

СҮТ ӨНІМДЕРІНЕН ЛАКТОЗАҒЫДЫРАТУШЫ АШЫТҚЫЛАРДЫ БӨЛІП АЛУ ЖӘНЕ ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ

Мырзахметова Г.М. *, Уалиева П.С., Абдиева Г.Ж.

әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

* mgm2000@bk.ru

АНДАТПА

Маңызды тағамдық және биологиялық факторлардың құрамы бойынша ең құнды субстраттардың бірі – сүт өнімдері болып табылады. Сүт өнімдерін тағамдық мақсатта тікелей пайдалану жоғары қышқылдық пен ерекше органолептикалық сипаттамалардың үйлесімімен ерекшеленеді. Олардағы белсенді ингредиенттердің рөлін ашытқы жасушалары атқарады, өйткені олар айқын лакто- және бифидогендік әсерге ие. Лактозағдыратушы ашытқылар молекулалық генетиканың негізгі объектілерінің бірі болып саналады және бірқатар биологиялық белсенді заттардың продуценттері ретінде кеңінен қолданылады. Соңғы жылдары сүт сарысуын және шұбатты өнеркәсіптік өңдеудің принципті жаңа бағыты белсенді және мақсатты түрде қалыптасты, сонымен қатар мақсатты өнімдер болып табылатын туынды компоненттерді алуға негіз болды. Зерттеу жұмысының мақсаты: сүт сарысуынан және шұбаттан лактозағдыратушы ашытқыларды бөліп алу және идентификациясын жүзеге асыру. Ашытқы штамдарының өсу динамикасы Сабуро қоректік ортасында, аэробты өсу жағдайында зерттелді, сонымен қатар Брэдфорд, Глушанов әдістерін қолдана отырып жүргізілді. Зерттеу барысында «Amiran» ЖШС сүт сарысуы, «Саржайлау» ЖШС шұбатының микробтық қауымдастығының микробиологиялық көрсеткіштері мен таксономиялық құрамы зерттелді. Сүт өнімдерінің физико-химиялық және органолептикалық сипаттамалары зерттелді. Субстрат үлгілерінен ашытқылардың 2 түрлі штамы бөлініп алынды. Бөлініп алынған ашытқылардың морфолого-дақылдық қасиеттері зерттеліп, нәтижесінде IL1 және IL2 штамдары *IL1-Pichia fermentans*, *IL2-Pichia fermentans* түріне дейін идентификацияланды.

Түйін сөздер: сүт өнімдері, ашытқы дақылдары, сүтқышқылды бактериялар, лактозағдыратушы ашытқылар, молекулалық-генетикалық идентификация.

КІРІСПЕ

Сүт өнімдері – функционалды, құрылымдық сүтқышқылды өнімдерді, сусындарды, сүт қантын, биостимуляторларды, тағамдық және жемдік мақсаттарға арналған микробтық ақуызды, ферменттік препараттарды және т.б. жасау үшін жақсы негіз болып табылады.

Сүт өнімдерінде микроорганизмдердің көптеген түрлерімен оңай сіңетін көміртегімен қоректену көздерінің, сонымен қатар әртүрлі өсу факторларының болуы - оны микроб синтезі өнімдерін алу үшін ең құнды қоректік орталардың біріне айналдырады. Сүт өнімдерін пайдалану арнайы дайындықты қажет етпейтіні маңызды және ондағы микроорганизмдер өскеннен кейін қоректік ортаны қосымша өңдеусіз тағамдық және жемдік мақсатта пайдалануға болады.

Ашытқылардың өсу процесінде сүт өнімдері тек ақуызға және витаминдерге бай ашытқы биомассасымен ғана емес [1], сонымен қатар биологиялық белсенді заттардың тұтас кешенімен – ашытқылардың эндо- және экзогендік белсенділігінің өнімдерімен байытылады, нәтижесінде жоғары тиімді биологиялық белсенді өнімге айнала отырып, сапалы жаңа қасиеттерге ие болады [2].

Сүт өнімдерін өңдеудің әртүрлі әдістері бар, олар одан ең құнды ингредиенттерді бөліп алумен немесе оның барлық компоненттерін пайдаланумен байланысты болуы мүмкін. Бұл микробтық синтез өнімдерін алу үшін ақуызды, сүт қантын алу, глюкоза-галактоза сиропын, әртүрлі сусындарды дайындау, микроорганизмдерді өсіру үшін орта ретінде пайдалану [3]. Дегенмен, барлық нұсқалардың ішінде спирт алу үшін сүт өнімдерін лактозаны ашытатын ашытқылардың әртүрлі дақылдарымен ашыту бүгінгі күні өте өзекті болып қала береді және зерттеушілер

үшін үлкен қызығушылық тудырады.

Сонымен қатар, лактаза ферментінің болмауы немесе төмен белсенділігіне байланысты ферментопатияның таралуының артуына байланысты лактозаны ыдыратуға қабілетті ашытқылар функционалды ферменттелген өнімдерді құруда маңызды рөл атқарады [4]. Дегенмен, өнеркәсіптік маңызды қалдық өнімдерді синтездеу мүмкіндігі бар бірқатар лактозағдыратушы ашытқы дақылдары бар. Синтезделген заттардың табиғаты мен микроб жасушасы үшін маңызы бойынша олар үш негізгі топқа бөлінеді: ірі молекулалар (ферменттер, молекулалық массасы 10 мыңнан бірнеше миллионға дейінгі полисахаридтер); бастапқы метаболиттер (микроорганизмдердің өсуіне қажетті қосылыстар: витаминдер, пурин және пиримидиндік негіздер, амин қышқылдары және т.б.); екіншілік метаболиттер (микроорганизмдердің өсуіне қажет емес қосылыстар: токсиндер, алкалоидтар, антибиотиктер және т.б.) [5-6].

Лактозаны ыдыратушы ашытқымен синтезделген метаболиттер спектрі олардың жоғары өндірістік құндылығын анықтайды. Қазіргі уақытта ашытқыдан спирт, әртүрлі ферменттік препараттар, органикалық қышқылдар, полисахаридтер, көп атомды спирттер, витаминдер мен витаминдік қоспалар алу үшін, басқа да көптеген ұсақ процестерде қолданылады [7]. Сондай-ақ, лактозағдыратушы ашытқылар диеталық және емдік ашытылған сүт сусындарын, сондай-ақ майсыздандырылған сүттен, айраннан, сарысудан дайындалған ашытылған сүтті сусындарды өндіруде кеңінен қолданылады.

