицеллюлозы из отходов лекарственных трав ШЛТА и ШЛТТ (% от а.с.в.).

Результаты исследования моносахаридного состава гемицеллюлозы лигноцеллюлозных отходов ШЛТА и ШЛТТ показали, что моносахаридный состав отходов представлены пяти углеродными (ксилозы и арабинозы) и шести углеродными сахарами (маннозы, галактозы и глюкозы) [5]. Наибольшую долю моносахаридов обоих видов отхода ШЛТА и ШЛТТ составляет пентозный сахар ксилоза (рис. 3).

При этом содержания ксилозы кислотного гидролизата ШЛТА составил 18,9 %, в то время как в отходах ШЛТТ содержания ксилозы на 1,9 % больше и составил 20,8 %.

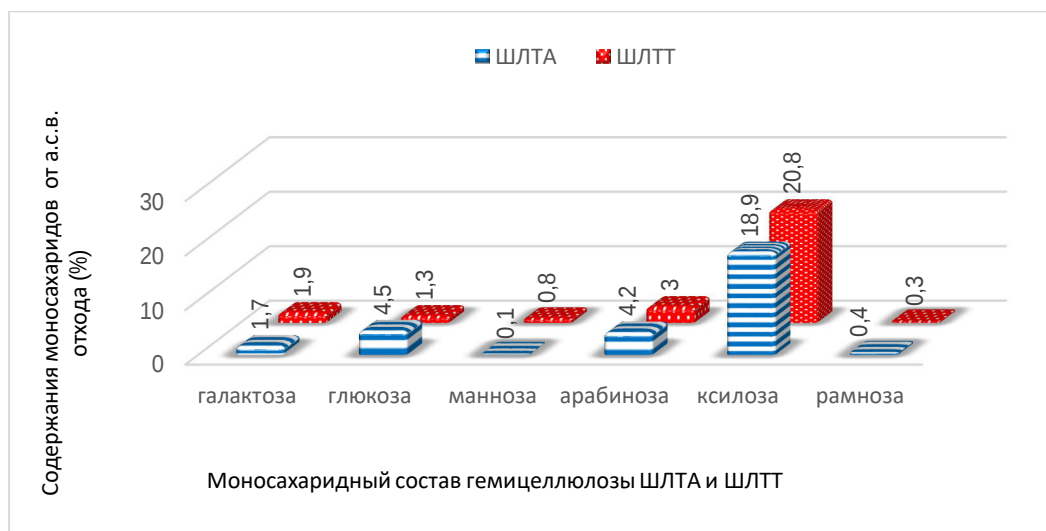


Рисунок 3. Моносахаридный состав гемицеллюлозы ШЛТА и ШЛТТ (% от а.с.в).

После соответствующей нейтрализации и очистки кислотного гидролизата гемицеллюлозы ШЛТА и ШЛТТ можно получить кристаллический ксилозы. При этом выход гемицеллюлозы из ШЛТА и ШЛТТ составил 26,3-26,8%, ксилозы 18,9-20,8 % от массы отхода.

В процессе очистки гидролизата ШЛТА и ШЛТТ, помимо основных целевых продуктов (целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин), образуется значительное количество органической биомассы растительного сырья в виде побочных продуктов производства, которые, после облагораживания являются хорошим субстратом для культивирования фосфатсольюбилизирующих микроорганизмов с получением МБУ.

Фосфатазы продуцируемые фосфатсольюбилизирующими микробами, гидролизуют разнообразные сложноэфирные (фосфомоноэфиры) и фосфоангидридные соединения фосфора, осуществляя минерализацию закрепленного в органическом веществе фосфора [24,25]. В почвах фосфатазы также и способствуют усвоению минерального фосфора растениями. Фосфорорганические соединения составляют от 20 до 80% часть фосфора почвы и представлены нуклеиновыми соединениями, производными аденозинфосфорной кислоты, фосфогуминовыми комплексами и в меньшем количестве подвижными сахарофосфатами, глицерофосфатами, которые переходят в доступное для растений состояние при ферментативном гидролизе с отщеплением остатков фосфорной кислоты [26,27]

