

АНДАТПА

Философия докторы (Ph.D.) ғылыми дәрежесін алу үшін дайындалған
диссертация

6D070100-Биотехнология мамандығы бойынша

Айтжанова Аида Асылбекқызы

«Сүтқышқылды бактериялар мен лактозаыдыратушы ашытқылар
консорциумдары негізінде сүт сарысуынан жаңа функционалды сусындар алу»
тақырыбында

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Жұмыс барысында микроорганизмдердің антагонисті белсенді штамдары бөлініп алынды; асқазан-ішек жолдарының қызметі және қалыпты флораны ынталандыратын белсенділік күшейтілді; Сасо-2 ішек клеткаларының дақылында іріктелген консорциумдардың тиімділігі расталды. Іріктелген микроорганизмдерді қолдана отырып, сүт сарысуы негізінде сусындар жасалды. Өзірленген сусындардың бірін өндіріске енгізу басталды.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Сүт өнеркәсібінің екіншілік өнімі ретінде сүт сарысуы сүттегі құрғақ заттардың 50% - ына дейін, 250-ге дейін әр түрлі қосылыстар (азотты, микро- және макроқосылыстар, сүт майы, минералды заттар, тұздар, лактоза, дәрумендер, ферменттер, органикалық қышқылдар) және одан алынатын өнімдердің тағамдық құндылығы, тағамдық және дәрілік маңызы бар болғанына қарамастан негізінен қалдықтардың құрамына кіреді. Сүт сияқты екіншілік сүт шикізатының тағамдық құндылығы өте жоғары, ол жақсы сіңімділігімен, қоректік заттардың оңтайлы қатынасымен, биологиялық және физиологиялық үйлесімділікпен сипатталады.

Candida ашытқысы - бүкіл әлемде неғұрлым кеңінен таралған адамның саңырауқұлақты қоздырғышы және комменсалды микроорганизм. Иммунитеті төмен, инфекцияға сезімтал адамдар санының өсуіне байланысты, кандидоз ауыр клиникалық мәселеге айналды. Инвазивті кандидоздан болатын өлім 46-75% құрайды. Патогенді микроорганизмдердің негізгі экологиялық бақылау әдісі олардың табиғи антагонистерін қолдану. Саңырауқұлақты микроорганизмдердің негізгі антагонистері сауықтыру мақсатында адамның асқазан-ішек жолдарының микрофлорасын қалыпқа келтіру мен қатар иммундық статусына жақсы әсер ететін, сүтқышқылды бактериялар болып келеді. Мәліметтердің анық емес болуына орай, *Candida* туысының ашытқыларымен мен сүтқышқылды бактерияларының өзара әрекеттесуін, атап айтқанда ашытқылардың, микроорганизмдердің басым бөлігі болып табылатын өнімдерді егжей-тегжейлі зерттеуді және дамытуды қажет етеді.

Тақырыптың өзектілігі сүт қышқылды бактериялардың саңырауқұлаққа қарсы метаболиттерін зерттеу саласындағы ғылыми басылымдардың көшкінімен расталады, бірақ сүт қышқылды бактериялар мен *Candida* туысы ашытқыларының арасындағы өзара әрекеттесудің толық сипаты әлі анықталған жоқ. Сонымен қатар, сүт қышқылды бактериялармен ашытқы микроорганизмдерінің жасушалық байланысы болған кезде олардың өсуін тежеу көрсетілмеген. Зерттеушілердің бұл мәселеге мұқият назар аударғанына қарамастан, кандидомикоздың алдын - алуға және емдеуге ықпал ететін сүт қышқылды микроорганизмдерге негізделген функционалды өнімдер түріндегі

практикалық нәтижелер әлі жоқ. Сонымен қоса, кандидомикоз ауруының қоздырғыштарын жою арқылы адамның асқазан-ішек жолдарының микрофлорасын қалыпқа келтіруге ықпал ететін табиғи емдік және профилактикалық өнімдерді дамытудың жедел қажеттілігі қазірдің өзінде пісіп жетілді.

ҚР БҒМ ҒК Микробиология және вирусология институтында бұрын бірлескен культураларда *Candida* туысының ашытқыларына қарсы сүт қышқылды бактериялар мен лактозаыдыратушы ашытқылардың белгілі бір үйлесіміне негізделген бие және түйе сүтіне негізіндегі сусындар айқын антагонистік белсенділікке ие екені көрсетілген. Алайда, әлемдік өнеркәсіп сиыр сүтін қолдануға бағытталған, сондықтан сүт немесе көбіне утилиздеуге келмейтін сүт сарысуына негізделген, шартты патогенді ашытқылардың өсуін тежейтін функционалды сүт өнімдерін әзірлеу қажет.

