BIOLOGICAL SCIENCES

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОТХОДЫ *HAPLOPHYLLUM PERFORATUM* – КАК ВТОРИЧНОЕ СЫРЬЁ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОУДОБРЕНИЙ С ФОСФАТМОБИЛИЗИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ

Юлдашев Ш.У.
PhD, стар. науч. сотр. Института химии растительных веществ Академии Наук Республика Узбекистан
Ботиров Р.А.
PhD, стар. науч. сотр. Института химии растительных веществ Академии Наук Республика Узбекистан
Нигманова Ш.Р.
Базовый докторант экспериментально -технологической лаборатории Институт химии растительных веществ АНРУз
Муталова Д.К.
PhD, стар. науч. сотр. Института химии растительных веществ Академии Наук Республика Узбекистан
Саноев А.И.
PhD, стар. науч. сотр. Института химии растительных веществ Академии Наук Республика Узбекистан
Садиков А.З.
д-р техн. наук, вед. науч. сотр. Института химии растительных веществ Академии наук Республики Узбекистан, Республика Узбекистан, г. Ташкент
Сагдуллаев Ш.Ш.
академик, гл. науч. сотр. Института химии растительных веществ Академии наук Республики, Республика Узбекистан

TECHNOLOGICAL WASTE HAPLOPHYLLUM PERFORATUM – AS SECONDARY RAW MATERIALS FOR OBTAINING BIOFERTILIZERS WITH PHOSPHATE-MOBILIZING ACTIVITY

Yuldashev Sh.
PhD, scientific researcher, Institute chemistry of plant substances Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan
Botirov R.
PhD, scientific researcher, Institute chemistry of plant substances Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan
Nigmanova Sh.
Basic doctoral student researcher of the Experimental and Technological Laboratory of the ICPS AS.Uz
Mutalova D.
PhD, scientific researcher, Institute chemistry of plant substances Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan
Sanoev A.
PhD, scientific researcher, Institute chemistry of plant substances Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan
Sadykov A.
doctor of technical sciences, leading researcher of the Institute of Chemistry of Plant Substances Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent
Sagdullaev Sh.
academician, chief researcher Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent

Аннотация

Исследовано химический состав шрота лекарственной растении *Haplophyllum perforatum*, установлено, что содержание сумма полисахаридов в отходах 64,0% от а.с.в. сырья, лигнина -11,8 %, белки – 1,9, жиро-восковая фракция – 2,2. Технологические отходы растения являются хорошим вторичным сырьём для дальнейшей переработки с получением продуктов с добавленной стоимостью. Установлено, что ФБУ, полученные на основе шрота (отхода) и штаммов ФММ *Bacillus subtilis BS-26* и *Trichoderma harzianum* F-888 проявляют высокие фосфатазные активности (649,8-646,7 мг п-нитрофенола $кг^{-1}$ ФБУ $час^{-1}$.). Показано, что при ферментации ФММ фильтрата ФБУ в жидкой среде NBRIP, содержащий нерастворимый

$Ca_3(PO_4)_2$ течение 168 часов в культуральную жидкость переходит до 98% мобильного P_2O_5. При этом кислотность среды изменилась от значения pH 7 до pH 4,3, что положительно коррелируют между переменными измерений pH и количеством солюбилизированного P_2O_5. Это однозначно указывает на продукцию органических кислот штаммами микроорганизмов в процессе метаболизма. Высокая фосфатазная активность и выработка органических кислот свидетельствует о высокой эффективности удобрения по мобилизации закрепленного фосфора содержащихся как в органическом веществе почвы, так и нерастворимых соединениях фосфатов.

Abstract

The chemical composition of the meal of the medicinal plant Haplophyllum perforatum was studied, it was found that the content of the amount of polysaccharides in the waste was 64.0% of the dry matter content. raw materials, lignin -11.8%, proteins - 1.9, fat-wax fraction - 2.2. Plant technological waste is a good secondary raw material for further processing to produce value-added products. It has been established that FBU obtained from meal (waste) and FMM strains Bacillus subtilis BS-26 and Trichoderma harzianum F-888 exhibit high phosphatase activity (649.8-646.7 mg p-nitrophenol kg-1 FBU h-1.). It has been shown that during fermentation of FMM filtrate of FBU in liquid NBRIP medium containing insoluble Ca3(PO4)2, up to 98% of mobile P2O5 passes into the culture liquid for 168 hours. At the same time, the acidity of the medium changed from pH 7 to pH 4.3, which positively correlates between pH measurement variables and the amount of solubilized P2O5. This clearly indicates the production of organic acids by microorganism strains during metabolism. High phosphatase activity and the production of organic acids indicate the high efficiency of the fertilizer in mobilizing fixed phosphorus contained both in soil organic matter and insoluble phosphate compounds.

Ключевые слова: Отходы лекарственных трав, шрот, полисахариды, пентозаны, фосформобилизующие микроорганизмы (ФММ), *Bacillus subtilis, Trichoderma harzianum*.

Keywords: Waste of medicinal herbs, meal, polysaccharides, pentosans, phosphorus-mobilizing microorganisms (PMM), Bacillus subtilis, Trichoderma harzianum.