Сүт өнімдерінің құрамын лактозағдыратушы ашытқылармен байыту сүт қышқылды бактерияларының дамуын белсендіреді, органолептикалық қасиеттерін

жақсартады. Азық-түлік белоктарының жетіспеушілігі жағдайында ашытқы биомассасы тек белок пен алмастырылмайтын аминқышқылдарының ғана емес, сонымен қатар минералдардың, витаминдердің және басқа да биологиялық белсенді заттардың перспективалы көзі болып табылады [8-9]. Ашытқы жасушаларының қабырғалары токсиндер мен улы метаболиттерді белсенді түрде сіңіреді, пробиотикалық микрофлора жасушаларының дамуын ынталандырады - бифидобактериялар, ацидофильді таяқшалар, т.б. ашытқы препараттары микроорганизмнің өз флорасын қорғау стимуляторы ретінде тек нәрлендіру емес, сонымен қатар парафармацевтикалық препараттар рөлін атқара алады [10].

Ашытқылардың парафармацевтикалық қасиеттерін қамтамасыз ететін бірнеше механизмдер бар. Солардың бірі – ашытқы жасушаларының қабырғаларында болатын патогенді микроорганизмдерді маннанолигосахаридтермен сорбциялау. Патогендік микроорганизмдер ішек эпителий жасушаларына осы жасушалардың бетінде орналасқан көмірсуларды тануға қабілетті лектиндік рецепторлардың көмегімен бекінетіні белгілі. Бұл маннанолигосахаридтерді ассимиляциялау үшін ферменттік кешендері бар лакто- және бифидогенді микрофлораны ынталандырады [11-12].

Осылайша, табиғи көздерден оқшауланған дақылдар лактозаны және оның құрамдас бөліктерін - глюкоза мен галактозаны - тамақтанудың негізгі көзі ретінде дербес ашытуға қабілетті сүт ашытқыларының штамдары болып табылады. Сонымен қатар, микроорганизмдердің зерттелетін дақылдарында белсенді галактосимаза ферменттік жүйесі бар. Бұл ерекшеліктер осы штамдарды немесе олардың табиғи ассоциациясын гетероферментативті ашыту өнімдерін өндірумен байланысты технологиялық процестерде пайдалану перспективаларын ашады [13-14].

Жүргізілген зерттеулердің ғылыми жаңалығы – ашытудың қосымша көздерін қоспай, сүт өнеркәсібінің қайталама шикізатын пайдалану арқылы процестің тиімділігін арттыру және өзіндік құнын төмендету. Яғни, жасалған технология сүт өнеркәсібінің қайталама шикізатын ұтымды пайдалануға ықпал етіп, өндірістің рентабельділігін арттырады және қоршаған ортаның ластану деңгейін төмендетеді.

Сүт өнеркәсібінде маңызды рөл атқаратын лактозадыдыратушы ашытқылар сүт қантын ашытып, спирт пен көмірқышқыл газын түзеді, бұл өнімнің дәмін жақсартады және оның ағзаға сіңімділігін арттырады. Лактозаны ыдырататын ашытқылар қоректік ортада спирттік ашытуды бастап, витаминдерді, туберкулез таяқшаларына және басқа бактерияларға, соның ішінде ішек таяқшаларына қарсы белсенді антибиотиктік заттарды жинақтап, сүт қышқылы бактерияларының дамуын белсендіретіні белгілі [15-16].

ЗЕРТТЕУ ӘДІСТЕРІ

«Amiran» сүт сарысуы және «Саржайлау» шұбатының микробтық қауымдастығының микробиологиялық көрсеткіштерін және таксономиялық құрамын зерттеу

Микроорганизмдердің физиологиялық топтарын және санын анықтау қатты қоректік орталарда табиғи субстрат

үлгілерін сұйылту әдісімен жүзеге асырылды. Үлгілердегі микроорганизмдердің колония түзуші бірліктерінің титрі анықталды, яғни зерттелген микроорганизмдердің суспензиясының белгілі бір көлемі Петри табақшаларына қатты ортаға егіліп, инкубациядан кейін өсіп шыққан колонияларға санау жүргізілді. Инокуляцияларды инкубациялаудан кейін өсірілген колониялардың саны анықталды және 1 г үлгідегі колония түзуші бірліктердің (КТБ) саны анықталды. Глушанов әдісі ашытқы штамдарының биосәйкестілігін анықтау үшін қолданылады. Жұмыс жүргізуге қажетті ашытқы штамдарын көбейтіп алғаннан кейін Глушанов әдісін пайдалана отырып консорциум құру процесі жүзеге асырылды. Консорциум құру ашытқы штамдарының бір-біріне биосәйкестігін анықтау арқылы жүргізілді. Бредфорд бойынша ақуыз концентрациясын анықтау әдісі төмен ақуыз концентрациясы бар ерітінділерді өлшеу кезінде сәтті қолданылды. Бредфорд әдісі ақуыз концентрациясын дәл анықтауға мүмкіндік беріп қана қоймай, басқа әдістермен салыстырғанда арзан әрі қолжетімділігімен ерекшеленеді. Табиғи субстраттардың микрофлорасының сапалық және сандық құрамын зерттеу микробиологияның дәстүрлі әдістерімен жүргізілді. МАФАНМ (мезофильді аэробты және факультативті анаэробты микроорганизмдер) микроорганизмдерінің жалпы санын анықтау үшін ет-пептонды агар қолданылады. Микроорганизмдердің әртүрлі физиологиялық топтарының санын анықтау үшін элективті сәйкес қоректік орталарды пайдаланады. Ашытқылар мен сүтқышқылды бактерияларын бөліп алу үшін қатты және сұйық Сабуро, MRS орталары қолданылды. Дақылдарды өсіру термостатта 28°C-37°C температурада 2-5 тәулік бойы жүргізілді. Ашытқыларды өсіру үшін қоректік орта ретінде Сабуро ортасы (ашытқы үшін), (г/л): глюкоза-40,0; пептон-10,0; агар 18,0-20,0, құбыр суы және MRS ортасы (г/л): ет экстракты-8,0; ашытқы экстракты-5,0; аммоний цитраты-2,0; натрий ацетаты-5,0; глюкоза-20,0; магний сульфаты-0,20; марганец сульфаты-0,05; калий дигидрофосфаты-2,0; агар-агар-12,0.