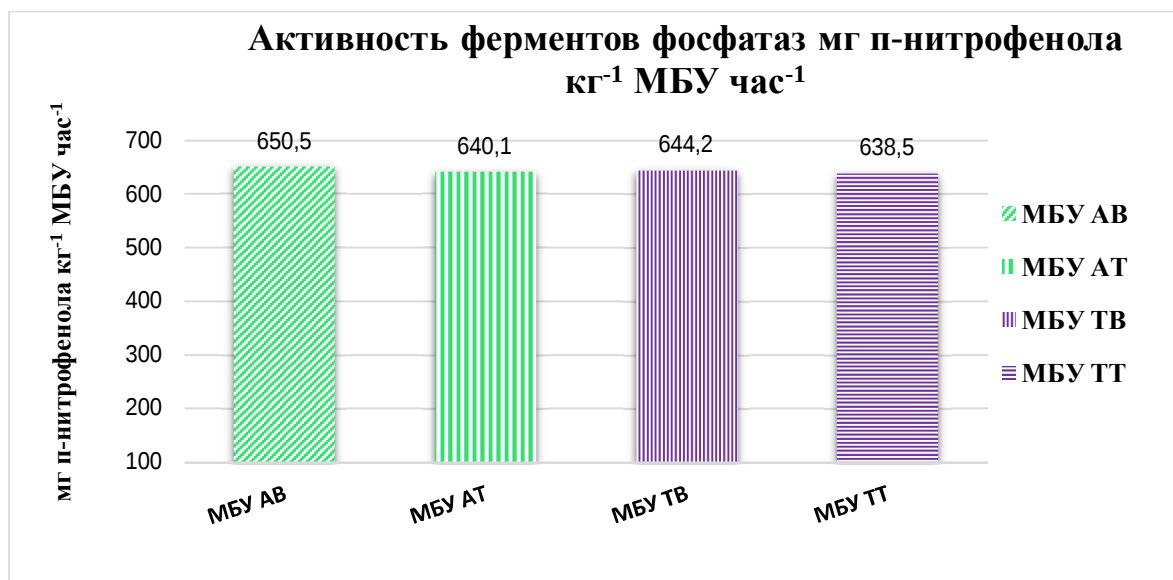


Рисунок 4. Активность ферментов фосфатаз мг п-нитрофенола кг⁻¹ МБУ час⁻¹

Результаты измерения фосфатазной активности МБУ, показали, что все МБУ обладают высокой фосфатазной активностью. При этом наибольшей фосфатазной активностью проявил МБУ АВ - 650,5 мг п-нитрофенола кг⁻¹ МБУ час⁻¹. Наименьший уровень фосфатазной активности наблюдается МБУ ТТ и составил 638,5 мг п-нитрофенола кг⁻¹ МБУ час⁻¹. Необходимо отметить, что МБУ АВ и МБУ АТ полученные на основе субстрата из отходов гидролиза ШЛТА проявляют большей фосфатазной активности (650,5-640,1) по сравнению с МБУ ТВ и МБУ ТТ, полученные на основе отходов гидролиза ШЛТТ (644,2-638,5 мг п-нитрофенола кг⁻¹ МБУ час⁻¹ соответственно). При этом среди всех видов МБУ наибольшей фосфатазной активности проявляет МБУ полученные ферментацией отходов гидролиза (ШЛТА и ШЛТТ) на основе штамма *Bacillus subtilis* BS-26. Это говорит о том, что для выработки фермента фосфатазы фосфатсольюбилизирующими микроорганизмами влияет как химический состав субстрата, так и вид штамма микроорганизма, что соответствует результатам исследователей [28,29,30], которые установили, что эффективность фосфатсольюбилизации минеральных и органических фосфатов зависит от видового состава и жизнеспособности микроорганизмов, продукции ими ферментов фосфатаз и органических кислот [30], а также, физико-химических свойств субстрата, а также генетических особенностей почв и уровнем культуры земледелия [29,30].

Выводы. Таким образом анализ химического состава растительных отходов лекарственных трав показали, что суммарное содержание полисахаридов в ШЛТА и ШЛТТ (65-67,7% от а.с.в. сырья), что делает их привлекательным сырьем для деполимеризации и получения ценных химических соединений для фармацевтической, химической и биотехнологической промышленности с получением ценных товаров народного потребления. По содержанию лигнина (18,4-13,4%) отходы могут быть сырьем для получения различных ароматических и фенольных соединений для пищевой, фармацевтической и парфюмерной промышленности. По содержанию золы оба объекта удовлетворяют требованиям к сырью для получения адсорбентов тяжелых металлов и радионуклидов. Высокое содержание пентозанов в отходах (28,7 – 27,3%) позволяет применять их как сырьё для получения таких ценных товаров как гемицеллюлозы, ксилозы, ксилита или в гидролизном производстве для получения фурфурола. При соответствующей экстракции и очистки пентозных сахаров из тонны отходов ШЛТА и ШЛТТ можно получить 189-208 кг гемицеллюлозы и 263-268 кг ксилозы.

Все МБУ, полученные ферментацией органических отходов гидролизата шротов фосфатсольбилизирующими микроорганизмами *Bacillus subtilis* BS-26 и *Trichoderma harzianum*_F-888 показали высокой фосфатазной активностью (650,5-638,5 мг п-нитрофенола кг⁻¹ МБУ час⁻¹). При этом наибольшей фосфатазной активностью проявил МБУ АВ - 650,5 мг п-нитрофенола кг⁻¹ МБУ час⁻¹. Установлено, что для выработки фермента фосфатазы фосфатсольбилизирующими микроорганизмами влияет как химический состав субстрата, так и вид штамма микроорганизма.

Introduction. Waste medicinal herbs of pharmaceutical production, by-products of agricultural plants, wood waste from forestry and other lignocellulosic materials are potential cheap renewable resources that can be used to produce biofuels and other valuable products, consumer goods [1-3]. Lignocellulosic biomass mainly consists of three polymers: cellulose (30-50%), hemicellulose (15-35%) and lignin (10-20%) along with small amounts of other components such as pectin, proteins, minerals and extractive substances, which can be hydrolyzed by physical and chemical or biological methods to form monomeric sugars and various aromatic compounds [2].