Введение

Дикорастущие флора лекарственных растений Узбекистана богата лекарственными растениями, к числу которых относится и *Haplophyllum perforatum* – (Цельнолистник исколотый), сем. *Rutaceae* (Ру́товые). Виды рода *Haplophyllum Juss*. (Rutaceae), являются ценными источниками алкалоидов, эфирных масел, кумариновых соединений и других веществ, обладающих ценными фармакологическими свойствами. Среди них *Haplophyllum perforatum,* представляют интерес как источник растительного сырья для промышленного производства субстанции алкалоида скиммианина [1, 2].

Скиммианин - это природный фурохинолиновый алкалоид, который оказывает антибактериальное, противовирусное и фармакологическое действие за счет ингибирования ацетилхолинэстеразы и выработки оксида азота (NO) [3, 4]. Также сообщалось, что скиммианин относится к седативным или нейролептическим средствам, обладает мощным противовоспалительным действием. Его механизм действия включает ингибирование транскрипции генов TNF-α и IL-6, а также ингибирование продукции NO, простагландина E2 и супероксиданиона [5, 6].

Институт химии растительных веществ имени академика С.Ю.Юнусова АН Республики Узбекистан – ведущее научно-исследовательское учреждение в области изучения лекарственных растений среднеазиатской флоры. Исследует и внедряет в практику высокоэффективных натуральных лекарственных препаратов, биологически активных добавок (БАД), а также средств защиты растений для сельского и лесного хозяйства.

На базе Опытного производства Института налажено серийное производство субстанций алкалоида скиммианин из *Haplophyllum perforatum*, где ежегодно будет перерабатывается десятки тонн травы. В процессе переработки лекарственной травы основным по количественному содержанию отходом является истощенное сырье (шрот), после экстракции водным спиртом. В растениях *Haplophyllum perforatum* количественное содержание целевых продуктов незначительно: в пределах от 0,1% до 1% [6,7]. Поэтому в процессе переработки растительного сырья на фармацевтических предприятиях накапливаются огромные количества отходов растительной массы в виде измельченной массы стеблей, листьев или корней, масса которых достигает в среднем 90-95 % от расходуемого сырья.

В процессе извлечение целевых продуктов из лекарственных трав, нерастворимые лигноцеллюлозные компоненты сырья концентрируется. Благодаря высокому содержанию углеводов (60-70% от абсолютно сухого вещества сырья), технологические отходы (шрот) лекарственных трав фармацевтических производств является привлекательным дешевым субстратом для культивирования и размножения полезных микроорганизмов, в том числе и фосфатмобилизирующих микроорганизмов (ФММ), что стало одним из основных направлений интенсивных исследований и разработок в последние годы [9-12].

В условиях глобальных экологических изменений и повсеместного загрязнения окружающей среды обществу необходимы не только натуральные и эффективные лекарственные средства, но и стабильные и экологически чистые продукты питания. Для этого современное сельское хозяйство должно быть более продуктивным, устойчивым и экологически чистым. Известно, что во всем мире существуют серьезные проблемы с фосфорными удобрениями в сельском хозяйстве. Важнейшими из этих проблем являются истощения невозобновляемых запасов фосфорита, быстрое закрепление

мобильного P_2O_5 фосфорных удобрений почвенными минералами в неусвояемую растениями форму, что вызывает причинно-следственные проблемы такие как: высокие нормы внесения, загрязнение почвы и сельскохозяйственных продуктов тяжелыми металлами [13,14].

На сегодняшней день в науке известно, что некоторые микроорганизмы могут вносить непосредственный вклад в мобилизации неусвояемых соединений фосфора в почве и могут вносить непосредственный вклад для улучшения эффективности фосфорных удобрений, качественной и количественной повышению урожайности культур [15,16].

Лигноцеллюлозная биомасса отходов лекарственных трав 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 отличным субстратом для ферментации ФММ с получением эффективный и экологически чистый биоудобрения для сельского хозяйства.

Целью данной работы является исследования химического состава шрота лекарственной травы *Haplophyllum perforatum* как вторичное сырьё в качестве субстрата для твердофазного культивирования ФММ штаммов *Bacillus subtilis BS-26* и *Trichoderma harzianum* F-888 с получением ферментированного биоудобрения с фосфатмобилизирушей активностью.

Объектом нашего исследования явились отход (шрот) лекарственной травы *Haplophyllum perforatum*, остающиеся в ОП ИХРВ после экстракции фармацевтических субстанций, а также ферментированная биоудобрения (ФБУ), полученный путем биоконверсии органических отходов шрота *Haplophyllum perforatum* ФММ штаммов *Bacillus subtilis BS-26* и *Trichoderma harzianum* F-888. При этом получена двух видов (ФБУ) различающийся видами и штаммами ФММ:

ФБУ BBs – на основе штамма *Bacillus subtilis BS-26*;

ФБУ BTh – на основе штамма *Trichoderma harzianum* F-888;

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

Шрот - биомасса отходов лекарственных трав представляет собой мелкую стружку длиной 1-2 мм, толщиной 0,5-1 мм. Шрот предварительно высушивали при (103 ± 2) °С в течение 3 ч для доведения до равновесной влажности.