«Amiran» сүт сарысуы және «Саржайлау» шұбат үлгісінен таза дақылдарды бөліп алу әдістері

Таза дақылдарды бөліп алу тығыз қоректік ортаның бетінде механикалық бөлу арқылы жүзеге асырылды (тұзақты күйдірумен штрих әдісі). Жеке колониялардың тазалығы микроскопия арқылы тексерілді және өсіру үшін қоректік агар қиғаштарына жабылды. Микроорганизмдердің таза дақылдары 2-5 тәулік бойы дақылданды.

Микроорганизмдердің морфолого-дақылдық, физиолого-биохимиялық сипаттамаларын анықтау жалпы қабылданған әдістер бойынша жүргізілді. Ашытқылардың морфологиялық және дақылдық қасиеттері келесі белгілер бойынша зерттелді: клеткалардың пішіні мен орналасуы, клетка өлшемі, қатты қоректік ортадағы колония сипаттамасы, сұйық қоректік ортада өсу сипаты.

Лактозадыдыратушы ашытқылардың перспективті штамдарын бөліп алу және идентификациялау ПТР әдісімен жүргізілді. Зерттеу нәтижелері оқшауланған ашытқы жасушаларын түрлерге сәйкестендіруді көрсетеді.

Ашытқы үлгілерін молекулалық-генетикалық идентификациялау

Зерттеу жұмысында 2 тәуліктік ашытқы штамдары қолданылды. Ашытқы ДНҚ-сын оқшаулау үшін Norgen Biotek Corp. компаниясының ашытқылардың ДНҚ оқшаулау жинағы арқылы бөлініп алынды. (Онтарио, Канада) өндірушінің хаттамасына сәйкес үлгілердегі ДНҚ концентрациясы Qubit™ dsDNA HS талдау жинағы (Life Technologies, Орегон, АҚШ) dsDNA HS шкаласы арқылы анықталды. Ашытқы саңырауқұлақтарының ITS аймағының әмбебап праймерлері қолданылды: ITS1 (5,-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3,) және ITS4 (5,-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3,). Амплификация реакциясының қоспасы мыналардан тұрды: 12,5 мкл Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix, 1,25 мкл бастапқы праймер (10 мкМ), 1,25 мкл кері праймер (10 мкМ), 1,5 мкл ДНҚ және 8,5 мл су. ПТР қоспасының жалпы көлемі 25 мкл құрады.

НӘТИЖЕЛЕР ЖӘНЕ ТАЛҚЫЛАУ

«Amiran» сүт сарысуы және «Саржайлау» шұбатының физико-химиялық және органолептикалық қасиеттері

Сүт сарысуы – ірімшік, сүзбе, казеин өндірісіндегі қосымша өнім. Сүт сарысуының құрамы айтарлықтай өзгереді және ол өндірілген ірімшік түрінен сарысу және оның майлылығы; сүзбе үшін – сүзбе өндіру әдісінен және оның майлылығынан; казеин – өндірілген казеин түрімен тығыз байланысты болады. Майлы ірімшіктерді өндіруде негізінен казеин және сүт майы тұтынылады, және қалған компоненттер айтарлықтай мөлшерде сүт сарысуына өтеді.

Екінші сүт шикізатының химиялық құрамы, энергетикалық немесе тағамдық құндылығы және физикалық қасиеттері көбінесе оны өндіру әдістеріне байланысты. Қазіргі уақытта сүтте кездесетін барлық дерлік қосылыстар белгілі бір дәрежеде екіншілік сүт шикізатына өтеді [17-18]. Зерттеу жұмыстары үшін алынған сүт сарысуының органолептикалық қасиеттерін зерттеу нәтижесінде «Amiran» ЖШС сүт сарысуы таза сүт дәмі мен сүт иісі бар, консистенциясы тұнбасыз біртекті мөлдір емес сұйықтық, түсі ақтан ашық сарыға дейін болды. «Саржайлау» ЖШС шұбатының органолептикалық қасиеттерін зерттеу нәтижесінде шұбат қышқылтым дәмі мен шұбат иісі бар, консистенциясы тұнбасыз біртекті мөлдір емес сұйықтық, ақ-ақшылтым түсті болды. Сарысу мен шұбатқа сәйкес келетін консистенциясы мен қалыпты сыртқы түрі, дәмі мен иісі біркелкі болуы сарысу және шұбат өндіру кезеңінде барлық санитарлық нормалар мен ережелердің сақталуын куәландырады. Сарысу мен шұбаттың физико-химиялық көрсеткіштері 1-кестеде көрсетілген.

1-кесте «Amiran» ЖШС сүт сарысуы және «Саржайлау» ЖШС шұбатының физико-химиялық көрсеткіштері

Субстрат	Көрсеткіштер			
	Май %	Белок %	Көмірсу %	Энергетикалық құндылығы, ккал/г
«Amiran» сүт сарысуы	0,3	0,9	3,5	21
«Саржайлау» шұбаты	0,7	2,9	3,8	65

1-кестеге сәйкес, «Amiran» сүт сарысуы және «Саржайлау» шұбат үлгілерінде сәйкесінше: майлар – 0,3-0,7%, белоктар – 0,9-2,9%, көмірсулар 3,5-3,8% аралығында, энергетикалық құндылығы 21 және 65 ккал/г құрады. Нәтижелер таңдалған сүт, ірімшік сарысуын және шұбат өндірушілердің өнімдерінің және пайдаланылған сарысудың сапасының жақсы екенін көрсетеді.

Сүт сарысуының микробтық қауымдастығының микробиологиялық көрсеткіштері және таксономиялық құрамы

Сүт сарысуы микроорганизмдердің дамуы үшін жақсы қоректік орта болып табылады, олардың шығу тегі пастерленген сүттің қалдық ыстыққа төзімді және термофильді микрофлорасымен де, өнімдерді өндіруде қолданылатын ашытқы микрофлорасымен де байланысты. Түрлі тәсілдермен алынған сүзбе сарысуының микрофлорасының құрамы әртүрлі болуы мүмкін. Сарысуда өзіне тән ашытқы микрофлорасы бар, сонымен қатар бөтен микрофлораны, мысалы, пастерлеуден кейін қалатын ыстыққа төзімді түйіршікті таяқшаларды табуға болады.

Микробиологиялық талдау, зерттелген үлгілердің микроскопиясы сарысу үлгілерінде бөгде микрофлораның болуын анықтаған жоқ. Өнімдердің микробиологиялық көрінісі негізінен ашытқылар, лактобактериялар және лактококктар дақылдарымен ұсынылған.