Жұмыстың мақсаты: сүтқышқылды бактериялар мен лактозаыдыратушы ашытқылар консорциумдарын пайдалана отырып, сүт сарысуы негізінде жаңа функционалды сусындар алу.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

- *Candida* туысның ашытқыларына қатысты антагонистік белсенді сүтқышқылды микроорганизмдерінің жаңа штамдарын бөлу және іріктеу.
- Іріктелініп алынған антагонистік белсенді штамдарды молекулярлы идентификациялау.
- Іріктелініп алынған микроорганизмдердің саңырауқұлақтарға қарсы қосылыстарын анықтау
- Асқазан-ішек жолдарындағы антагонисті белсенді консорциум микроорганизмдерінің қызметін жоғарылату және индигенді микрофлораға іріктеліп алынған микроорганизмдердің әсерін анықтау.
- Өсімдік қоспаларын енгізу арқылы алынған консорциумдардың саңырауқұлақтарға қарсы белсенділігін арттыру.
- Саңырауқұлақтарға қарсы әсері бар сүт сарысуы негізінде жаңа функционалды сүтқышқылды сусынының технологиясын жасау.

Зерттеу объектілері: сүтқышқылды, сірке қышқылды бактериялар, лактозаыдыратушы ашытқылар, олардың консорциумдары, *Candida* туысының ашытқылары, зең саңырауқұлақтары мен басқа да шартты-патогенді ішек бактерияларына қатысты антагонистік белсенді сүтқышқылды, сірке қышқылды бактериялар, лактозаыдыратушы ашытқылар, олардың консорциумдары; сүт сарысуы негізіндегі синбиотикалық сусындар.

Зерттеу нысаны: қазақтың ұлттық сусындарынан бөлініп алынған микроорганизмдердің жаңа штамдарының биотехнологиялық құнды көрсеткіштері, олардың антагонистік белсенділігі, қоршаған ортаны өсімдік тектес қоспалармен байыту арқылы саңырауқұлаққа қарсы белсенділікті жоғарылату мүмкіндігі және сүт сарысуы негізінде функционалды асханалық және диеталық сусындар дайындау.

Зерттеу әдістері: Антагонистік белсенділігі кешіктірілген антагонизм әдістері. Идентификациялау 16s рРНК гендерінің Сэнгері және ашытқы аймағының ITS секвенирлеуі арқылы реттілікпен жүргізілді. Белсенді ассоциациялардың ұшқыр метаболиттері газды хромато-масс-спектрометрия әдісімен талданды. Асқазан-ішек жолдарының қызметін жоғарылату үшін

бидай кебегінде физикалық иммобилизация қолданылды. *Candida albicans* - тің зиянды әсерінен таңдалған ассоциациялардың қорғаныс әсері $Caco2$ адамның ішек эпителий клеткаларының дақылында зерттелді.

Зерттеу жұмысының ғылыми жаңалығы: Микроорганизмдердің жаңа штамдары бөлініп, лактозаыдыратушы ашытқылар, сүтқышқылды, сірке қышқылды бактериялардан тұратын саңырауқұлақтарға және бактерияларға қарсы белсенділігі бар ашытқы ассоциациялары құрылды. Алынған сүтқышқылды, сірке қышқылды бактериялардың және лактозаыдыратушы ашытқылардың антагонистік белсенділігі тұрғысынан моно - және аралас дақылдардың метаболизмі туралы қазіргі көзқарастарды толықтырады. Ішек эпителийінің $Caco-2$ клетка дақылында, дайындалған ассоциациялардың тиімділігі расталды. Саңырауқұлақтарға кері әсері бар сарысу негізінде сусындар дайындалды.

Зерттеудің теориялық маңыздылығы: жасалған жұмыстың нәтижесінде алынған деректер сүтқышқылды бактериялар мен ашытқылардың ғаламшардағы моно - және аралас дақылдарының метаболизмінің антагонистік белсенділігін жаңа көзқарас бойынша кеңейтіледі. Алғаш рет қымыз үлгілерінде сірке қышқылды бактериялардың көптігі мен олардың *Candida*-ға белсенділігімен анықталды, ферменттелген сүт өнімдерін алу үшін оларды ашытқыға қосудың маңыздылығы негізделді.

Жұмыстың практикалық құндылығы: сүт сарысуын пайдалану оның ағынды суларға төгілуіне жол бермейді. Сүт өңдеу кәсіпорындарының шығынын төмендетеді, қосымша табыс әкеледі. Халықтың денсаулық деңгейін арттырады, дәрілік заттарға, оның ішінде импортталатын дәрілік заттарға шығыстарды қысқартады.