Зольность исследуемого сырья определяли прокаливанием в муфельной печи при 575±25°С в течении 3 - 4 часов до полного удаления углерода. 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 пентозанов 10 г растительных отходов *Haplophyllum perforatum* 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 ^{0}С 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^{o}С) 24 часа. После трехкратной экстракции щелочные экстракты фильтровали ФБУмажным 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. [18,19].

Количественной выделении лигнина осуществляли гидролизом полисахаридов концентрированными минеральными кислотами и предварительным удалением экстрактивных веществ соответствующей экстракцией. Белковые вещества шрота определяли по методу Лоури, основанной на образовании окрашенных продуктов ароматических аминокислот с реактивом Фолина в сочетании с биуретовой реакцией на пептидные связи [20,21].

Жиро-восковую фракцию определяли экстрагированием растительного сырья спирто - толуольной смесью (1:1) по Оболенскому [17].

Исследование фосфатазной активности ФБУ. Для определения фосфатазной активности 1 г воздушно-сухой ФБУ помещали в 50 мл колбу Эрленмейера с притертыми пробками, добавляют 4 мл универсального буфера (pH 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 см^3. 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 почвы час^1 [22].

Исследование фосфатсолюбизирующей активности ФБУ. 10 г образца ФБУ добавляли к 90 мл дистиллированной воды и перемешивали на

магнитной мешалке в течение 30 минут для полного отделения микроорганизмов. После отстаивания в течение 20 минут стерильной пипеткой 1 мл суспензии добавляли в среду NBRIP содержащий нерастворимый $Ca_3(PO_4)_2$ следующего состава: Глюкоза 10; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ - 5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,25; KCl - 0,2; $(NH_4)_2SO_4$ - 0,1; Неорганический фосфат $Ca_3(PO_4)_2$, - 5; Вода водопроводная 1000 мл; pH 7,0. Затем колбы помещали на шейкере при 37 °C и 200 об/мин. Среду без инокулята использовали в качестве контроля [23]. Через 24,48,72,96 и 168 часа культуру бактерий центрифугировали, отбирали супернатант, в котором по методу Чирикова определяли содержание подвижных форм фосфора, растворимых в 0,5 М уксусной кислоте [24]. Кислотность культуральной жидкости измеряли pH-метром «Экотест-120».

Обсуждение результатов

В начальном этапе наших исследований определяли химический состав шрота *Haplophyllum perforatum*. Результаты определения химического состава шрота лекарственных трав показали, что основной составной частью отхода лекарствуенной травы *Haplophyllum perforatum* являются компоненты углеводов – целлюлоза (36,5%), и пентозные сахара (27,5 %.), суммарное количество которых в отходах составило 64,0%, рис. 1. Целлюлоза в основном состоит из мономеров глюкозы, в гидролизном производстве могут быть гидролизованы физико-химическим или биологическими способами, с образованием сбраживаемых сахаров для микробиологической конверсии с получением разнообразных ценных товаров микробиологического происхождения [25]. Пентозаны, второй главный углеводный компонент лигноцеллюлозного сырья, состоят в основном из С-5 сахаров (ксилоза и арабиноза) и С-6 сахаров (манноза, галактоза и глюкоза) [26]. Гемицеллюлозы применяются в медицинской практике для регуляции иммунной системы, ингибировании патогенной микрофлоры, в лечении хронических воспалительно-дистрофических поражений желчного пузыря, кишечника, печени, желудка и как биоразлагаемые полимеры являются агентами доставки и контролируемой высвобождении фармацевтических препаратов [27].

По химическому составу шрот *Haplophyllum perforatum*, содержит достаточно высокая количества углеводов (64,0% от а.с.в. сырья), и может быт привлекательным вторичным сырьем для микробиологической ферментации и получения ценных продуктов широкого народного потребления.