MRS қатты қоректік ортасында КТБ сүтқышқылды бактериялардың саны 1,5-5,2x10⁷ КТБ/мл құрады. Sabourand Dextrose Agar ортасында ашытқы колонияларының саны 1,6-2,4x10⁷ КТБ/мл болды. ЕПА әмбебап ортасында гетеротрофты микроорганизмдердің саны 1,1-1,8x10⁷ КТБ/мл құрады, бұл элективті ортада өскен микроорганизмдермен салыстырғанда төмен. Бұл сүт сарысуының микрофлорасында лактозаны ашытатын ашытқылардың өкілдері басым болатындығына байланысты.

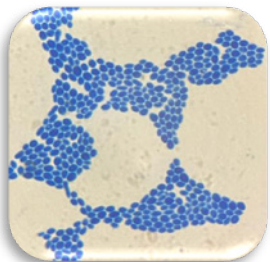

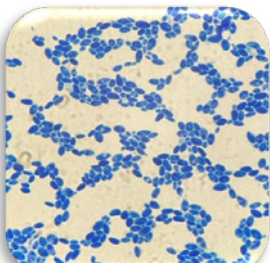

Бұл жұмыста сүт сарысуы мен шұбат үлгілерінен ашытқы штамдары бөлініп алынды. Сүт сарысуынан ашытқы дақылдарын бөліп алу дәстүрлі микробиологиялық әдіспен жүргізілді. Оларға шартты түрде атау берілді: сүт сарысуы үлгісінен IL1 штамы, ал шұбат үлгісінен IL2 штамы.

Ашытқының жинақтаушы дақылдарын алу олардың құрамында қант бар субстраттарда әлсіз қышқылдық реакциямен өсу қабілетіне және этил спиртіне төзімділігіне негізделген [19-20]. Ашытқының жинақталуы қоректік ортада тұнба мен олардың өмірлік белсенділігінің тән өнімдерінің болуымен және микроскопиялық жолмен визуалды түрде анықталды.

Ашытқы штамдарының түрлік тиістілігін анықтау үшін дәстүрлі әдістермен морфолого-дақылдық қасиет-

тері зерттелді. Ашытқылар штамдарының макро- және микроморфологиясы 2-кестеде келтірілген.

2-кесте – Ашытқы штамдарының макро- және микроморфологиясы

№	Ашытқы штамдарының микроморфологиясы	Ашытқы штамдарының макроморфологиясы
1	<p>IL1</p> 	
2	<p>IL2</p> 	

2-ші кестеде көрсетілгендей, сүт сарысуы үлгісінен бөлініп алынған IL1 ашытқы штамдары қатты ортаның бетінде дөңгелек пішінді, орташа колониялар түзді, төбесі дөңес колониялардың беті күңгірт, сонымен қатар, жылтыр, ақ, сүзбе-түйіршікті консистенциялы жылтыр бетін түзді. Вегетативті көбею әдісі бойынша ашытқылардың IL1 штамдары бүршіктену арқылы көбейеді. Ашытқы клеткаларының өлшемдері 1,9-2,8 мкм құрады. Ал, шұбат үлгісінен алынған IL2 ашытқы штамдары пішіні сопақша, көлемі орташа колониялар түзді, беті күңгірт, ақ, түйіршікті консистенциялы. Вегетативті көбею әдісі бойынша IL2 ашытқы штамдары бүршіктену арқылы көбейеді, ашытқы клеткаларының өлшемдері 2,0-2,9 мкм құрады.

Ашытқы үлгілерін молекулалық-генетикалық идентификациялау

Жұмыстың келесі кезеңінде бөлініп алынған ашытқы штамдарына молекулалық-генетикалық зерттеу жүргізілді. Нәтижесінде ПТР амплификациялау режимінде Eppendorf ProS амплификаторында (Гамбург, Германия) орындалды: 94°C – 30 сек; 55°C - 1 мин; 72°C - 40 сек - барлығы 30 цикл; 72°C - 10 мин. Амплификациялаудың нәтижелері 1,2% агарозды геледе қаралды. ПТР өнімдері CleanSweep™PCR амплификация реагентімен (Applied Biosystems, АҚШ) тазартылды.

Реакция BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, АҚШ) арқылы өндірушінің нұсқаларына [BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit Protocol Applied Biosystems USA] сәйкес орындалды, со-

дан кейін фрагменттерді бір жүйеге бөлу арқылы орындалды - автоматты генетикалық анализатор 3500 DNA Analyzer (Applied Biosystems, АҚШ). Секвенирлеу нәтижелері SeqA бағдарламасы (Applied Biosystems, АҚШ) арқылы өңделді. Ашытқы ДНҚ-ның ITS аймағының алынған нуклеотидтер тізбегі BLAST бағдарламасының көмегімен гендік банк деректер базасынан (www.ncbi.nih.gov) алынған деректермен салыстырылды.

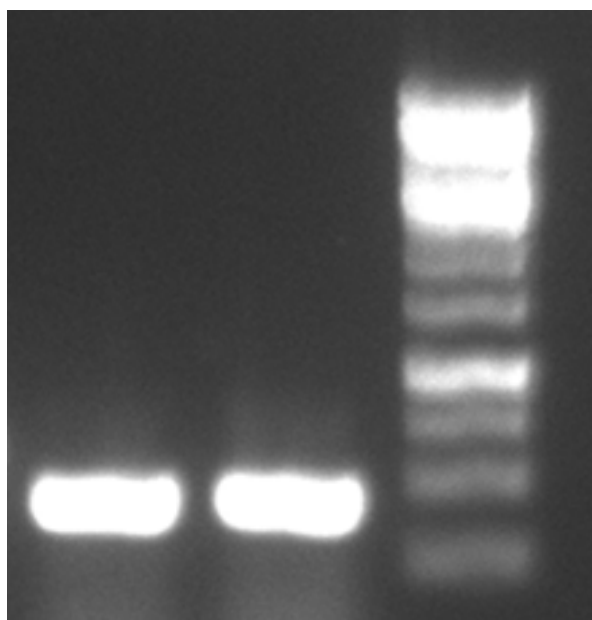
Филогенетикалық талдау MEGA6 бағдарламалық құралының көмегімен жүргізілді. Нуклеотидтер тізбегін туралау ClustalW алгоритмі арқылы орындалды.

ДНҚ концентрациясы Qubit 2.0 флуориметрінің көрсеткіштеріне сәйкес нг/мкл-мен өлшенді.