Қорғауға ұсынылатын ережелер:

1. Антагонистік белсенді және биотехнологиялық тұрғыдан құнды сүтқышқылды және сірке қышқылды бактериялардың штамдарын бөліп алудың перспективті көзі қазақтың ұлттық сусыны қымыз болып табылады.

2. Шартты-патогенді ашытқылардың өсуін тежеуде қымыз үлгілері мен сүтқышқылды микроорганизмдерінің ассоциацияларын қолдануда сірке қышқылды бактериялардың болуы үлкен маңызға ие.

3. Бидай кебегінде физикалық иммобилизация арқылы ашытқы микроорганизмдерінің қызметін жоғарылауына қол жеткізуге болады.

4. Ашытқының құрамына және дақылдау ортасына сірке қышқылды бактериялар мен лактозаыдыратушы ашытқыларды және бидай кебегін енгізу арқылы пробиотикалық сүтқышқылды бактериялардың индигенді микрофлораға әсер етуін төмендетуге қол жеткізуге болады.

5. Әр түрлі өсімдік қоспаларын енгізу *Candida*-ға қарсы ашытқы ассоциацияларының антагонизмін арттыруға ықпал етуі мүмкін.

6. Сүт сарысуына негізделген функционалды асханалық сусынының технологиялық сызбасын жасау.

Зерттеудің негізгі нәтижелері мен қорытындылары: Әртүрлі ауылшаруашылық жануарларының сүтінен және қымыздан сүт қышқылды, сірке қышқылды бактериялар және лактозаыдыратушы ашытқылар бөлініп алынды. Қазақ ұлттық сусындарының қымыз және шұбат үлгілерінің бірқатарымен *Candida* туысы шартты-патогенді ашытқының өсуін басу

көрсетілген.

Антагонистік белсенділігі бойынша сүтқышқылды бактериялардың 12 изоляты іріктелді. Олардың молекулалық-генетикалық идентификациясы жүргізіліп, олар *Lactobacillus paracasei*, *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. diolivorans* түрлеріне жатқызылды. *Candida* шартты-патогенді ашытқыларға қатысты антагонистік белсенді KG-3V коллекциялық ассоциациясының микроорганизмдерінің компоненттік құрамы анықталды және идентификацияланды: олар *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3, *L. paracasei* 33-4, *A. syzigii*. Қымыз сүтқышқылды кокктардың (*Lactococcus*, *Streptococcus*) көптігі оның *Candida albicans*-қа қатысты антагонизміне теріс әсері көрсетілген.

Дақылдық ортадағы тәжірибелерде шартты патогенді ашытқыларға қатысты сүтқышқылды мен сірке қышқылды бактериялар ассоциацияларының антагонистік белсенділігі расталды. *Candida albicans* өсуін тежейтін сүт қышқылды, сірке қышқылды бактерияларының және лактозаыдыратушы ашытқылардың ассоциациялары жасалды. Антагонизм, органолептикалық көрсеткіштер және сүт сарысуында қышқыл түзілуі бойынша ең жақсы таңдалған ассоциациялар: А6, оның ішінде *L. fermentum* А15, *L. paracasei* 4m-2b, *A. fabarum* 4-4М, *K. marxianus* 4МА; KG-3V тұратын: *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3, *L. paracasei* 33-4, *A. syzigii* 2 және *K. marxianus* 19.

Антагонистік белсенді KG-3V ассоциациясының саңырауқұлақтарға қарсы қосылыстары анықталды. 24 сағат ішінде $16,6 \pm 0,64$ мг/мл мөлшерінде сірке қышқылды культураның сұйықтықта болуы көрсетілген. 120 сағаттық инкубациядан кейін бензой қышқылдының жоғары шыңы анықталды, алайда бұл ассоциацияның саңырауқұлақтарға белсенділігіне ықпал етпейді. KG-3V ассоциациясының *Candida*-ға қарсы белсенділігінің бір бөлігінің клеткалық фракциямен байланысы көрсетілген. Сасо-2 ішек эпителий клеткаларының дақылында сүтқышқылды бактериялар, сірке қышқылды бактериялар және лактозаыдыратушы ашытқылар кіретін екі ассоциацияның уыттылығы жоқ, олардың Сасо-2 клетка культурасындағы *Candida*-ға қарсы тиімділігі расталды.