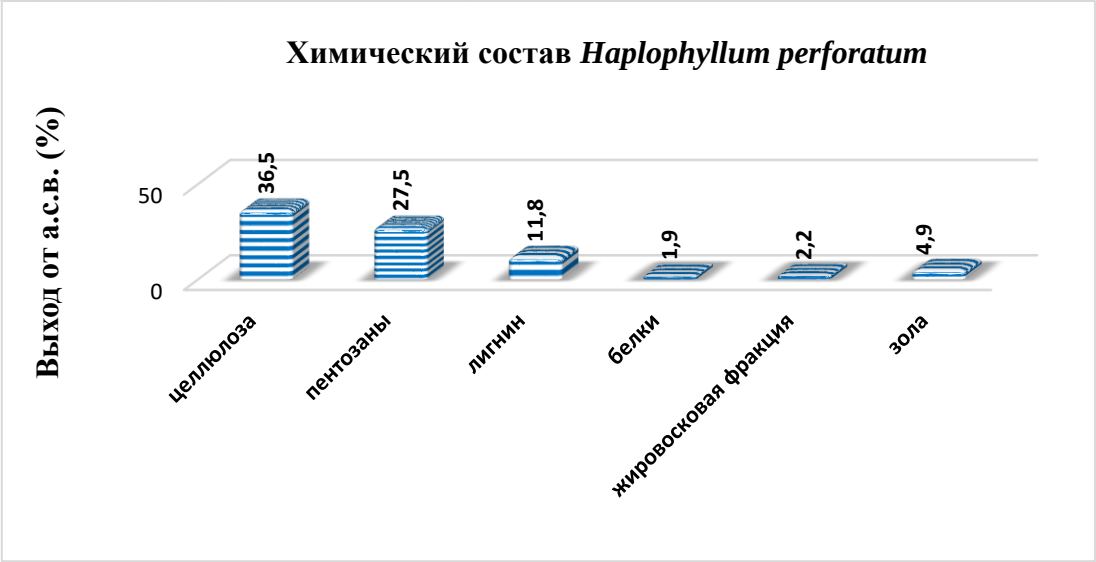


Рисунок – 1. Химический состав шрота Haplophyllum perforatum (% от абсолютно сухого вещества)

Вторым по количественному составу компонентом растительного сырья является лигнин – неуглеводный компонент, содержание которого в шроте *Haplophyllum perforatum* составило 11,8 %. Лигнины - это природные фенольные макромолекулы, которые присутствуют в стенках растительных клеток, состоящих из трех основных фенилпропановых единиц, являющихся производными ароматических спиртов: n-кумарилового, конифирилового 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 [28]. При окислительной или восстановительной деструкции лигнина образуются различные ароматические и фенольные соединения [29].

Лигнин, благодаря своей уникальной структуре, имеет значительный потенциал для химической промышленности при производстве различных химикатов фенольной и ароматической природы, а также жидких топлив [29]. 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. Круп-

номасштабным направлением утилизации гидролизного лигнина является, также, получение различных сорбентов [30,31]

Из не углеводных веществ шрота – содержания белков в отходах *Haplophyllum perforatum* составило в пределах 1,9 %, в то время как содержание жиро-восковой фракции составил 2,2%. Содержания зольных элементов составил – 4,9 %.

Содержание пентозанов в отходах *Haplophyllum perforatum* составляет – 27,5 %, что близко по количественному содержанию пентозанов в технических сельскохозяйственных культурах (32,6-34,3%) [28]. Высокие содержания пентозанов в отходе 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, пищевой, 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 [32].

При сжигании биомассы растений остается ее неорганическая часть – зола, которая находится в пределах 4,9 % от сухого вещества шрота. По содержанию золы пробы удовлетворяют требованиям к сырью для получения адсорбентов (активированного угля) [29,32].

Химический состав компонентов шрота лекарственного растения *Haplophyllum perforatum* показали, что при соответствующей предварительной обработки и облагораживание, биомасса являются хорошим субстратом для культивирования фосфатмобилизирующих микроорганизмов (ФММ) с получением ФБУ с фосфатмобилизирующей активностью.

Фосфатазы продуцируемыми ФММ, гидролизуют разнообразные сложноэфирные (фосфомоноэфиры) и фосфоангидридные органические соединения фосфора, т.е. осуществляют минерализацию закрепленного в органическом веществе фосфора [33,34]. В почвах ферменты фосфатаз способствуют усвоению также и минерального фосфора культурными растениями. Фосфорорганические соединения составляют от 20 до 80% часть фосфорного запаса 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 [34,35]

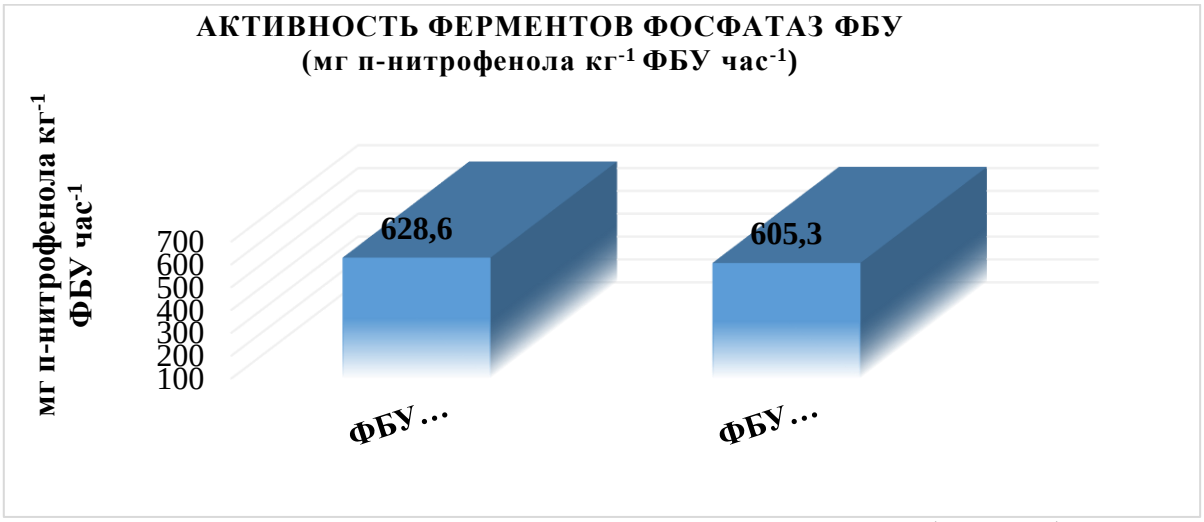


Рисунок 2. Активность ферментов фосфатаз мг п-нитрофенола кг$^{-1}$ ФБУ час$^{-1}$