3-кесте – Ашытқы ДНҚ концентрациясы

№ п/п	Үлгі атауы	Концентрациясы, нг/мкл
1	IL1	34,2
2	IL2	76,8

ITS праймерлерімен амплификациялау нәтижесінде шамамен 500 bp ПТР өнімі алынды.



1-сурет – ПТР – ITS праймерлерімен алынған өнім
Ескерту: М – ДНҚ маркер 1 Кб.

Секвенирлеу реакциясынан кейін реттілік реакцияларын амплификациялау үшін BigDye X Terminator Purification Kit көмегімен ПТР өнімін екінші амплификациялау орындалды. Осыдан кейін үлгілер ABI 3500 генетикалық анализаторына жүктеліп, капиллярлық форез жасалды.

IL1 - *Pichia fermentans* (синонимі: *Candida fimetaria*; *Candida lambica*; *Mycoderma lambica*)

Нуклеотидтердің ITS аймағын секвенирлеу арқылы алынған тізбектілігі:

CGAAACACCGAAACCGAACGCACGCCGTC AAGC
AAGAAATCCACAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTG
GTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCAGCGAAATGCGAT
ACCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGT
TCTTGAACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCGG
GCATGCCTGTCTGAGCGTCGTTTCCTTCTTGGAGCGG

TGCTTCAGACCTGGCGGGCTGTCTTTTTGGACGGCG
CGCCCAAAGCGAGGGGCCTTCTGCGCGAACTAGACT
GTGCGCGCGGGGCGGCCGGCGAACTTATTACCAAGC
TCGACCTCAGATCAGGCAGGAGTACCCGCTGAACTT
AAGCATATCAATAAGCGGAGGA

Филогенетикалық ағаш зерттелетін үлгінің *ITS* аймағын Халықаралық Blast дерекқорында орналасқан анықтамалық штамдар тізбегімен салыстыру арқылы құрастырылған.

Ең жақын **KX905285.1:14-395 *Pichia fermentans* CL1** штамымен гомология дәрежесі 100,00% құрады.

IL2 – *Pichia fermentans* (синонимі: *Candida fimetaria*; *Candida lambica*; *Mycoderma lambica*)

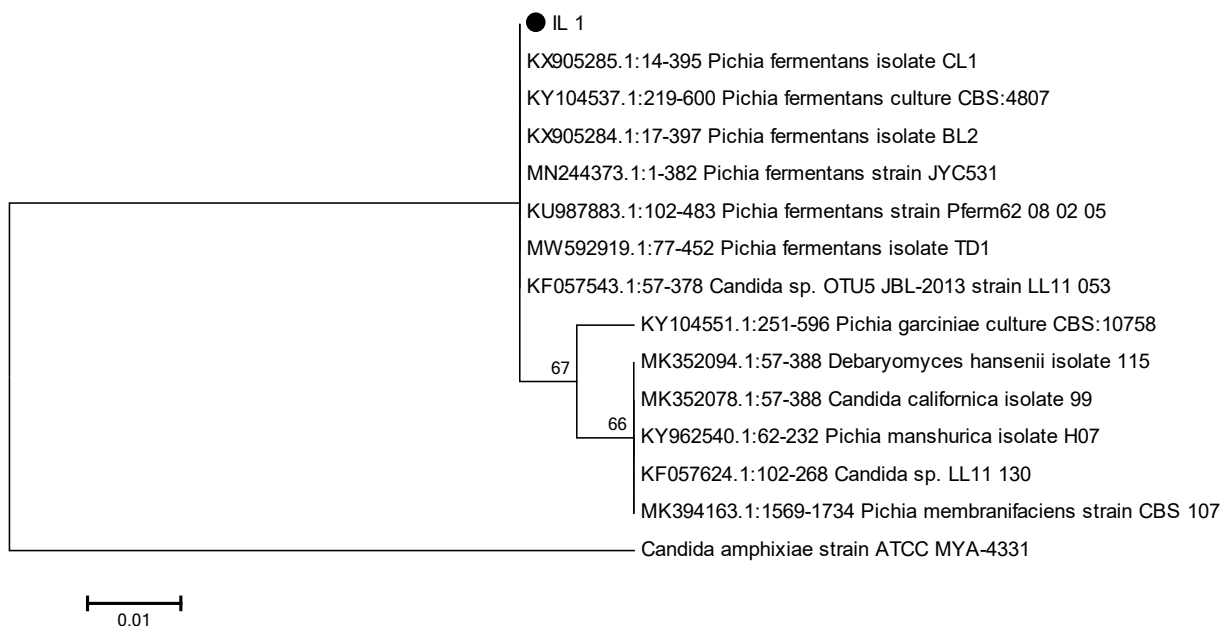
Нуклеотидтердің ITS аймағын секвенирлеу арқылы алынған тізбектілігі:

ACGAAACACCGAAACCGAACGCACGCCGTC AAG
CAAGAAATCCACAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTT
GGTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCAGCGAAATGCGA
TACCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAG
TTCTTGAACGCACATTGCGCCCGCTGGTATTCCGGCG
GGCATGCCTGTCTGAGCGTCGTTTCCTTCTTGGAGCG
GTGCTTCAGACCTGGCGGGCTGTCTTTTTGGACGGC
GCGCCCAAAGCGAGGGGCCTTCTGCGCGAACTAGAC
TGTGCGCGCGGGGCGGCCGGCGAACTTATTACCAAG
CTCGACCTCAGATCAGGCAGGAGTACCCGCTGAACT
TAAGCATATCAATAAGGCG