Due to the high content of carbohydrates (60-70% of a.c.v. of raw materials), which is close to the content of carbohydrates in grain crops, the waste herbs are an attractive raw material for depolymerization and obtaining valuable chemical compounds for wide consumption. In particular, the high content of hemicellulose (15-35%) in medicinal herbage makes them a valuable source of raw materials for obtaining hemicellulose, xylose and xylite, products that have found application in pharmaceutical, food, chemical and fermentation industries. [4-5].

The utilization of lignocellulosic plant raw materials, with the production of hemicellulose, xylose, xylite and other industrially important products, is of great practical interest. Hemicellulose, the second major component of lignocellulosic raw materials, consists of C-5 sugars (xylose and arabinose) and C-6 sugars (mannose, galactose and glucose) [5]. Natural hemicelluloses and their derivatives, are used in medicine in the regulation of the immune system, inhibition of pathogenic microflora. Biodegradable polymers based on hemicellulose are agents of delivery and controlled release of anticancer drugs [5-9]. The dominant pentose sugar group (up to 80%) of hemicellulose is xylose [10]. The sweetness of xylose is approximately 50% of the sweetness of sucrose. The human body does not practically digest it. This peculiarity allows using it as a sweetener for diabetics. The use of xylitol (a derivative of xylose) in the production of chewing gum and toothpaste prevents dental caries [11].

Hemicellulose is used in therapy of chronic inflammatory-dystrophic lesions of the gallbladder, intestines, liver and stomach. The drug is used in the complex treatment of conditions associated with resection or irradiation of the organs of the digestive system. Also use of the drug is shown with insufficient external secretory function of the pancreas. [12-14].

Industrial use of xylose is based on its ability to produce a number of valuable derivatives. For example, xylose reduced with hydrogen produces five-atom alcohol xylite which is used together with glycerin for plasticizing and regulating humidity of products in production of some kinds of paper, cellophane, linoleum, cloth, tobacco products and also for synthesis of xylitane, esters and ethers, alkyd resins (xiftalum), surfactants, plasticizers and etc. [15-16]. Oxidation of xylose with nitric acid produces biaxose xylotrioxylglutaric acid used in food industry on a par with citric acid as well as a complexing agent in the production of rare metals etc. [12-13].

Thus, the assessment of the possibility of conversion of lignocellulosic wastes of medicinal herbs with obtaining industrially valuable goods is an urgent task.

The purpose of this work is to study the chemical composition of the herb meal of *Aconitum septentrionale* (AHM) and *Thermopsis alterniflora* (THM) as a secondary raw material for hemicellulose and xylose as well as microbiological biofertilizer (MB).

The object of our study were wastes of AHM and THM, after extraction of pharmaceutical substances with 80% ethanol solution, as well as MB obtained by fermentation of organic waste hydrolysis of meal with phosphate-solubilizing microorganisms *Bacillus subtilis* BS-26 and *Trichoderma harzianum* F-888. At the same time four types of MB differing in types of substrate and microbial strain were obtained:

MB AB - based on substrate AHM and strain *Bacillus subtilis* BS-26;

MB AT - based on substrate AHM substrate and *Trichoderma harzianum* strain F-888;

MB TB - based on substrate THM and strain *Bacillus subtilis* BS-26;

MB TT - based on substrate THM and strain *Trichoderma harzianum* F-888;

The content of the main components in the initial waste was determined by standard methods [17]. The results were converted to absolutely dry mass of the substance (a.d.m).

Meal - biomass of waste herbs is a fine shavings 2-5 mm long, 1-3 mm thick. The meal was pre-dried at $(103 \pm 2)^\circ\text{C}$ for 3 h to bring it to an equilibrium moisture content.

Ash content of the studied raw materials was determined by calcination in a muffle furnace at $575 \pm 25^\circ\text{C}$ for 3 - 4 hours. Cellulose was determined by nitrogen-alcohol method. The content of lignin in waste biomass was determined by quantitative extraction, preliminarily removing extractive substances and by hydrolysis of polysaccharides with concentrated mineral acids. For extraction and determination of the amount of hemicellulose, 10 g of plant waste AHM and THM were placed in a 100 ml flat-bottomed conical flask, and 30 ml of 0.5% aqueous solution of ammonium citrate was added, stirred and the extract was extracted in a water bath at 70°C for 2 hours. After which the extract was separated from the extract, filtered through a double layer of gauze. After separating the extract, the remaining extracts were washed with 20 ml water three times each. Next, the pomace was placed in an extraction chamber, 200 ml of different concentrations (3; 4; 5; 6; 7; 8 %) of NaOH aqueous solution were added and extracted at room temperature (25°C) for 24 hours. After three times extraction alkaline extracts were filtered with a paper filter, the extracts were combined, concentrated under vacuum to about 1/10 of the original volume, acidified with concentrated acetic acid to pH 5. The hemicellulose precipitated. The supernatant was siphoned, the precipitate was centrifuged at 3000 rpm, washed twice with 50 mL diethyl ether and dried in a current of air until the ether was completely removed. [18].

Acid hydrolysis to determine the monosaccharide composition of hemicellulose was performed with H_2SO_4 at a concentration of 1 mol/L. [19]. Monosaccharides in hydrolysates were determined by chromatographic method. Separation of sugars was carried out by top-down method with continuous flow of solvent on paper. Ethyl acetate-pyridine-water mixture in the ratio 5:1:5 was used as a solvent. Fat-wax fraction was determined by extraction of plant raw material with alcohol-toluene mixture (1:1) according to Obolensky [17].

Study of MB phosphatase activity. To investigate the phosphatase activity 1 g of air-dry MB was placed in a 50 ml Erlenmeyer flask with lapped plugs, 4 ml of universal buffer (pH 6.5), 0.25 ml of toluene and 1 ml of 0.115 M sodium p-nitrophenylphosphate (paranitrophenylphosphate-PNPP) solution were added and the mixture was stirred for 5 min. The flask is closed and placed in the thermostat for 1 h at 37°C . After incubation 1 ml of 0.5 M sodium hydroxide was added, the mixture was stirred for 5 min and the suspension was filtered through an ash-free filter into a 50 cm³ volumetric flask. The filtrate is colored yellow from the released p-nitrophenol.

The density of the yellow color of the filtrate is measured on a photocolorimeter with a blue filter (400-420 nm). The amount of released p-nitrophenol is calculated from a calibration

curve of standard solutions of p-nitrophenol. Phosphatase activity is expressed in mg p-nitrophenol kg^{-1} MB hour^{-1} [20].

Discussion of results

In the first stage of the research, the chemical composition of AHM and THM wastes was determined. The results of the study of the chemical composition of medicinal herbs waste showed that the main constituent part of plant raw materials AHM and THM are carbohydrate components - cellulose (36.3-40.4% respectively), and pentose sugars, whose amount in AHM waste was 28.7%, while for THM this indicator was 27.3%. Cellulose mainly consists of glucose monomers which can be hydrolyzed by physical and chemical or biological methods to form digestible sugars for microbiological conversion to produce valuable microbiological goods [2]. Pentosans, the second major component of lignocellulosic raw materials, consist mainly of C-5 sugars (xylose and arabinose) and C-6 sugars (mannose, galactose and glucose) [5] and are used in medicine in regulating the immune system, inhibiting pathogenic microflora in the therapy of chronic inflammatory-dystrophic lesions of the gallbladder, intestines, liver, stomach, and as biodegradable polymers are agents of pharmaceutical drug delivery and controlled release [6-10].

Due to its high carbohydrate content (65-67.7% of the a.d.m. of the raw material), herbal waste products are attractive raw materials for depolymerization and production of valuable chemical compounds for general consumer use.

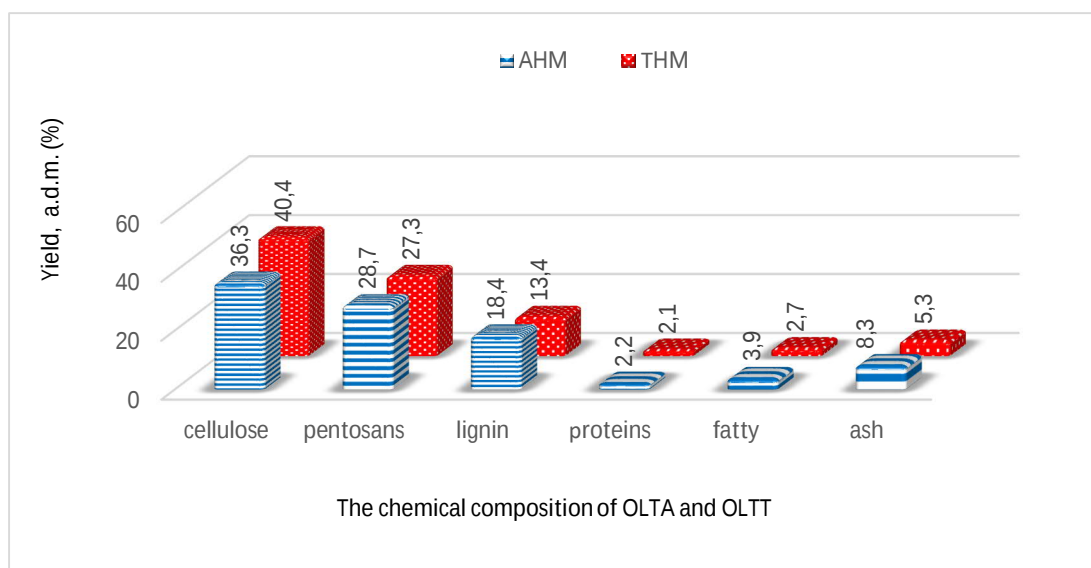


Figure 1. Chemical carbohydrates of lignocellulosic raw materials - waste herbs AHM and THM (% of a.d.m)

The second largest component of plant raw materials is the non-carbohydrate component lignin, the content of which in the waste was 18.4 and 13.4 %, respectively. Lignins are natural phenolic macromolecules that are present in plant cell walls, consisting of three basic phenylpropane units, which are derivatives of aromatic alcohols: n-coumaryl, coniferyl, and synapyl. Lignin has a highly complex amorphous structure consisting of phenylpropane fragments chaotically cross-linked by C-C- and C-O-bonds. In plant cells, lignin functions as a biological barrier and a "glue" for binding hemicelluloses and cellulose [21]. Various aromatic and phenolic compounds are formed during oxidative or reductive degradation of lignin.

Due to its unique structure, lignin also has considerable potential for chemical processing into valuable products, including the production of chemicals of phenolic and aromatic nature, as well as liquid fuels [22]. Aromatic aldehydes are valuable raw materials for food, pharmaceutical

and perfume industries. For example, lilac aldehyde (3,5-dimethoxybenzaldehyde) is expedient to use for the production of trimethoxybenzaldehyde, from which the drug trimethoprim is then produced - components of bactrim, biseptol and other pharmaceuticals [23]. A large-scale area of utilization of hydrolysis lignin is the production of sorbents.

Non-carbohydrate waste substances - the contents of proteins in AHM and THM wastes are 2.2-2.1 %, respectively, the fat-wax fraction of AHM is 3.9 %, while that of THM is 2.7 %. The content of ash elements was 8.3-5.3 %, respectively.

The content of pentosans in AHM wastes was 28.7 %, and in THM wastes - 27.3 %, which is comparable with technical agricultural crops 32.6-34.3 % [21]. The high content of pentosans in AHM and THM wastes allows their use as a cheap raw material for the production of hemicellulose, xylose, xylite, or in hydrolysis to produce furfural. Hemicellulose, xylose as mentioned above are used in medicine, chemical and biotechnological industries. Furfural is used in oil refining for extraction purification of oil fractions from impurities of olefins and aromatic compounds and for separation of vegetable fat fractions - triglycerides. Traditional and main direction of furfural processing is its hydrogenation into furfuryl alcohol and synthesis of various heat-resistant resins from it [1].

When burning plant biomass its inorganic part remains - ash, which is in the range of 8.3 % of dry matter in AHM and 5.3 % in THM. In terms of ash content, both samples meet the requirements for raw materials for production of adsorbents (activated carbon) [22].

At the next stage of the work, we investigated the quantitative content of hemicellulose in AHM and THM wastes and its monosaccharide composition. The results of the experiment showed that the waste contains 26-27% hemicellulose. The highest yield of hemicellulose was obtained by triple extraction of wastes with 6% NaOH solution for 24 hours at 25 °C. The yield of hemicellulose from AHM and THM wastes was 26.3-26.8 %, respectively (Fig. 2).

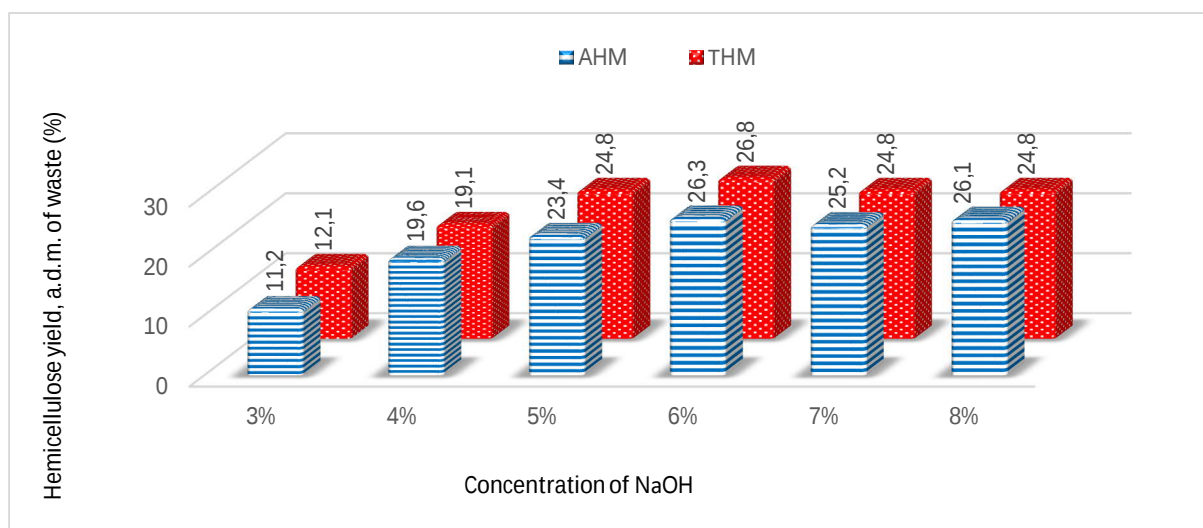


Figure 2. Hemicellulose yield from AHM and THM medicinal herb waste (% of absolutely dry matter).

The results of the study of the hemicellulose monosaccharide composition of the lignocellulosic waste AHM and THM showed that the monosaccharide composition of the waste is represented by five carbon (xylose and arabinose) and six carbon sugars (mannose, galactose and glucose) [5]. The pentose sugar xylose makes up the largest proportion of the monosaccharides of both AHM and THM waste types (Fig. 3).

At the same time, the xylose content of acid hydrolysate of AHM was 18.9 %, while the xylose content of THM waste was 1.9 % higher and amounted to 20.8 %.

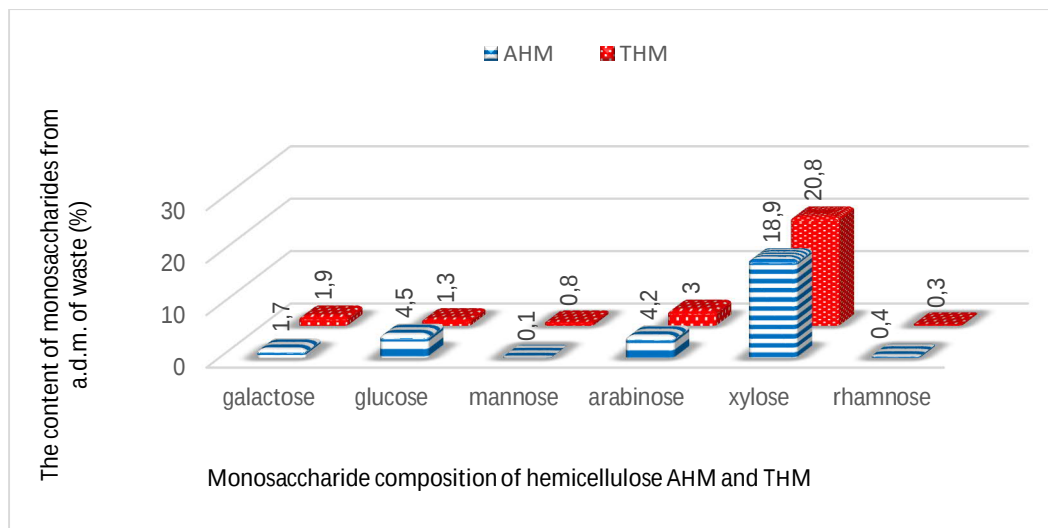


Figure 3. Monosaccharide composition of AHM and THM hemicellulose (% of a.d.m).

After appropriate neutralization and purification of the acidic hydrolysate of hemicellulose AHM and THM, crystalline xylose can be obtained. The yield of hemicellulose from AHM and THM was 26.3-26.8%, xylose 18.9-20.8% of waste weight.

In addition to the main target products (cellulose, hemicellulose, lignin), a significant amount of organic biomass of plant raw materials in the form of by-products is formed during the process of AHM and THM hydrolysis purification, which, after ennoblement are good substrates for the cultivation of phosphate-solubilizing microorganisms to produce MB.

Phosphatases produced by phosphate-solubilizing microbes hydrolyze various ester (phosphomonoether) and phosphoanhydride phosphorus compounds, mineralizing the phosphorus fixed in the organic matter [24,25]. In soils, phosphatases also contribute to the assimilation of mineral phosphorus by plants. Organophosphorus compounds account for 20 to 80% of soil phosphorus and are represented by nucleic compounds, derivatives of adenosine phosphoric acid, phosphogumin complexes, and in lesser amounts mobile saccharophosphates, glycerophosphates, which pass into a plant-available state during enzymatic hydrolysis with detachment of phosphoric acid residues [26,27].

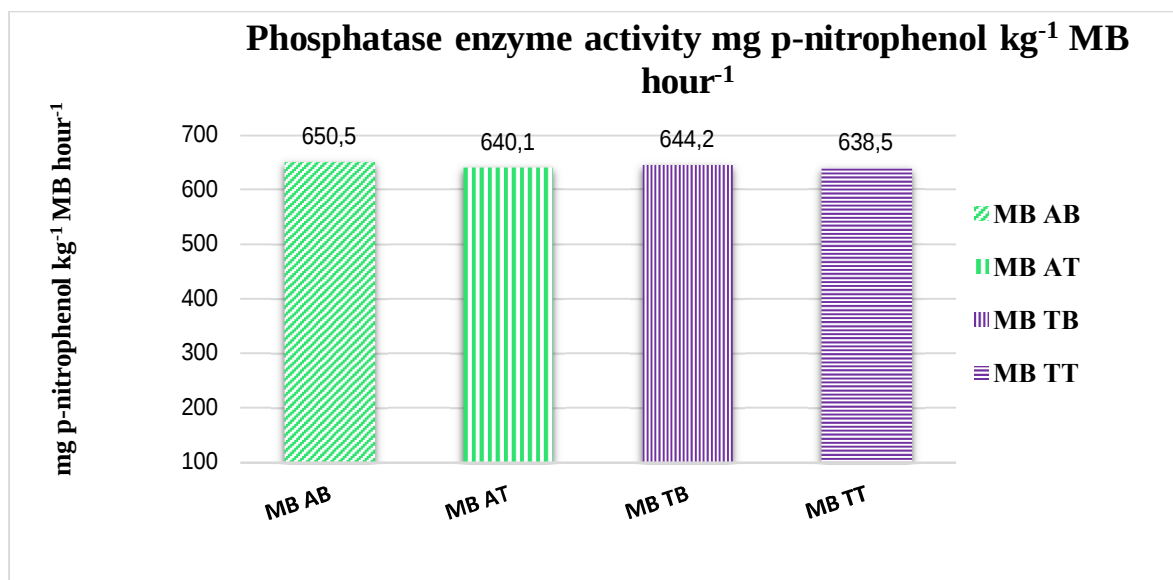


Figure 4. Phosphatase enzyme activity mg p-nitrophenol kg⁻¹ soil hour⁻¹

The results of measuring the phosphatase activity of MB, showed that all MBs have high phosphatase activity. Moreover, MB AB showed the highest phosphatase activity - 650.5 mg p-nitrophenol kg⁻¹ MB hour⁻¹. The lowest level of phosphatase activity was observed in MB TT and amounted to 638.5 mg p-nitrophenol kg⁻¹ MB hour⁻¹. It should be noted, that MB AB and MB AT obtained on the basis of substrate from AHM hydrolysis wastes exhibit the higher phosphatase activity (650.5-640.1) in comparison with MB TV and MB TT obtained on the basis of AHM hydrolysis wastes (644.2-638.5 mg p-nitrophenol kg⁻¹ MB hour⁻¹, respectively). Among all types of MB the highest phosphatase activity was shown by MB obtained by fermentation of hydrolysis wastes (AHM and THM) based on *Bacillus subtilis* strain BS-26. This suggests that, for phosphatase enzyme production by phosphate-solubilizing microorganisms, both the chemical composition of the substrate and the type of microbial strain are influential, which is consistent with the results of researchers [28,29,30]. Who found, that, the efficiency of phosphate-solubilization of mineral and organic phosphates depends on the species composition and viability of microorganisms, their production of phosphatase enzymes and organic acids [30], as well as, on the physical and chemical properties of the substrate and the genetic features of soils and the level of farming culture [29,30].

Conclusions. Thus, the analysis of the chemical composition of plant wastes of medicinal herbs showed that the total polysaccharide content in AHM and THM (65-67.7% of a.c.m. of raw materials), which makes them an attractive raw material for depolymerization and obtaining valuable chemical compounds for pharmaceutical, chemical and biotechnological industries with obtaining valuable consumer goods. According to the lignin content (18.4-13.4%), the wastes can be a raw material for obtaining various aromatic and phenolic compounds for the food, pharmaceutical and perfume industries. In terms of ash content, both objects meet the requirements for raw materials for obtaining adsorbents of heavy metals and radionuclides. High pentosan content in wastes (28.7 - 27.3%) allows to use them as a raw material for production of such valuable goods as hemicellulose, xylose, xylite or in hydrolysis production for production of furfural. With proper extraction and purification of pentose sugars from a ton of waste AHM and THM can be obtained 189-208 kg of hemicellulose and 263-268 kg of xylose. From hydrolysis waste hydrolysis and chalk sludge, thickened sewage treatment plant sludge.

All MBs obtained by fermentation of organic waste hydrolysis meal with phosphate-solubilizing microorganisms *Bacillus subtilis* BS-26 and *Trichoderma harzianum* F-888 showed

high phosphatase activity (650.5-638.5 mg p-nitrophenol kg⁻¹ MB hour⁻¹.) At the same time, MB AB showed the highest phosphatase activity, 650.5 mg p-nitrophenol kg⁻¹ MB hour⁻¹. It was found, that the production of phosphatase enzyme by phosphate-solubilizing microorganisms is influenced by both the chemical composition of the substrate and the type of microorganism strain.

References

1. Brethauer, S., and Studer, M. H. (2015). Biochemical conversion processes of lignocellulosic biomass to fuels and chemicals—a review. *Chimia* 69, 572–581. doi: 10.2533/chimia.2015.572.
2. Caicedo, M., Barros, J., and Ord6s, B. (2016). Redefining agricultural residues as bioenergy feedstocks. *Materials* 9:E635. doi: 10.3390/ma 9080635.
3. Kim, S. (2018a). Evaluation of alkali-pretreated soybean straw for lignocellulosic bioethanol production. *Int. J. Polym. Sci.* 2018:5241748. doi: 10.1155/2018/5241748.
4. Kirtika K , Ravindra P, Brajendra K. Sh. Bio-Based Chemicals from Renewabl Biomass for Integrated Biorefineries // *Energies* 2019, 12, 233. p - 2 – 40.
5. Saha, B.C. (2003). Hemicellulose bioconversion, 279–291. <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0049-x>.
6. Xinxin Liu, Qixuan Lin, Yuhuan Yan, Feng Peng, Runcang Sun, Junli Ren / Hemicellulose from Plant Biomass in Medical and Pharmaceutical Application: A Critical Review // *Journal Name: Current Medicinal Chemistry*. Volume 26, Issue 14, 2019.
7. Сухов Б.Г. Полисахарид арабиногалактан как перспективная матрица для иммобилизации лекарственных средств // *Химия и медицина: тез. докл. VI Всеросс. научн. семинара*. Уфа, 2007. – С. 95–96.
8. Трофимов Б.А., Сухов Б.Г. / Нанокompозиты медицинского назначения на основе природных полимеров // «Наука и нанотехнологии». Материалы научной сессии Президиума СО РАН. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2007. – С. 155.
9. Джиоев. Ю.П, Юринова. Г.В, Сухов. Б.Г, Попкова. С.М, Ганенко. Т.В, Погодаева. Н.Н, Васильева. Д.К, Ракова. Е.Б, Сафронова. Л.А, Подгорский. В.С, Трофимов. Б.А. / Гемиделлюлозы и их нанобиокompозиты – перспективные наноструктурированные синбиотики // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*, 2012, № 5 (87), Часть 1. С – 210-212.
10. Harahap, B. M., & Kresnowati, M. T. A. P. (2018). Moderate pretreatment of oil palm empty fruit bunches for optimal production of xylitol via enzymatic hydrolysis and fermentation. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 8(2), 255–263. <https://doi.org/10.1007/s13399-017-0299-x>
11. Ur-Rehman, S., Mushtaq, Z., Zahoor, T., Jamil, A., & Murtaza, M. A. (2015). Xylitol: A Review on Bioproduction, Application, Health Benefits, and Related Safety Issues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(11), 1514–1528. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.7 02288>
12. Mannyalleng Relebohile Alice Makhetha. Fractionation of Lignocellulosic Biomass for Production of Materials and Chemicals. Thesis of MASTER OF ENGINEERING. in the Faculty of Engineering at Stellenbosch University. March 2016.
13. Egues, I., Eceiza, A. & Labidi, J. 2013. Effect of Different Hemicelluloses Characteristics on Film Forming Properties. *Industrial Crops and Products*, 47: 331-338.
14. <https://med.obozrevatel.com/substance/gemitsellyuloza1.htm>
15. Ren, J. & Sun, R. 2010. Chapter 4 – Hemicelluloses. In: *Cereal straw as a resource for sustainable biomaterials and biofuels*. Amsterdam: Elsevier. Pp. 73-130.

16. [Ge-Gu Chen](#), [Xian-Ming Qi](#), [Ying Guan](#), [Feng Peng](#), [Chun-Li Yao](#), and [Run-Cang Sun](#). / High Strength Hemicellulose-Based Nanocomposite Film for Food Packaging Applications// *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2016, 4, 4, 1985–1993.
17. Оболенская А.В., Ельницкая, А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Экология, 1991. – 320 с.
18. Славянский А.К. Ливеровский А. А. Химическая технология древесины. ГОСЛЕСБУМИЗДАТ. Москва 1962. С 364-379.
19. Краснов. Е.А, Горина. Я.В, Каминский. И.П, Кадырова. Т.В. / Химический состав некоторых перспективных видов флоры Сибири и возможности их практического использования // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы IV Всерос. конф. (Барнаул, 21-23 апр. 2009 г.). Барнаул, 2009. С.125—128.
20. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии: Ин-т биологии Уфим. ИЦ. - М.: Наука. 2005. - 252 с. - ISBN (5-024)33940-7. ст 184-186.
21. Кузнецов Б.Н. / Актуальные направления химической переработки возобновляемой растительной биомассы // Химия в интересах устойчивого развития. 2011. Т. 19, № 1. С. 77–85.
22. Heitner C., Dimmel D., Schmidt J. Lignin and Lignans: / *Advances in Chemistry*. / Eds. CRC Press: Taylor and Francis Group, 2010. 683 p.
23. Bajpai P. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production // *Springer Briefs in Green Chemistry for Sustainability*. India. 2016. P 7-11.
24. Sato, T., Ezawa, T., Cheng, W., and Tawaray, K. (2015). Release of acid phosphatase from extraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus clarus*. *Soil Sci. Plant Nutr.* 61, 269–274. doi: 10.1080/00380768.2014.993298.
25. Сакбаева З.И. / Влияние ферментативной активности фосфатаз на экологическое состояние сероземных почв предгорий ферганы. // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. doi 10.17513/spno.2014.5.
26. Alori, E. T., Glick, B. R., and Babalola, O. O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front. Microbiol.* 8:971. doi: 10.3389/fmicb.2017.00971.
27. Bargaz Adnane, Lyamlouli Karim, Chtouki Mohamed, Zeroual Youssef, Dhiba Driss/Soil Microbial Resources for Improving Fertilizers Efficiency in an Integrated Plant Nutrient Management System//J. *Frontiers in Microbiology*.VOL.- 9. 2018. P- 1606. URL=<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.01606>. DOI=10.3389/fmicb.2018.01606. ISSN=1664-302X.
28. Liu, X., Jiang, X., He, X., Zhao, W., Cao, Y., Guo, T., Li, T., Ni, H., Tang, X. (2019) Phosphate-solubilizing *Pseudomonas* sp. strain P34-L promotes wheat growth by colonizing the wheat rhizosphere and improving the wheat root system and soil phosphorus nutritional status. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38, 1314-1324.
29. Cherchali, A., Boukhelata, N., Kaci, Y., Abrous-Belbachir, O., Djebbar, R. (2019) Isolation and identification of a phosphate-solubilizing *Paenibacillus polymyxa* strain GOL 0202 from durum wheat (*Triticum durum* Desf.) rhizosphere and its effect on some seedlings morphophysiological parameters. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19, 1-7.
30. Муста Оглы Н.М., Шарова Н.Ю., Выборнова Т.В. / Биосинтез фитазы микромицетом *Aspergillus niger* при ферментации гидролизатов кукурузного крахмала в лабораторных условиях // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств» № 1, 2020. С 91-98.

Author Biographies

Shokir U. Yuldashev, UzFA, Institute of Plant Chemistry

Senior Researcher of the Laboratory of Organic Synthesis, Ph.D

Ibragim R. Askarov, Andijan State University

Professor of the Department of Chemistry, Honored Inventor of Uzbekistan, Chairman of the TABOBAT Academy of Uzbekistan

Muhamatdin Kh. Mamarakhmonov, Andijan State University

Associate Professor of the Department of Chemistry, Ph.D

Umid Kh. Niyazmetov, Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan

Candidate of Agricultural Sciences

Bekhruz N. Boymurodov, Karshi State University

Lecturer at the Department of Organic Chemistry