Результаты измерение фосфатазной активностей ФБУ, показали, что оба ФБУ обладают высокой фосфатазной активностью, рис. 2. При этом наибольшей фосфатазной активность проявил ФБУ BBs – 628,6 мг п-нитрофенола кг$^{-1}$ ФБУ час$^{-1}$. Фосфатазная активности ФБУ BTh немного меньше по сравнению ФБУ BBs и составил на уровне 605,3 мг п-нитрофенола кг$^{-1}$ ФБУ час$^{-1}$. При этом из двух видов ФБУ наибольшей фосфатазной активности проявляет ФБУ BBs, полученный ферментацией отходов *Haplophyllum perforatum* на основе штамма *Bacillus subtilis BS-26*. Это говорит о том, что для выработки фермента фосфатазы фосфатсолюбилизирующими микроорганизмами влияет как химический состав субстрата, так и вид штамма микроорганизма, что соответствуют результатам исследователей [15,36], которые установили, что эффективность фосфатсолюбилизации минеральных и органических фосфатов зависит от видового состава и жизнеспособности микроорганизмов, продукции ими ферментов фосфатаз и органических кислот, а также, генетических особенностей почв и уровнем культуры земледелия [37,38].

Исследование фосфатмобизирующей активности ФБУ BBs и ФБУ BTh показали, что ФБУ BBs на основе штамма *Bacillus subtilis BS-26* хорошо растворяют не усвояемый растениями $Ca_3(PO_4)_2$ (рис.3). В работах исследователей находим указа-

ние на то, что органические кислоты, секретируемые микроорганизмами, способствуют растворению и переходу в почвенный раствор как минеральных, так и органических фосфатов, после которого становится возможным ферментативное высвобождение органических фосфатов фосфатазами [39,40].

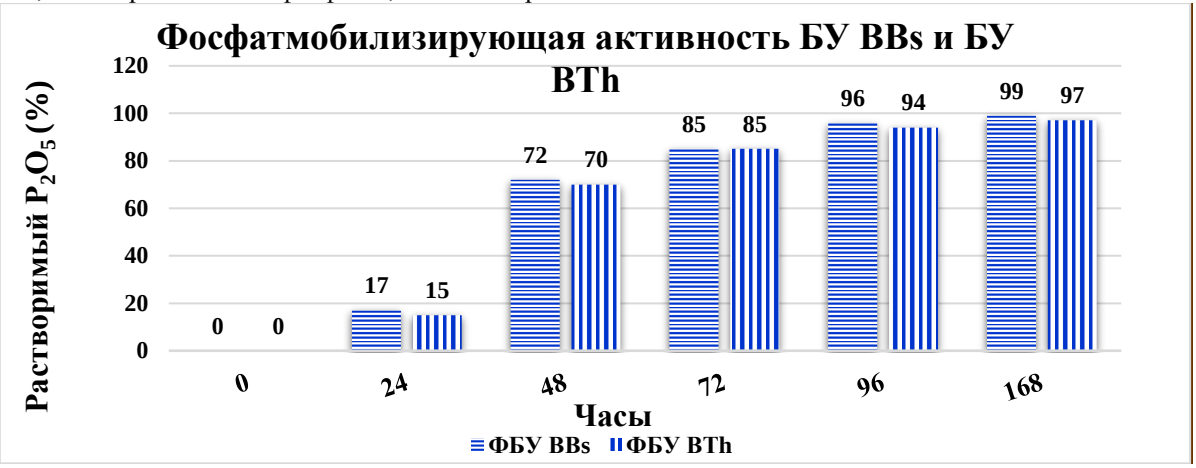


Рисунок 3. Фосфатмобилизирующая активность ФБУ BBs и ФБУ BTh.

Уровень растворение $Ca_3(PO_4)_2$, повышалось с увеличением периода инкубации, а количество P_2O_5, высвобождаемого в среду, зависело от штамма ФММ. Наибольшее количества (70-72%) трикальцийфосфата $Ca_3(PO_4)_2$ растворились в течение 48 ч, при этом наибольшая часть растворение (99%), наблюдалась в опыте ФБУ BBs в течение 168 ч ферментации.

Количество P_2O_5, высвобождаемого в культуральный жидкость при растворении $Ca_3(PO_4)_2$, в варианте ФБУ BTh составило 97% через 168 ч после инкубации. Полученные результаты указывает на то, что ФБУ BBs проявил наиболее эффективный фосфатмобилизирующий активность при культивировании на среду NBRIP содержащий нерастворимый $Ca_3(PO_4)_2$. Видимо это связано с видовыми особенностями штаммов, что имели неодинаковый диапазон вариаций эффективности фосфатмобилизации, что соответствуют мнениями исследователей [41], которые утверждают, что эффективность фосфатсолюбилизации зависит от видовых особенностей ФММ, состава среды, жизнеспособности микроорганизмов, продукции органических кислот и фермента фосфатазы.