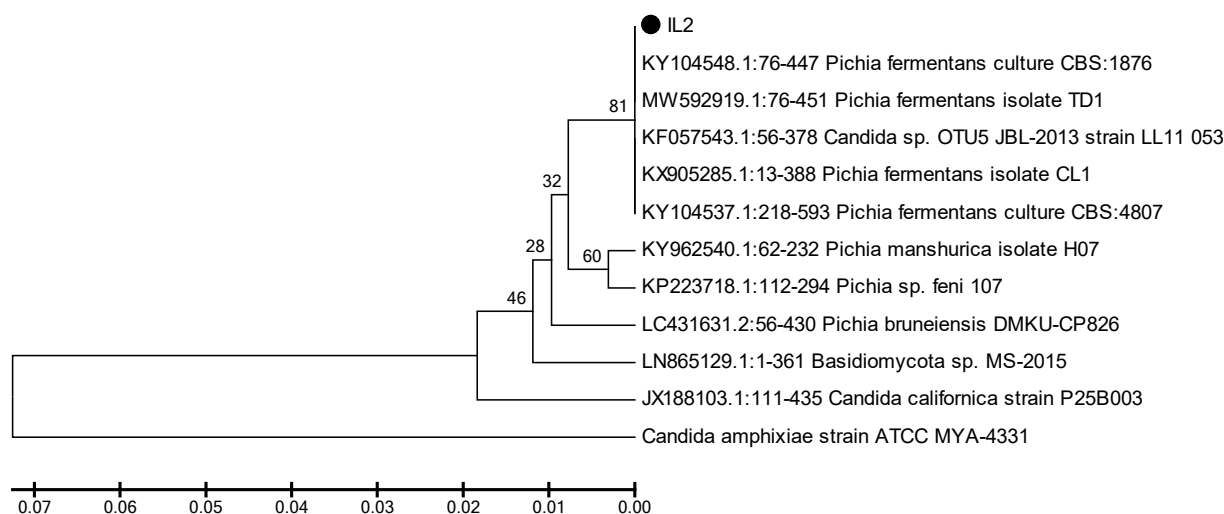
Филогенетикалық ағаш зерттелетін үлгінің *ITS* аймағын Халықаралық Blast дерекқорында орналасқан анықтамалық штамдар тізбегімен салыстыру арқылы құрастырылған.

Ең жақын **KY104548.1:76-447 *Pichia fermentans* culture CBS:1876** штамымен гомология дәрежесі 100,00% құрады.

Зерттеу нәтижелері бойынша ашытқы штамдарының морфологиялық және дақылдық қасиеттері дәстүрлі әдістермен зерттеліп, сонымен қатар ПТР талдау нәтижелері негізінде филогенетикалық ағаш құрылып, бөлініп



2-сурет – Сүт сарысуы үлгісінен бөлінген *ILI* штамының филогенетикалық ағашы



3-сурет – Шұбат үлгісінен бөлінген *IL2* штамының филогенетикалық ағашы

алынған ашытқы штамдарын келесі түрлерге жатқызуға мүмкіндік берді: *IL1* штамы *Pichia fermentans*, *IL2* штамы *Pichia fermentans*.

Ашытқылар өсу процесінде энергия көзі ретінде сарысу лактозаны және сүт қышқылын пайдалана отырып, құрамында минералды азот бар тұздарды толық клеткалық ақуызға айналдырады. Әдеби деректерге сүйенсек, ашытқы сарысуындағы ақуыз мөлшері бастапқы сарысуға қарағанда едәуір жоғары [21].

Сүт сарысуында жеңіл сіңірілетін көміртек көздерінің және өсу факторларының болуы оны биотехнологиялық процесстерде перспективалы шикізат деп санауға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, сарысуды толық және ұтымды пайдалану мәселесі экономикалық тұрғыдан да, экологиялық тұрғыдан да өзекті болып табылады.

Осылайша, сарысуды өңдеудің әртүрлі әдістері белгілі, дегенмен барлық нұсқалардың ішінде спирт алу үшін лактозаны ашытатын ашытқының әртүрлі дақылдарымен сарысуды ашыту бүгінгі күнге дейін өзекті болып қала береді және зерттеушілердің қызығушылығын тудырады.

ҚОРЫТЫНДЫ

1. «Amigan» ЖШС сүт сарысуы және «Саржайлау» ЖШС шұбатының физико-химиялық және органолептикалық қасиеттері зерттелді.

2. Сүт сарысуы мен шұбат үлгісінің микробтық қауымдастығының микробиологиялық көрсеткіштері және таксономиялық құрамы зерттелді. Сүт сарысу микробтық қауымдастығының таксономиялық құрамында лактозаны ашытатын ашытқылар басым екені анықталды. Сүт сарысуы және шұбат үлгілерінен ашытқылардың 2 штамы бөлініп, олардың морфолого-дақылдық қасиеттері зерттелді.

3. Бөлініп алынған ашытқы дақылдарын түрге дейін идентификациялау ПТР талдау әдісімен жүргізілді. Сүт сарысуынан бөлінген *IL1* штамы *Pichia fermentans* түріне, ал шұбат үлгісінен бөлінген *IL2* штамы – *Pichia fermentans* түріне дейін идентификацияланды.

Өзге зерттеулерде субстрат ретінде көптеген табиғи шикізаттар қолданылған, сәйкесінше таңдалған үлгілердің микробтық қауымдастығының микробиологиялық көр-

сеткіштерін, таксономиялық құрамын, сонымен қатар физико-химиялық және органолептикалық қасиеттерін зерттеу нәтижелерінде мәндік көрсеткіштерінде айырмашылықтар анықталған. Субстрат ретінде қымыз және сиыр сүті алынған зерттеу жұмыстарында картоп-лактозды агарға егілгенде беті тегіс дөңес, жылтыр, сұр-ақ түсті колониялар алынды. Сүт сарысуы және шұбаттан бөлініп алынған ашытқы колониялары сиыр сүті мен қымыздан бөлініп алынған ашытқы колонияларына қарағанда көлемі жағынан үлкенірек және колониялардың саны көбірек болды. Сонымен қатар, қымыздан бөлініп алынған штамдардың жасушаларында мицелий болды. Жалпы, сүт сарысуы мен шұбаттан бөлініп алынған ашытқылар сиыр сүті мен қымыздан оқшауланған ашытқыларға қарағанда тотығу белсенділігі жоғары екендігі анықталды.

Жүргізілген ғылыми-зерттеу жұмыстары сүт өнімдері үлгілерін қалдықсыз өңдеу арқылы әртүрлі салаларда пайдалануға мүмкіндік береді. Атап айтқанда, қазіргі таңда маңызды әрі кең ауқымды болып саналатын биоэтанол өндірісінде сүт сарысуы мен шұбатты қолдану заманауи, болашағы зор бағыттардың бірі деп есептейміз.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Залашко М.В. Биотехнология переработки молочной сыворотки. М.: Агропромиздат, 2010. 155. - №2.- С. 192-193.
2. Carlsson R. Amaranth species and related species for leaf protein concentrate production //Proceedings of 1st Amaranth conf., Rodale Press Inc., Emma. 2015. - Vol. 12, - №1. - P. 147.
3. Дедков В.Н. Разработка биотехнологии кормого белка из растительного сырья: дис. канд. тех. наук: 03.01.06. Орловский государственный аграрный университет. – Воронеж. -2014. - № 2. -146 с. <https://doi.org/10.1002/bbb.2100>.
4. Скородумова А.М. Дрожжи молока и молочных продуктов и их производственное значение. М.: Пищевая промышленность, 2019. 3. - №1. – С. 108-113.
5. Бекенова Н.Е., Дауылбай С.С., Бекенова Э.Е., Ануарбекова С.С. Выделение и идентификация дрожжей перспективных для утилизации лактозы // Успехи современ-

ного естествознания. – 2015. – Т. 1.– № 2. – С. 126-131.