Сүтқышқылды бактериялар мен қатар лактозаыдыратушы ашытқылар мен сірке қышқылды бактериялар, ал культивациялау ортасында – бидай кебегінің пребиотикалық қоспасын ашытқы құрамына енгізудің индигенді микрофлораны қорғайтын әсері анықталды. Қышқыл және өт стресстері кезінде құрамдас микроорганизмдердің өмір сүруіне бидай кебегіндегі ашытқы ассоциациясының физикалық иммобилизациясының қорғаныс әсері көрсетілді. Өсімдік қоспаларын өсіру ортасына енгізу арқылы ашытқы ассоциацияларының антагонистік белсенділігін арттыру мүмкіндігі көрсетілген.

Шартты-патогенді *Candida albicans* ашытқысының, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* туысы саңырауқұлақтардың, сондай-ақ *L. paracasei* 4m-2b, *L. fermentum* А15, *K. marxianus* 4МА және *A. fabarum* 4-4М қамтитын А6 ассоциациясы негізінде *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Sarcina*, *Mycobacterium* туыс шартты-патогенді бактериялардың өсуін басуға ықпал ететін сүт сарысуындағы синбиотикалық сусындардың рецептуралары әзірленді.

KG-3V *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. paracasei* 33-4, *L. parabuchneri* 3,

A. syzygii 2 консорциумын пайдалана отырып, сүт сарысуы негізіндегі ферменттелген сусынды өндіріске енгізу басталды

Негізгі ғылыми жұмыстың жоспарымен байланысы: диссертациялық жұмыс «Сүт сарысуының негізінде саңырауқұлаққа қарсы және антибактериалдық әсері бар синбиотикалық функционалды сусындарды жасау» № АР05132352 жоба аясында орындалды 2018-2021 жж.

Жұмыстың апробациясы: - Жас ғалымдар мен студенттердің VI Халықаралық ғылыми конференциясы. Биология, медицина және фармацевцияның даму перспективалары. «*Candida* туысының шартты патогенді ашытқыларына қатысты белсенді сүт қышқылды бактериялар мен лактозаыдыратқыш ашытқылардың жаңа консорциумдары» Оңтүстік Қазақстан медициналық академиясы. Шымкент, 2018 ж.; Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» VI халықаралық ғылыми конференциясы. «*Candida* туысының шартты-патогенді ашытқыларына қатысты саңырауқұлақтарға қарсы белсенділікке ие қымыз микроорганизмдерін бөліп алу» Алматы, 2019 ж.; "Kazakh National Academy of Sciences"; «Alternative Approaches to Combatting Anti-Microbial Resistance» (AMR). халықаралық конференциясы (AMR). Алматы, 2019 ж.; «*Candida* туысының шартты-патогенді ашытқыларына қатысты сүтқышқылды бактериялар ассоциациясының антагонистік белсенділігі» «Фараби әлемі» Алматы. 2020 ж.; Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті Хабаршысы. «Биология» сериясы. «Қазақстандық сүт қышқылды өнімдерден *Candida* туысы ашытқыларына қатысты антагонистік белсенділік көрсететін микроорганизмдерді бөліп алу». Алматы 2019, № 2 (79), Б. 54-63.; Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті Хабаршысы. «Биология» сериясы. «Әр түрлі жануарлардың сүтінен алынған сүтқышқылды бактериялардың антагонистік белсенді штаммдарын іріктеп алу» Алматы 2020, № 2 (83), Б. 72-81.; Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті Хабаршысы. «Биология» сериясы. «Сүт сарысуы негізінде жаңа функционалды синбиотикалық сүтқышқылды сусын алу». Алматы 2021, № 1 (86), Б. 64-77.; «Сүт сарысуы негізінде функционалды сусындар». Монография. Микробиология және вирусология ҒҰО, Алматы, 2020 ж.; AIMS Agriculture and Food. «Пробиотиктер мен олардың метаболиттерінің сарысуға негізделген сусындардың функционалды қасиеттерін арттыруға әсері» AIMS Agriculture and Food. Америка, 2020 ж.; Applied Food Biotechnology. «Бидай кебегіндегі сүт ашытқысының иммобилизациясы қышқыл мен өт стрессінің қызметін арттыру» Иран, 2020 ж.; World Journal of Microbiology and Biotechnology. «*Candida* туысының шартты-патогенді саңырауқұлақтарымен мақсатты күресуге арналған сүт ассоциациялары» Италия, 2021 ж.

Жарияланымдар және автордың жеке үлесі. Диссертацияның негізгі мазмұны 14 баспа жұмысында, Scopus-тың - халықаралық журналдардағы 3 мақала, БҒЖЗК тізбесіндегі республикалық ғылыми журналдардағы 3 мақала, халықаралық конференциялардың 6 тезисінде көрсетілген.

Диссертацияның құрылымы. Диссертациялық жұмыс 119 беттен, 11 кестеден, 28 суреттен, кіріспе, үш бөлімнен, қорытынды мен ұсыныстардан және пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады.