

MIKROORGANIZMLARNI O'STIRISHDA OZUQA MUHITI TAYYORLASH BOSQICHLARI

Rashidov Negmurod Elmurodovich

Buxoro Davlat Universiteti, Biologiya kafedrası

b.f.n dosent.

Telefon: +998 (90) 824-33-93

Email: n.e.rashidov@buxdu.uz

Muratova Fotima Fazliddinovna

Buxoro Davlat Universiteti, Biologiya kafedrası

magistr talabasi

Telefon: +998 (91) 249-03-03

Email: n.e.rashidov@buxdu.uz

Annotatsiya: Mikrobiologik sintez birlamchi xom-ashyolarni qayta ishlash natijasida, inson faoliyati uchun zarur bo'lgan tayyor mahsulot olishni ta'minlovchi bir qancha murakkab texnologik operatsiyalar majmuasini o'zida mujassamlashtiradi. Zamonaviy mikrobiologik ishlab chiqarishda turli xil biopreparatlarning har biri, alohida texnologiyalar asosida ishlab chiqariladi. Biroq, barcha ishlab chiqarish jarayonlarida ishlatiladigan mikroorganizmlar deyarli bir xil hayotiy davr bosqichlarini bosib otadilar.

Kalit so'zlar: Mikrobiologik, sintez, xom-ashyo, mineral tuzlar, uglevod.

Mikrobiologik ishlab chiqarish bilan shug'ullanadigan zavodlarda bu texnologik jarayonlar alohida maxsus sexlar yoki ularning bo'limlarida amalga oshiriladi. Xom-ashyolarni tayyorlash (mineral tuzlar va uglevod saqllovchi materiallar) ozuqa muhitini tayyorlash bosqichida amalga oshiriladi. Ozuqa muhitini tayyorlash inokulyatorga ekish materialini o'stirish (fermentatsiya) uchun solingandan keyin tugaydi va keyingi e'tibor mikrobiologik jarayonning asosiy uskunasi bo'lmish fermentatorga yo'naltiriladi.

Shuningdek, havoni va ekish materialini tayyorlash ham, mikroorganizmlarning intensiv o'sishi va rivojlanishi ketadigan aralashtirish va aeratsiya sharoitlarini o'z ichiga oluvchi fermentatsiya jarayoniga bog'liq bo'ladi. So'ngra kultural suyuqlikdan biomassani ajratish bosqichiga beriladi.

Ishlab chiqarishda fermentatordan chiquvchi kultural suyuqlikdan oxirgi mahsulotni ajratib olishda biomassaning ajratilish xususiyati asosiy rolni o'ynaydi. **Ekuv materialini olish bosqichi**

Ekuv materiali - deb produtsent mikroorganizmning toza kulturasini ishlab chiqarish uskunalarida o'stirish uchun tayyorlangan "rivojlangan" kulturalar (miqdori) majmuasiga aytiladi.

Ekuv materialini olish uchun laboratoriyalarda saqlanayotgan dastlabki kulturalardan foydalaniladi. Ishlab chiqarishning har birida foydalaniladigan kulturaning nomlanishi (avlodi, turkum va turlari), kolleksion nomeri, seriyasi, o'rganilgan sanasi, faolliklarining o'rtacha darajalari, saqla-nish muddati kabi ko'rsatkichlari aniqlanganligi haqida pasporti bo'lishi lozim.

Ushbu pasportda kulturani o'stirish uchun mo'tadil ozuqa muhiti va uning tavsifi hamda kulturani saqlash usullari keltirilgan bo'ladi. Mikroorganizm-larning foydali xususiyatlari o'zgarishsiz qolishi uchun mos keluvchi saqlash usulidan foydalanish lozim.

Odatda uzoq vaqt saqlangan va ko'p marotoba qayta ekilgan kulturalarda fiziologik xususiyatlar tez va oson o'zgaradi.

Quyida kulturalarni saqlash usullari bilan tanishib chiqamiz.

Bularning ko'pchiliklaridan mikrobiologik texnologiya asosida ishlab chiqarish zavodlarida bevosita foydalaniladi.

Mikroorganizm kulturalari produtsentlarni saqlash usullari

Mikroorganizmlarni saqlashning asosiy vazifasi ularning hayotiy faoliyati-ni ushlab turish, toksonomik belgilarini turg'un saqlash, fan va amaliyot uchun zarur bo'lgan ma'lum xossalarini o'zgartirmasdan bir meyorda ushlab turishdir. Mikroorganizmlarni uzoq muddat saqlash muammosi ularda anabioz sharoiti- ni yaratish, ya'ni modda almashinuv jarayonini sekinlashtirish bilan bog'lik. Mikroorganizmlarni saqlash maxsus kulturalar to'plamida (kolleksiya) amalga oshiriladi. Katta kolleksiyalarda bakteriya, mitselial zamburug'lar, achitqi zamburug'lari, suv o'tlari, tuban hayvonlar, viruslar, o'simlik va hayvon to'qimasi kulturasi banklari mavjud. Umuman dunyo miqyosida hisoblanganda turli xil mamlakatlarda 500 dan ortiq kolleksiya faoliyat ko'rsatmoqda.

- Kolleksiyalardagi mikroorganizmlarning hayotiy faoliyati ko'pincha quyidagi usullarda ushlab turiladi:
- Doimiy ravishda qayta ekib turush;
- Past va o'ta past haroratli sharoitda saqlash;
- Liofil qurutib saqlash;

- Quritib saqlash;
- Mineral yog' ostida saqlash.

Doimiy ravishda qayta ekish. Qayta ekib turish usuli mikroorganizmlar kulturasini saqlashning qulay eng ko'p qo'llaniladigan tarixiy sinalgan usulidir. Paster va Kox zamonidan boshlab hozirgi vaqtgacha, bu usul turli xil laboratoriyalarda keng qo'llanilib kelinmoqda va muzlatish yoki quritish mumkin bo'lmagan mikroorganizmlar uchun o'ta qulaydir. [1-3]

Mikroorganizmlar kulturasini qayta ekish (asosan, sporasizlarni) yangi tayorlangan ozuqa muhitida oyiga bir-ikki marotaba (ayrim vaqtlarda haftada) olib boriladi; sporali bakteriyalar, aktinomitsetlar, achitqi zamburug'lari va mitselial zamburug'lar ikki-uch oyda bir marta qaytadan ekiladi. Mikroorganizmlarni saqlash boshlanguncha, ularni o'stirish vaqti kultura o'sishining eksponensial davridan o'tmasligi kerak.

Odatda, mikroorganizmlar o'sish davrining statsionar fazasining boshida saqlash sharoitiga yaxshi bardosh beradilar. Tez-tez qayta ekish, ayniqsa suyuq muhitga ekish, ular xususiyatining o'zgarishiga olib keladi, spontan mutant hosil bo'lishiga sababchi bo'ladi, biologik faol modda ishlab chiqarish qobiliyatini pasayishiga olib keladi.

Saqlash uchun genetik bir xil populyatsiyalardan va qattiq muhitdan foydalanish kerak. Mikroorganizmlarni qayta ekish oraliq'ida ularni qorong'i joyda 5- 20°C da saqlash maqsadga muvofiqdir.

Doimiy qayta ekib turish usulining afzalligi, uning oddiy va qulay ekanligi, kultura tozaligini kuzatib turish mumkinligi; koloniyaning morfo-logik o'zgarishini R-va-S-variantligi, pigment hosil bo'lishini kuzatib turish mumkinligi bilan belgilanadi.

Usulning kamchiliklari: kultura ifloslanishi mumkin, saqlashning qisqa muddatligi, ishning ko'p mehnat talab qilishi va ozuqa muhiti tarkibiga katta miqdorda reaktivlarning sarflanishi bilan bog'lik.

Misol tariqasida sut achituvchi bakteriyalarni saqlashni keltirish mumkin, bu bakteriyalar o'zining o'sish sharoitiga ancha talabchanligi bilan xarakterlidir. Ma'lumki, aktinomitsetlar va mitselial zamburug'lar tez-tez boy tarkibli ozuqa muhitiga qayta ekib turilsa, ular o'zining diagnostik belgilarini o'zgar-tirib yuboradi, antibiotik modda hosil qilish xususiyatini pasaytiradi yoki butunlay yo'qotib yuboradi.

Mikroorganizmlarni past va o'ta past haroratda saqlash. O'tgan asrning 60-yillaridan boshlab, mikroorganizmlarni uzoq saqlash uchun past va o'ta past haroratdan foydalanib kelinmoqda. Past haroratning biologik tizimga ta'siri masalasi bilan "Kriobiologiya" fani shug'ullanadi. [4-6]

Umumiy qabul qilingan qoidaga binoan, past haroratda saqlash uchun mikroorganizmlar quyuq suspenziyasi(aralashmasi) (0,5-1, 0 ml) kriohimoyalovchi

muhitga shisha yoki plastik ampulalarga yoki probirkalarga (flakonlarga) quyiladi, buraladigan probka bilan yopiladi. Katta bo'lmagan laboratoriyalarda krioagent sifatida ko'pincha muz yoki qorning (3g) NaCl (12g) bilan aralash-masidan foydalaniladi. Bunday aralashmaning harorati -21°C ga teng; muzning (2g) CaCl_2 (12g) bilan aralashmasi -56°C ni, qattiq uglerod kislotasi esa, (-78°C) beradi. Hujayrani muzlatish Dyuar (termosga o'xshash) idishlarda olib boriladi.

Mikroorganizmlar maxsus refrijeratorlarda -12°C dan -80°C gacha bo'lgan haroratda muzlatiladi. Keyingi yillarda mikroorganizmlarni katta kollek- siyalarda saqlash uchun azotli refrijeratorlardan foydalanib kelinmoqda: azotni gazli -fazadagi harorati $-130 - 170^{\circ}\text{C}$, suyuq fazada esa -196°C ga teng bo'ladi. Mikroorganizmlarni saqlash uchun hajmi 10 dan 35 litrgacha bo'lgan refrijeratorlardan foydalaniladi.

Suyuq azotda ko'proq liofilizatsiyaga chiday olmaydigan mikroorganizmlar saqlanadi, misol tariqasida, ayrim avtotrof bakteriyalar, spiroxetalar, mikoplazmalar, suv fikomitsetlari, turli xil viruslarni keltirish mumkin. Suyuq azotda sut achituvchi bakteriyalar (dastlabki belgilari) eng yaxshi, turg'un saqlanadi. Shunga o'xshash vitamin va antibiotik moddalarning faolligini aniqlash uchun foydalaniladigan bakteriyalar test-kulturalari va achitqi zamburug'larining xossalari o'zgarmasdan saqlanadi.

Muzlatish va eritish jarayonida mikroorganizmlarning hayot faoliyatini saqlanib qolishi, shu organizm tabiatiga, o'sish fazasiga, populyatsiyaning quyuq-ligiga, o'stirish sharoitiga, krioprotektorlarga (himoya muhitiga), muzlatish - eritishning tozaligiga va boshqa omillarga bog'liq bo'ladi. Mikroorganizmlarni saqlashda ularning o'ziga xosligi Hatto bir turga mansub bo'lgan har xil shtammlar ham past haroratga bo'lgan munosabatlari bo'yicha bir-birlaridan farq qilishlari mumkin. Grammusbat bakteriyalar odatda grammanfiy bakteriyalarga nisbatan muzlatishga ancha chidamliroqdir. Saqlashning har qanday usullaridan foydalanishdan qat'iy nazar mikroorganizmlar tanlangan sharoitda, statsionar faza boshlanguncha bo'lgan davrda o'stiriladi. Mikroorganizm sporalari vegetativ hujayralarga nisbatan muzlatishga ancha chidamlidir. Odatda saqlash uchun mikroorganizmlarning quyuq suspenziyasi ($10^9 - 10^{12}$ hujayra/ml) tayyorlanadi. Ma'lumki, turli xil noqulay sharoitlarda ham quyuq suspenziya kamroq darajada ta'sirlanadi. Bu sharoitda "populyatsion samaradorlik" deb nomlangan holat ta'sir ko'rsatadi.

O'stirish sharoitlari Sintetik muhitda o'stirilgan mikroorganizmlar, tarkibi boy ozuqa muhitida o'stirib olingan hujayralarga nisbatan noqulay sharoitlarga chidamsizroq bo'ladi. Ozuqa muhitining tarkibiy qismini o'zgartirish orqali, zahiradagi moddalar: glikogen, lipidlar, peptidlar va boshqa moddalarni hujayrada sintez bo'lishiga erishish

mumkin. Bu moddalar hujayra muzlatilganda yoki eritilganda ularni buzilishdan saqlaydi. Masalan: *Lactobacillus bulgaricus* o'stiriladigan ozuqa muhitiga 0,1% tvin qo'shilsa, hujayraning fosfolipid fraksiyasi tarkibidagi S19-siklopropan kislotasi miqdori ko'payadi va hujayra suyuq azotda muzlatilganda uning nobud bo'lishi 48% gacha kamayadi.

Liofil qurutish

Liofil qurutish usuli keyingi o'n-yigirma yilda muhim ahamiyatga ega bo'lib qoldi, bu usulning afzalligi hujayrani muzlagan holatidan suyuq fazaga o'tkazmasdan vakuum ostida quritish bilan bog'liq. Birinchi marotaba bu usul gistologiya tadqiqotlari uchun Altman (Altman, 1890) tomonidan qo'llanilgan. Bakteriyalarni liofilizatsiya qilishda birinchi tajribani Xammer (Hammer, 1909-1914) o'tqazgan. Hozirgi vaqtda liofilizatsiya katta kolleksiyalarda turli xil bakteriyalarni, aktinomitsetlarni, mikoplazmalarni, mitselial zamburug'larni, achitqi zamburug'larni, suv o'tlarini, virus-larni, vaksina va qon plazmalarini uzoq saqlash (30 yildan ortiq) maqsadida keng qo'llanilib kelinmoqda. Liofil qurutish jarayonida mikroorganizmlar turli xil noqulay (stress) sharoitlar ta'siriga uchraydilar: muzlatish, quritish, vakuum va boshqalar. Liofilizatsiya jarayonida hujayraning buzilishiga sababchi bo'lgan omillarni aniqlash va hayot faoliyatini, belgilarini turg'unligini ta'minlovchi sharoitni tanlash muhim ahamiyat kasb etadi. Liofil qurutish jarayoni dastlab mikroorganizmlarni patogen va shartli patogen, keyinroq esa saprofit formalari bilan olib borilgan; ko'p miqdordagi tadqiqotlar natijasi asosida aniqlanishicha, liofil qurutilgan mikroorganizmlarni hayot faoliyatining saqlanishi, tur va shtammning maxsus sezgirligiga, kulturaning o'sish bosqichiga, hujayra miqdoriga, himoya muhiti-ning tarkibiga, liofilizatsiya rejimiga, saqlash sharoitiga (haroratga, atmosfera muhitiga, yorug'likka) bog'liq bo'ladi. Himoya muhiti Hujayrani liofil qurutishda himoya yoki suspenziya muhitining tarkibi ayniqsa, muhim ahamiyatga egadir. Dastlabki tadqiqotlarda bakteriyalarni go'shtli sho'rvada (bulonda) yoki sutda liofilizatsiya qilishgan, ulardan himoya muhiti sifatida foydalanilgan. Distillangan suvda yoki fiziologik eritmada liofilizatsiya qilingan mikroorganizmlarning hayot faoliyati past bo'lgan va ular yomon saqlangan. Aniqlanishicha, protektorlik (himoya muhiti) xossasiga murakkab moddalar: qon zardobi, oqsil zardobi, jelatina, sut, sho'rva, dekstrin, kraxmal, polietilenglikol, polivinilpirrolidon va peptonlar egadirlar. Mikroorganizmlarni saqlash uchun, ozuqa muhiti tarkibiga himoya vositasi sifatida oddiy moddalar: glyukoza, saxaroza, galaktoza, natriy glutamat, natriy aspartat va ayrim boshqa moddalar qo'shib ishlatish ham mumkin. Ko'pincha murakkab tarkibli muhitdan foydalaniladi: 1% jelatin + 10%

saxaroza; yog'sizlantirilgan sut + 7,5% glyukoza; 75% ot zardobi + 25% sho'rva + 7,5% glyukoza; 2% dekstrin + 0,5% ammoniy xlor + 0,5% tiomochevina + 0,5% askorbin kislotasi; buzoq zardobi + 5% mezoinozit; 10% quruq sut kukuni + 1% natriy glutamat va x.k. Odatda, bir vaqtda ikkita-uchta himoya muhitidan foydalanish tavsiya qilinadi. Himoya muhitining ta'sir mexanizmi aniq emas, ular haqida turli xil gepotezalar mavjuddir. Liofilizatsiya qilish uchun himoya muhitidagi (sut + 5% laktoza + 5% saxaroza) mikroorganizmlar konsentrlangan suspenziyasidan (109-1010 hujayra/ml) 0,2 mlli shisha ampulaga quyiladi. Ampula -20- -24°C gacha sovutiladi, bir vaqtning o'zida 20, 26°C sublimator haroratida, -45°C, -60°C refrijiratorida, vakuumda 1x10⁻³ (0,11-0,07 mm simob ustunida) muzlatish va 5-6 soat davomida qurutish yana - 2 soat davomida oxirgacha qurutish yaxshi natija berishi aniqlangan. Ampula vakuum ostida kavsharlanadi va 4°C qorong'ulikda saqlanadi. Liofillangan hujayra vakuum ostida yoki havoga nisbatan inert gazlar (argon, neon, geliy, kripton) atmosferasida yaxshi saqlanadi. Kislorodning zaharli ta'siri natijasida bo'sh radikallarning hosil bo'lishi, hujayra membranasini buzilishi bilan korrelyatsiya hosil qiladi. Liofillangan kulturani 4-6°C haroratda saqlash tavsiya etiladi. Ko'pgina tadqiqotlar, quritilgan mikro-organizmlarni saqlash harorati 18°C dan 37°C gacha ko'targanda, hayot faoliyatini saqlab qolish darajasi (tirik xujayra soni) kamayib ketganligini ko'rsatgan. Quritilgandan keyin qolgan suv miqdori birdaniga liofilizatsiyadan keyin hujayrani faqat hayot faoliyatigagina ta'sir qilib qolmasdan, saqlash vaqtidagi nobud bo'lish tezligiga ham sababchi bo'ladi. Qolgan suvning mo'tadil miqdori (2- 6%) mikroorganizm quritilgan muhit tarkibiga qarab, saqlash atmosferasiga, mikroorganizmlarning fiziologik holatiga va turiga qarab o'zgarishi mumkin. Haddan tashqari quritib yuborish (0,5-1,5% dan past namlikkacha) hujayraning hayot faoliyatini yo'qotadi. Mikroorganizmlarni quritilgan holda saqlash. Quritish mikroorganizmlarni saqlashning eng oddiy usulidir. Ko'plab mikroorganizmlar tabiiy sharoitda (tuproqda, qumda, loyda), havoda, qurigan holda va turli xil oziq- ovqat mahsulotlari tarkibida uzoq vaqt yaxshi saqlanadi. Qurish jarayonida mikrob hujayralari suvsizlanadi. Tirik hujayrada suvning miqdori massaning 80-90% ini tashkil etadi. Quritish vaqtida hujayra o'z tarkibidagi erkin suvni yo'qotadi va qolgan 10-12% suvda mikroorganizmlarning o'sishi to'xtaydi. Qolgan suv miqdori 2-5% gacha kamayganida, hujayra strukturasi bilan maxkam bog'langan suv qoladi xolos. Shunday qilib, quritilgan hujayrada biokimyoviy reaksiyalar to'xtaydi yoki ayrim reaksiyalar juda ham sekin ketadi. Mikroorganizmlarni quritishga chidamliligi ko'p omillarga: mikroorganizmlarning xossalriga, muhitga va o'stirish sharoitiga, quritish usuliga, qolgan suvning miqdoriga, saqlash sharoitiga va reaktivatsiya sharoitiga bog'liq

bo'ladi. Mineral yog' ostida saqlash. Mineral yog' ostida saqlash usuli laboratoriya sharoitida mikroorganizmlarning katta kolleksiyalarini saqlash uchun qo'llaniladi. U oddiyligi bilan boshqa usullardan farq qiladi, maxsus asbob-uskunalar talab qilmaydi va turli xil mikroorganizmlarni hayot faoliyatini va ularga xos bo'lgan belgilar turg'unligini nisbatan uzoq vaqtgacha saqlanishini ta'minlaydi. Birinchi marotaba Lyumyer va Shevrotiyelar (Lumiere, Chevrotier, 1914) gonokoklarni saqlash uchun vazelin yog'idan foydalanganlar. Usulning mohiyati quyidagilardan iborat: mikroorganizmlar kulturasini qulay ozuqa muhitida o'stiriladi va ustiga sterilizatsiya qilingan vazelin yog'i quyiladi. Yog'ning qalinligi (0,5-1,0 sm) moddalar almashinuvi jarayonining tezligini sekin-lashtiradi va ozuqa muhitining ustki qismini qurishdan saqlaydi. [7-8]

Aerob mikroorganizmlar probirkada agar-agar solingan ozuqa muhitida (5-6 ml, 450S burchak hosil qilib) yotqizilgan holatda o'stiriladi. Anaerob sharoitda o'sadigan bakteriyalar, masalan, propion kislotali bakteriyalar agar-agar solingan muhitning ichiga ukol qilish yo'li bilan ekiladi. Sut achituvchi bakteriya va ayrim shu'lali bakteriyalar yarim suyuq muhitda 0,25-0,40% li agar-agarda o'stiriladi. Asporogen-mikroorganizmlarni saqlash uchun ular o'sishining statsionar fazasi boshlanishida yog' quyish eng yaxshi natija beradi. Spora hosil qiluvchi - spora paydo bo'lish bosqichida, aktinomitsetlarga va mitselial zamburug'larga 7-14 kundan keyin, achitqi zamburug'lariga esa 12-14 kun o'stirgandan keyin yog' quyish maqsadga muvofiqdir. Saqlash uchun o'ta tozalangan, tibbiyotda ishlatiladigan vazelin yog'i qo'llaniladi. Yog'ni 60 minut avtoklavda (1x10⁴ Pa bosimda) sterilizatsiya qilinadi, keyin suvini chiqarib yuborish uchun quritish shkafida 150°C haroratda qizdiriladi yoki xona haroratida 2-3 kun ushlab turiladi. Yog' muhitning chekkasidan sekin-asta quyiladi va uning umumiy hajmi muhitning ustki qismidan 1 sm dan oshib ketmasligiga e'tibor qilinadi. Mikroorganizmlar 5°C haroratda yoki xona xaroratida qorong'ida saqlanadi. Saqlash muddati. Mikroorganizmlar yog' ostida uzoq muddatda saqlanganda, vaqt o'tishi bilan hujayralar nobud bo'la boshlaydilar. Shuning uchun ham mikroorganizmlarni yiliga 1-2 marta yog' ostidan chiqarib qaytadan ekib turiladi. Achitqi zamburug'lari yiliga bir marta qayta ekiladi. Mitselial zamburug'larni saqlashning boshida yiliga bir marta qayta ekiladi, keyin ikki-uch yilda qaytadan ekiladi.

Ko'pchilik saprofit bakteriyalar vazelin yog'i ostida 8 -14 yil davomida o'z hayot faoliyatini saqlab turishlari mumkin ekanligi aniqlangan. Rossiya Fanlar Akademiyasi Mikroorganizmlar biokimyosi va fiziologiyasi institutining "mikroorganizmlar to'plami" laboratoriyasida *Bacillus* turkumiga kiruvchi 155 shtammi, yog' ostida

saqlanganda 6 yil muddatda o'z hayot faoliyatini o'zgartir- masdan saqlanganligi aniqlangan.

Yog' ostida 4-5 yil muddatga *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Propionibacterium*, *Arthrobacter*, *Micrococcus* turkumi vakillari muvaffaqiyatli saqlangan. Aerob, grammusbat bakteriyalar yog' ostida saqlashga grammanfiy bakteriyalarga nisbatan birmuncha chidamliroqdir.

Toza kulturadan ekish materialini olish texnologiyasi

Ekuv materialini tayyorlash produtsentning turi va uning fiziologik, biokimyoviy xususiyatlariga bog'liq holda, bir qancha asosiy bosqichlardan iborat bo'ladi: dastlabki kultura (probirkada) → agarli ozuqada o'stirish (probirkada) → kolbalarda suyuq ozuqa muhitida mikrobiologik tebratgichlarda o'stirish (bir yoki ikki bosqichli) → maxsus uskunalarda o'stirish (bir yoki bir necha inokulyatorlarda) → kichik fermentatorlarda mikroorganizm kulturalarini to'planishi → ekuv materialini.

Ekuv materialini o'stirish quyidagi bosqichlarda kechadi:

1. Zavodning mikrobiologik laboratoriyasidan zarur mikroorganizm kulturalarini olish;
2. Ekuv materiallarini kichik hajmli ekuv uskunasi o'stirish (300 l. sig'imli);
3. Achitqilarni katta hajmli ekuv uskunalarida o'stirish (3200 l. sig'imli);
4. Kichik fermentatorlardan achitqi kulturalarini to'plash (50m³ sig'imli).

Birinchi bosqichda zavodning mikrobiologik laboratoriyasida ekuv materialini o'stirib olinadi. Dastlab, kultura probirkalarda steril holatda qiya qilib solingan agarli, mo'tadil ozuqa muhitida, ma'lum (pH, harorat, saqlanishi) rejim asosida ko'paytiriladi.

O'stirilgan kulturalar probirkadagi qiya qilib tayyorlangan agarli muxit ustidan steril, toza suv yordamida yuvib olinib, 750 ml hajmli Erlenmeyer kolbalaridagi 50-100 ml. li suyuq ozuqa muhitiga o'tkaziladi. Kolbalar mo'tadil haroratli xonalardagi (28-30°C) tebratgichlarga o'rnatiladi. Kulturalarning o'sish tezligini tebratgichning aralashtirish tezligiga bog'liq ravishda o'zgartirish mumkin. Mo'tadil aralashtirish 120-240 tez/min. da olib borilishi maqsadga muvofiqdir. Tebratgichlarda kolbalardagi kulturani o'stirish davomiyligi uning fiziologik xususiyatidan kelib chiqqan holda 18-36 soat davom etishi mumkin. Bu bosqichda mikroorganizmlarning morfologik ko'rsatkichlari kuzatilib boriladi. Eng yaxshi natija kulturalarning lagorifmik fazasida namoyon bo'ladi. Ekuv materialini o'stirishning ikkinchi bosqichida, tayyor kulturalar kolbadan steril holda avvaldan aniq miqdordagi parafinlarda va mineral tuzlar bilan ta'minlangan ekuv uskunasi (inokulyator) o'tqaziladi. Ekuv uskunasi aralashtirgich, aeratsiyani ta'minlovchi, shuningdek, harorat, pH, ko'piklanish darajalari va boshqa

ko'rsatkichlarni o'lchovchi uskunalar mavjud bo'lishi lozim. Uskunadagi ozuqa muhitining hajmi uskuna umumiy sig'imining 60% idan oshmasligi kerak. Ekuv uskunasi ga ekuv materialining solinish miqdori asosiy belgilardan biri hisoblanadi. Kam miqdordagi ekuv materialining solinishi inkulyatsiya davrining uzoq davom etishini talab qiladi shuning uchun ekuv materialining miqdori ozuqa muhiti umumiy hajmining 10-12% ini tashkil etishi maqsadga muvofiq bo'ladi.

Uskunada ekuv materialini tayyorlash vaqtida o'stirishning mo'tadil reji-mini saqlab turish asosiy omil hisoblanadi.

Buni nazorat qilish undan mikrobiologik va biokimyoviy tahlil uchun namunalar olib, ularni tekshirib turishni talab qiladi. O'stirish ozuqa tarkibidagi achitqilarning miqdori 14-20 g/l bo'lgunicha davom ettiriladi (quruq og'irlik hisobida). Odatda bu jarayon 12-14 soat davom etadi.

Ekuv materialini o'stirishning uchinchi bosqichi 3,2 m³ hajmli ekuv uskunasi da davom ettiriladi. Buning uchun kichik hajmli inokulyatordan barcha kultural suyuqlik katta miqdordagi ekuv uskunasi da avvaldan sterillangan ozuqa muhitiga o'tkaziladi. Bunda, har bir mikroorganizmning o'z xususiyat-laridan kelib chiqib, ularning miqdori turli xil bo'lishi mumkin. Agarda bu jarayon kulturaning eksponensial o'sish fazasi da amalga oshirilsa, unda ekuv uskunasi da ozuqa muhiti hajmiga nisbatan 10% miqdori da ekilishi yaxshi natija beradi.

O'stirish 12-14 soat davomida olib boriladi. Jarayonning 4-bosqichi 50 m³ hajmdagi uskunada davom ettiriladi. Bungacha uskuna yetarli miqdorda parafin, ozuqa tuzlari eritmalari va mikroelementlardan iborat ozuqa muhiti bilan ta'minlanadi. Ozuqa muhitida kulturalar suspenziyasi, mo'tadil pH darajasi, harorat va uzluksiz aeratsiyada aralashtirish orqali o'stirish boshlanadi. Achitqilar biomassasining to'planishi 10-12 soatga cho'ziladi. Achitqilar biomassasining quruq og'irligi 1l ozuqada 14-17 grammni tashkil etganda achitqili suspenziya ishlab chiqarish fermentatorlariga maxsus nasos yordamida o'tqazilishi mumkin. Olingan ekuv material i mikrobiologik va biokimyoviy nazoratlardan to'liq o'tkazilgan bo'lishi hamda keyingi ishlab chiqarish bosqichiga bog'liq bo'lgan barcha xususiyatlar, jumladan, ularning faolligi aniqlangan bo'lishi shart.

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati:

1. Amonova G. R., Rashidov N. E. Useful Properties of Medicinal Chamomile (*Matricaria Recutita*) //European journal of innovation in nonformal education. – 2024. – T. 4. – №. 4. – C. 130-132.
2. Буриев С. и др. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОЧИСКИ СТОЧНЫХ ВОД ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ //Проблемы рекультивации

отходов быта, промышленного и сельскохозяйственного производства. – 2015. – С. 239-240.

3. Elmurodovich R. N., Noridinovich Y. Z. Biology and Importance of Glycoside Medicinal Plants //European journal of business startups and open society. – 2022. – Т. 2. – №. 4. – С. 71-73.

4. Буриев С. Б., Хайитов Ё. К., Рашидов Н. Э. Биотехнологические методы очистки возвратно-сточных вод с целью использования в сельском хозяйстве //Проблемы рекультивации отходов быта, промышленного и сельскохозяйственного производства. – 2015. – С. 237-239.

5. Рашидов Н., Джумаев Л., Уракова М. Способы очистки коллекторно-дренажных вод с помощью микроводорослей и их использование в сельском хозяйстве //Проблемы рекультивации отходов быта, промышленного и сельскохозяйственного производства. – 2015. – С. 241-243.

6. Khodjaeva Z. F., Rashidov N. E. REDUCING SOIL MINERALIZATION USING DENGIZKUL COLLECTOR WATERS //Почвы и окружающая среда [Электронный ресурс]: Сборник научных трудов Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 55-летию Института почвоведения и агрохимии СО РАН (2–6 октября 2023 г., г. Новосибирск). Новосибирск: ИПА СО РАН, 2023. 838 с. DOI: 10.31251/conf1-2023. – 2023. – С. 595.

7. Khodjaeva Z. F., Rashidov N. E. REUSE BY PURIFYING SALINE GROUNDWATER //Э40 Экология речных бассейнов: Труды 11-й Междунар. – 2023. – С. 541.

8. Elmurodovich R. N., Toirtoshevich R. S. A Medicine with Alkaloids New Information About the Biology and Importance of Plants //International Journal on Integrated Education. – 2023. – Т. 5. – №. 6. – С. 351-353.