6. Борисенко Е.Г. Функциональные свойства дрожжей и бактерий, входящих в состав микробных корректоров пищевого и кормового назначения / Е.Г. Борисенко, К.В. Горин, Н.С. Каночкина, Ф.С. Флуер, А.Ю. Максимушкин // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2012. - Т 1.- № 3. - 46 с.

7. Артюхова, С.И. Молочная сыворотка в функциональных продуктах / С.И. Артюхова, С.А. Макшеев, Ю.А. Гаврилова // Молочная промышленность . - 2018. 21. - № 12. - 60 с.

8. Буканова В.И. Лактозосбраживающие дрожжи кефира и их значение для его качества: дис. канд. техн. наук / Буканова В.И. - М., 2015. 12. - №2. - 110 с.

9. Голубев В.И. Отбор и характеристика дрожжей, активно сбраживающих лактозу / В.И. Голубев, Н.В. Голубев // Прикладная биохимия и микробиология. - 2014. - Т. 40. - №3. - С. 332-336.

10. Донская Г.А. Молочная сыворотка в функциональных продуктах / Г.А. Донская, Г.В. Фриденберг // Молочная промышленность. - 2013. 17. - № 6. - С. 52-54.

11. Римарева Ж.В. Теоретические и практические основы биотехнологии дрожжей: учебное пособие / Ж.В. Римарева. - М.: ДеЛи принт, 2010. 11. - № 2. -256 с.

12. Рябцева С.А. Современные направления применения лактозосбраживающих дрожжей / С.А. Рябцева, С.В. Алексеенко, А.В. Забильская, Е.Е. Торбина // Материалы XII региональной научно-технической конференции «Вузовская наука - Северо-Кавказскому региону». Естественные и точные науки. Технические и прикладные науки. Ставрополь: СевКавГТУ, 2018. - Т 1. - №1. - 298 с.

13. Smithers G.W. New opportunities from the isolation and utilization of whey proteins / G.W. Smithers, F.J. Ballard, A.D. Copeland, K.J. DE SILVA, D.A. Dionysius, J.L. Francis, C. Goddard, P.A. Grieve, G.H. Mcintosh, I.R. Mitchell, R.J. Pearce, G.O. Regester // Journal of dairy science. - 2016. - Vol. 79. - №8. - P. 454-459.

14. William A. Bubb NMP Spectroscopy in the Study of Carbohydrates: Characterizing the Structural Complexity. Wiley Periodicals, Inc. Concepts in Magnetic Resonance Part A, Vol. 19 A (1), 2013, - P. 1-19.

15. Grundler W., Keilmann F. Sharp Resonances Yeast Growth Prove Nonthermal Sensitivity to Microwaver. Phys Rev Lett. 2013, - Vol. 51. - №13. - P. 114-126.

16. M. Ikonopoulou, M. Kanellaki, M. Soupioni, A.A. Kou-tinas, Appl. Biochem. Biotechnol. 2013. - Vol. 104,- №1, - P. 23-36.

17. Wee Y-J, Kim J-N, Ryu H-W. Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. Food Technol Biotech. 2016. - Vol. 44, - №1, - P. 163-172.

18. Speedy A.W. Overview of world feed protein needs and supply // Protein sources for the animal feed industry. Expert Consultation and Workshop. – Bangkok. – 2004. - Vol. 15. - № 1. - P. 9-29.

19. Browne H. Ethyl alcohol from fermentation of lactose in whey. Ind Eng Chem News Ed. 2011. - Vol. 19, - №2, - P. 1272-1276.

20. О.А. Писарев, Н.М. Ежова. Сорбционные и хроматографические процессы, 2008. - Т. 8,- №4, - С. 535-552.

21. Kaur R, Panesar P.S, Singh R.S. Utilization of Whey for the Production of β -Galactosidase Using Yeast and Fungal Culture. World Academy of Science, Engineering and Technology. 2015. - Vol. 9. - №1. - P. 690-694.

REFERENCES

1. Zalashko M.V. Biotechnologiya pererabotki molochnoi syvorotki. М.: Agropromizdat, 2010. 155. - №2. – P. 192-193.

2. Carlsson R. Amaranth species and related species for leaf protein concentrate production //Proceedings of 1st Amaranth conf., Rodale Press Inc., Emma. 2015. - Vol. 12, - №1. - P. 147.

3. Dedkov V.N. Razrabotka biotekhnologii kormovogo belka iz ractitel'nogo syr'ya: dic. ... kand. tekhn. nauk: 03.01.06. Orlovckij gocudarctvennyj agrarnyj universitet. – Voronezh. -2014. - P. 146. <https://doi.org/10.1002/bbb.2100>.

4. Skorodumova A.M. Drozhi moloka i molochnyh produktov i ih proizvodstvennoe znachenie. М.: Pishevaya promyshlennost', 2019. 3. - №1. – P. 108-113.

5. Bekenova N.E., Dauylbai S.S., Bekenova E.E., Anuarbekova S.S. Vydelenie i identifikatsiya drozhei perspektivnyh dlya utilizatsii laktozy // Uspehi sovremennogo estestvoznaniya. – 2015. – Т 1.– № 2. – P. 126-131.

6. Борисенко Е.Г. Функциональные свойства дрожжей и бактерий, входящих в состав микробных корректоров пищевого и кормового назначения / Е.Г. Борисенко, К.В. Горин, Н.С. Каночкина, Ф.С. Флуер, А. Ю. Максимушкин // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2012. - Т 1.- № 3. - P. 46.

7. Артиухова С.И. Молочная сыворотка в функциональных продуктах / С.И. Артиухова, С.А. Макшеев, Ю.А. Гаврилова // Молочная промышленность . - 2018. 21. - № 12. - P. 60.

8. Буканова В.И. Лактозосбраживающие дрожжи кефира и их значение для его качества: дис. канд. техн. наук / Буканова В.И. - М., 2015. 12. - №2. - 110 p.

9. Голубев В.И. Отбор и характеристика дрожжей, активно сбраживающих лактозу / В.И. Голубев, Н.В. Голубев // Прикладная биохимия и микробиология. - 2014. - Т. 40. - №3. - P. 332-336.

10. Донская Г.А. Молочная сыворотка в функциональных продуктах / Г.А. Донская, Г.В. Фриденберг // Молочная промышленность . - 2013. 17. - № 6. - P. 52-54.

11. Римарева Ж.В. Теоретические и практические основы биотехнологии дрожжей: учебное пособие / Ж.В. Римарева. - М.: ДеЛи принт, 2010. 11. - № 2. -256 p.

12. Рябцева С.А. Современные направления применения лактозосбраживающих дрожжей / С.А. Рябцева, С.В. Алексеенко, А.В. Забильская, Е.Е. Торбина // Материалы XII региональной научно-технической конференции «Вузовская наука - Северо-Кавказскому региону». Естественные и точные науки. Технические и прикладные науки. Ставрополь: СевКавГТУ, 2018. - Т 1. - №1. - 298 p.

13. Smithers, G.W. New opportunities from the isolation and utilization of whey proteins / G.W. Smithers, F.J. Ballard, A.D. Copeland, K.J. DE SILVA, D.A. Dionysius, J.L. Francis, C. Goddard, P.A. Grieve, G.H. Mcintosh, I.R. Mitchell,

- R.J. Pearce, G.O. Regester // Journal of dairy science. - 2016. - Vol. 79. - №8. - P. 454-459.
14. William A. Bubb NMP Spectroscopy in the Study of Carbohydrates: Characterizing the Structural Complexity. Wiley Periodicals, Inc. Concepts in Magnetic Resonance Part A, - Vol. 19 A (1), 2013, - P. 1-19.
15. Grundler W., Keilmann F. Sharp Resonances Yeast Growth Prove Nonthermal Sensitivity to Microwaver. Phys Rev Lett. 2013, - Vol. 51. - №13. - P. 114-126.
16. M. Ikonopoulou, M. Kanellaki, M. Soupioni, A.A. Kou-tinas, Appl. Biochem. Biotechnol. 2013. - Vol. 104, - №1, - P. 23-36.
17. Wee Y-J, Kim J-N, Ryu H-W. Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. Food Technol Biotech. 2016. - Vol. 44, - №1, - P. 163-172.
18. Speedy A.W. Overview of world feed protein needs and supply // Protein sources for the animal feed industry. Expert Consultation and Workshop. – Bangkok. – 2004. - Vol. 15. - № 1. - P. 9-29.
19. Browne H. Ethyl alcohol from fermentation of lactose in whey. Ind Eng Chem News Ed. 2011. - Vol. 19, -№2, - P. 1272-1276.
20. O.A. Pisarev, N.M. Ezhova. Sobcionnye i hromatograficheskie processy, 2008. - T. 8, - №4, - P. 535-552.
21. Kaur R, Panesar P.S, Singh R.S. Utilization of Whey for the Production of β -Galactosidase Using Yeast and Fungal Culture. World Academy of Science, Engineering and Technology. 2015. -Vol. 9. -№1. - P. 690-694.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF LACTOSE-FERMENTING YEAST CELLS FROM DAIRY PRODUCTS

Myrzakhetova G.M.*, Ualieva P.S., Abdieva G.Zh.

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

*E-mail: mgm2000@bk.ru

ABSTRACT

One of the most valuable substrates in terms of the composition of important nutritional and biological factors is dairy products. The direct use of dairy products for food purposes is characterized by a combination of high acidity and special organoleptic characteristics. Yeast cells play the role of active ingredients in them, as they have a pronounced lacto- and bifidogenic effect. Lactose-fermenting yeasts are considered one of the main objects of molecular genetics and are widely used as producers of a number of biologically active substances. In recent years, a fundamentally new direction of industrial processing of milk whey and chubut has been actively and purposefully formed, as well as the basis for obtaining derivative components, which are targeted products. The purpose of the research work: isolation and identification of lactose-fermenting yeasts from milk whey and chubut. Growth dynamics of yeast strains were studied in Sabouro's nutrient medium, under aerobic growth conditions, and were also carried out using the methods of Bradford and Glushanov. In the course of the study, the microbiological indicators and taxonomic composition of the microbial community of milk whey of «Amiran» LLP and chubut of «Sarzhailau» LLP were studied. Physico-chemical and organoleptic characteristics of dairy products were studied. 2 yeast strains were isolated from substrate samples. The morphological and cultural properties of the isolated yeasts were studied, and as a result, IL1 and IL2 strains were identified as *IL1-Pichia fermentans*, *IL2-Pichia fermentans*.

Key words: dairy products, yeast cultures, lactic acid bacteria, lactose-fermenting yeast cells, molecular-genetic identification.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ КЛЕТОК ЛАКТОЗОСБРАЖИВАЮЩИХ ДРОЖЖЕЙ ИЗ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Мырзахметова Г.М.*, Уалиева П.С., Абдиева Г.Ж.

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

*E-mail: mgm2000@bk.ru

АБСТРАКТ

Одним из наиболее ценных субстратов по составу важных пищевых и биологических факторов является молочные продукты. Непосредственное использование молочных продуктов для пищевых целей характеризуется сочетанием повышенной кислотности и особых органолептических показателей. Дрожжевые клетки играют в них роль действующих веществ, так как обладают выраженным лакто- и бифидогенным действием. Лактозосбраживающие дрожжи считаются одним из основных объектов молекулярной генетики и широко используются в качестве продуцентов ряда биологически активных веществ. В последние годы активно и целенаправленно формируется принципиально новое направление промышленной переработки молочной сыворотки и чубата, а также база для получения производных компонентов, являющихся целевыми продуктами. Цель исследования: выделение и идентификация лактозодеградирующих дрожжей из молочной сыворотки и чубата. Динамику роста штаммов дрожжей изучали на питательной среде Сабуро, в условиях аэробного роста, а также проводили по методам Бредфорда и Глушанова. В ходе исследования изучены микробиологические показатели и таксономический состав микробного сообщества молочной сыворотки ТОО «Амиран» и чубата ТОО «Саржайлау». Изучены физико-химические и органолептические показатели молочных продуктов. Из образцов субстрата были выделены 2 штамма дрожжей. Были изучены морфологические и культуральные свойства выделенных дрожжей, в результате чего штаммы IL1 и IL2 были идентифицированы как *IL1-Pichia fermentans*, *IL2-Pichia fermentans*.

Ключевые слова: молочные продукты, дрожжевые культуры, молочнокислые бактерии, лактозосбраживающие дрожжи, молекулярно-генетическая идентификация.