При исследовании кислотности культуральной жидкости наблюдалась значимые корреляции между значениями измерений pH и количеством солюбилизированного P_2O_5. Понижение значений pH однозначно указывает на продукцию органических кислот штаммами микроорганизмов в процессе метаболизма. Было высказано предположение, что бактериальный штамм, уменьшающий среду pH во время роста был эффективным солюбилизатором P_2O_5. Следовательно, частичное снижение значений pH указывает на то, что производство кислот является одним из основных механизмов, ответственным за солюбилизацию фосфора [28,29,30].

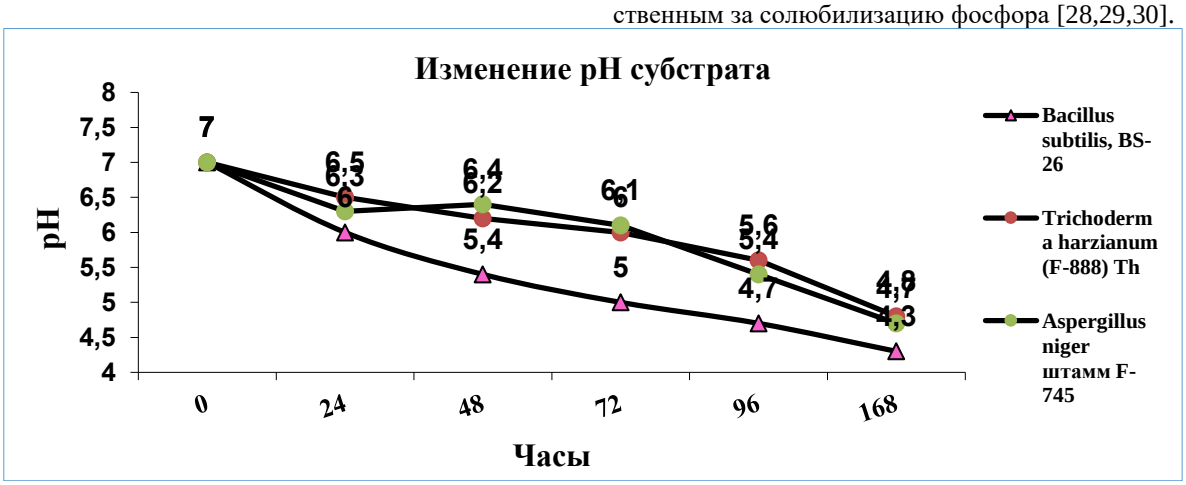


Рисунок 2. Изменение pH субстрата NBRIP.

Этот вывод согласуется и с мнениями исследователей [42], показавшие, что солюбилизация нерастворимого фосфата была связана со снижением pH среды NBRIP, и они обнаружили высокую отрицательную корреляцию между высвобождаемым растворимым фосфором и pH. Влияние органических кислот на солюбилизацию фосфата часто объясняется снижением pH и хелатирующих свойств катионов [42,43]. Подкисление периметра микробных клеток приводит к высвобождению аниона P_2O_5 путем замещения H^+ и Ca^{2+} [36,45,46].

Выводы. Таким образом анализ химического состава растительных отходов лекарственных трав

показали, что суммарное содержание полисахаридов в шроте *Haplophyllum perforatum* (64,0% 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 (11,8%) отходы могут быть сырьем для получения различных ароматических и фенольных соединений для пищевой, фармацевтической и парфюмерной промышленности. По содержанию золы объект удовлетворяют требованиям к сырью для получения адсорбентов тяжелых металлов и радионуклидов. Высокое содержание пентозанов в отходах (27,5%) позволяет применять их как сырьё для получения таких ценных товаров как гемицеллюлозы, ксилозы, ксилита или в гидролизном производстве для получения фурфурола.

Оба биоудобрения (ФБУ BBs, ФБУ BTh), полученные ферментацией шрота отходов ФММ штаммов *Bacillus subtilis BS-26* и *Trichoderma harzianum* F-888 показали высокой фосфатазной активностью (628,6-605,3 мг п-нитрофенола $кг^{-1}$ ФБУ $час^{-1}$.). При этом наибольшей фосфатазной активность проявил ФБУ BBs – 628,6 мг п-нитрофенола $кг^{-1}$ ФБУ $час^{-1}$. Установлено, что уровень растворение $Ca_3(PO_4)_2$, повышалось с увеличением периода инкубации, а количество P_2O_5, высвобождаемого в среду, зависело от штамма ФММ. Наибольшее количества (70-72%) трикальцийфосфата растворились в течение 48 ч, при этом наибольшая часть растворение $Ca_3(PO_4)_2$ (99%), наблюдается в опыте ФБУ BBs в продолжительности ферментации168 ч. При этом установлено значимые корреляции между значениями измерений pH и количеством солюбилизированного P_2O_5.

Результаты исследования показали, что отходы (шрот) переработки лекарственного растения *Haplophyllum perforatum* является хорошим субстратом для ферментации ФММ и их биоконверсии в биоудобрения с фосфатмобилизирующей активностью. ФБУ полученная на основе вторичных отходов лекарственной травы обладает способностью мобилизовать фосфор как минеральных, так и органических фосфатов, посредством органических кислот и ферментов фосфатаз.

Финансирование данной статьи осуществлялось из внебюджетных средств Института Химии растительных веществ АН РУз.

Список литературы

1. Botirov, Erkin & Yuldashev, M. & Matkarimov, A. & Malikov, Vosit. (2019). Coumarins, flavonoids and lignans from five plant species of thegenus Haplophyllum A. Juss. 10.13140/RG.2.2.13504.76802. Botirov, Erkin & Yuldashev, M. & Matkarimov, A. & Malikov, Vosit. (2019). Кумарины, флавоноиды и лигнаны пяти видов растений рода Haplophyllum A. Juss. 10.13140/RG.2.2.13504.76802.

2. Саякова Г.М., Датхаев У.М., Кисличенко В.С. Фармакогнозия [Электронный ресурс]: учебник / - М. : Литтерра, 2019.

3. Ratheesh M, Sindhu G, Helen A. Anti-inflammatory effect of quinoline alkaloid skimmianine isolated from *Ruta graveolens* L. *Inflamm. Res. Off. J. Eur. Histamine Res. Soc.* 2013;62:367–376. [PubMed] [Google Scholar] [Ref list].

4. Kiplimo JJ, Islam MS, Koorbanally NA. A novel flavonoid and furoquinoline alkaloids from *Vepris glomerata* and their antioxidant activity. *Nat. Prod. Commun.* 2011;**6**:1847–1850. [PubMed] [Google Scholar] [Ref list.

5. Mirzaev Y, Sanoyev Z. Thymostenic effect of furanoquinoline Skimmianine alkaloid. British journal of innovation in science and technology. Volume 2 | Issue 6 | December 2017. doi: 10.22406/bjist-17-2.6.

6. Huo CL, Wang B, Zhang X, Sun ZG. Skimmianine attenuates liver ischemia/reperfusion injury by regulating PI3K-AKT signaling pathway-mediated inflammation, apoptosis and oxidative stress. Sci Rep. 2023 Oct 25;13(1):18232. doi: 10.1038/s41598-023-45354-2. PMID: 37880319; PMCID: PMC10600244.

7. Мукумов И.У., Расулова З.А., Сайдуллаева И. Род *Haplophyllum* в Самаркандской области и его алкалоидносность // Вестник науки. 2021. №7 (40). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/rod-haplophyllum-v-samarkandskoy-oblasti-i-ego-alkaloidnosnost (дата обращения: 31.01.2024).

8. Fiot J, Jansen O, Akhmedjanova V, Angenot L, Balansard G, Ollivier E. HPLC quantification of alkaloids from *Haplophyllum* extracts and comparison with their cytotoxic properties. Phytochem Anal. 2006 Sep-Oct;17(5):365-9. doi: 10.1002/pca.927. PMID: 17019939.

9. Sun, L., Lee, J.W., Yook, S. *et al*. Complete and efficient conversion of plant cell wall hemicellulose into high-value bioproducts by engineered yeast. *Nat Commun* 12, 4975 (2021). https://doi.org/10.1038/s41467-021-25241-y.

10. Cunha, J. T. et al. *HAA1* and *PRS3* overexpression boosts yeast tolerance towards acetic acid improving xylose or glucose consumption: unravelling the underlying mechanisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 102, 4589–4600 (2018). Article CAS Google Scholar

11. Guojie Liu, Zexue Du, Houfang Lu, Jianli Zeng, Kejing Wu, Bin Liang. A green route for hydrogen production from alkaline thermal treatment (ATT) of biomass with carbon storage. Carbon Resources Conversion. Volume 6, Issue 4. 2023. Pages 298-314. ISSN 2588-9133, https://doi.org/10.1016/j.crcon.2023.04.001. (https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2588913323000261).

12. Bergmann JC, Trichez D, de Morais Junior WG, et al (2019) Biotechnological application of non-conventional yeasts for xylose valorization. In: Non-conventional Yeasts: from Basic Research to Application. pp 23–74.

13. Martin Blackwell, Tegan Darch, Richard Haslam / Phosphorus use efficiency and fertilizers: future opportunitiesfor improvements // Front. Agr. Sci. Eng. 2019, 6(4): 332–340. https://doi.org/10.15302/J-FASE-2019274.

14. Zhu J, Li M, Whelan M (2018) Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in

agricultural soils: a review. Sci Total Environ 612:522–537. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.095.

15. 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. DOI=10.3389/fmicb.2018.01606. ISSN=1664-302X.

16. Qian, Y., Shi, J., Chen, Y., Lou, L., Cui, X., Cao, R., Li, P., Tang, J. (2010) Characterization of phosphate solubilizing bacteria in sediments from a shallow eutrophic lake and a wetland: Isolation, molecular identification and phosphorus release ability determination. Molecules, 15, 8518-8533.

17. Оболенская А.В., Ельницкая, А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы // М.: Экология, 1991. – 320 с.

18. Славянский А.К. и др. / Химическая технология древесины // Гослесбумиздат. Москва 1962. С 364-379.

19. Е.А. Краснов, Я.В. Горина, И.П. Каминский, Т.В. Кадырова / 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. Кн.

20. Г.Г. Филипцова, И. И. Смолич / Биохимия растений: метод. рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самост. работы студентов // Мн.: БГУ, 2004. – с. 8-13.

21. Резяпкин В.И., Слышенков В.С., Заводник И.Б., Бурдь В.Н., Сушко Л.И., Романчук Е.И., Караедова Л.М. / Лабораторный практикум по биохимии и биофизике. // Гродно. ГрГУ им. Я. Купалы. 2009. https://ebooks.grsu.by/lab_pr_bio/literatura.htm.

22. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии / Ф.Х. Хазиев; Ин-т биологии Уфим. НЦ. - М.: Наука. 2005. - 252 с. - ISBN 5-024)33940-7. ст 184-186.

23. Rawia O. Shams El-Deen, Samy A. M. Abd El-Azeem, Atef F. Abd Elwahab, Saleh S. Mabrou/ Effects of Phosphate Solubilizing Microorganisms on Wheat Yield and Phosphatase Activity// Egypt. J. Microbiol. The 14th Conference of Applied Microbiology, pp. 71-86 (2020).

24. ГОСТ 26204-91 Почвы. Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Чирикова в модификации ЦИНАО. М.: Изд-во стандартов, 1992.

25. Caicedo, M., Barros, J., and Ordбs, B. (2016). Redefining agricultural residues as bioenergy feedstocks. Materials 9:E635. doi: 10.3390/ma 9080635.

26. Saha, B. C. (2003). *Hemicellulose bioconversion. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 30(5), 279–291*. doi:10.1007/s10295-003-0049-x.

27. 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.

28. Кузнецов Б.Н. / Актуальные направления химической переработки возобновляемой растительной биомассы // Химия в интересах устойчивого развития. 2011. Т. 19, № 1. С. 77–85.

29. Heitner C., Dimmel D., Schmidt J. Lignin and Lignans: / Advances in Chemistry. // Eds. CRC Press: Taylor and Francis Group, 2010. 683 p.

30. Guo et al.,(Aofei Guoa, Zhihui Sunb, Hu Fenga, Hong Shangc, Noppadon Sathitsuksanohd). State-of-the-art review on the use of lignocellulosic biomass in cementitious materials. Sustainable Structures. SUST, 2023, 3(1): 000023. doi: 10.54113/j.sust.2023.000023.

31. Bajpai P. / Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production // Springer Briefs in Green Chemistry for Sustainability. India. 2016. P 7-11.

32. 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.

33. Sato, T., Ezawa, T., Cheng, W., and Tawaraya, 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.

34. 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.

35. 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.

36. 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.

37. Cherchali, A., Boukhelata, N., Kaci, Y., Abrous-Belbachir, O., Djebbar, R. (2019) / Isolation and identi⁓cation 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.

38. 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.

39. Lambers H., Shane M.W., Cramer M.D., Pearse S.J., Veneklaas E.J. (2006) / Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. // Ann. Bot. 98: 693-713.

40. Plassard C., Dell B. (2010) / Phosphorus nutrition of mycorrhizal trees. // Tree Physiol. 30: 1129-1139.

41. Qian, Y., Shi, J., Chen, Y., Lou, L., Cui, X., Cao, R., Li, P., Tang, J. (2010) / Characterization of phosphate solubilizing bacteria in sediments from a shallow eutrophic lake and a wetland: Isolation, molecular identication and phosphorus release ability determination. // Molecules, 15, 8518-8533.

42. Abd El-Azeem, S.A.M., Mehana, T.A., Shabayek, A.A. (2007) / Some plant growth promoting traits of rhizobacteria isolated from Suez Canal Region, Egypt. // African Crop Science Conference Proceedings, 8, 1517-1525.

43. Wei, Y., Zhao, Y., Shi, M., Cao, Z., Lu, Q., Yang, T., Fan, Y., Wei, Z. (2018) / Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. // Bioresource Technology, 247, 190-199.

44. Cherchali, A., Boukhelata, N., Kaci, Y., Abrous-Belbachir, O., Djebbar, R. (2019) / Isolation and identication 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.

45. Zeroual, Y., Chadghan, R., Hakam, A., and Kossir, A. (2012). / Biosolubilization of mineral insoluble phosphates by immobilized fungi (Aspergillus niger) in fluidized bed bioreactor. // J. Biotechnol. Biomater. S6:e004. doi: 10.4172/2155-952X.S6-004.

46. Behera, B. C., Yadav, H., Singh, S. K., Mishra, R. R., Sethid, B. K., Dutta, S. 46. K., et al. (2017). / Phosphate solubilization and acid phosphatase activity of Serratia sp. isolated from mangrove soil of Mahanadi river delta, Odisha, India. // J. Genet. Eng. Biotechnol. 15, 169–178. doi: 10.1016/j.jgeb.2017.01.003.