

ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ӘОК 579.67:637.146

Қолжазба құқығында

АЙТЖАНОВА АИДА АСЫЛБЕКҚЫЗЫ

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

6D070100 – Биотехнология

Философия докторы (PhD)
ғылыми дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Ғылыми кеңесшілер:
PhD, профессор
Джером Мунье
Б.ғ.к., доцент
Бержанова Р.Ж.

Қазақстан Республикасы
Алматы, 2021

МАЗМҰНЫ

БЕЛГІЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР.....	4
КІРІСПЕ	5
1 ЗЕРТТЕУ БАҒЫТЫН ТАҢДАУДЫҢ НЕГІЗДЕМЕСІ	10
1.1 Функционалдық өнімдер	10
1.2 Сүтқышқылды бактериялардың ерекшелігі	13
1.3 Пробиотиктер микроорганизмдерінің асқазан-ішек жолының индигендік микрофлорасымен өзара әрекеттесуі	16
1.4 Сірке қышқылды бактериялар	18
1.5 Микроорганизмдердің резистенттілігі	21
1.6 Кандидамикоздар.....	23
1.7 Сүт сарысуы	26
1.8 Микробиотаны қалыпқа келтіруге арналған сусындар.....	30
1.9 Ашытқылар	32
2 ЗЕРТТЕУ ОБЪЕКТІЛЕРІ МЕН ӘДІСТЕРІ	36
2.1 Зерттеу объектісі	36
2.2 Қоректік орталар	37
2.3 Зерттеу әдістері	37
3 НӘТИЖЕЛЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ	46
3.1 <i>Candida</i> туысының ашытқыларына қарсы антагонистік белсенділігі бар, ашытылған сүт өнімдерінен сүт қышқылды бактериялар мен ашытқылардың жаңа штамдарын бөліп алу.....	46
3.1.1 Бөлініп алынған микроорганизмдердің саңырауқұлақтарға және бактерияларға қарсы белсенділігін зерттеу	55
3.1.2 <i>Candida</i> -ға қарсы белсенділік аясында қымызды метагеномды зерттеу	59
3.2 <i>Candida</i> туысы ашытқыларының өсуін тежейтін КГ консорциумының микрофлорасын зерттеу.....	62
3.2.1 Іріктеліп алынған сүтқышқылды микроорганизмдердің молекулалық идентификациясы.....	64
3.2.2 <i>Candida</i> туысының шартты-патогенді ашытқылардың өсуін тежеуде ең жоғары көрсеткіштертерге ие ассоциацияларды әзірлеу.....	69
3.3 Әр түрлі микробтық топтардағы микроорганизмдер бірлестіктерінің антагонистік белсенділігі.....	71
3.4 Аралас дақылдарда сірке қышқылы бактерияларының <i>Candida albicans</i> өсуін тежеуі.....	74
3.5 <i>Candida albicans</i> -қа қарсы белсенді ашытылған сүттің ұшқыр қосылыстарын талдау.....	77
3.6 Сасо-2 клетка культураларында <i>Candida albicans</i> -қа қарсы ашытылған сүттің белсенділігі.	79
3.7 Іріктелген микроорганизмдердің асқазан-ішек жолының индигендік микрофлорасына әсерін анықтау.....	81
3.8 Алынған өнімнің <i>Candida</i> туысының шартты патогенді	89

ашытқыларына қатысты антагонистік белсенділігін арттыру және биологиялық белсенді заттармен байыту арқылы саңырауқұлаққа қарсы әсері бар сарысу негізінде жаңа функционалды сүтқышқылды сусындар алу.....	
3.9 Зең саңырауқұлақтарының өсуін тежеуге ықпал ететін сүтқышқылды сусынының рецептурасын алу.....	95
3.9.1 Сүт сарысуы негізіндегі ферменттелген сусынды дайындау технологиясын дамыту және өндіріске енгізу.....	96
ҚОРЫТЫНДЫ	100
ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ	103

БЕЛГІЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

АІЖ- асқазан-ішек жолдары

ББҚ - биологиялық белсенді қоспалар

БГК - биосинтетикалық гендердің кластерлері

г - грамм

ГХ/МС – газды хромато-масс-спектрометрия

ЕПА – ет-пептонды агар

КТБ - колония түзуші бірлік

л – литр

м – метр

майл. – майлылық

мкл - микролитр

мкм - микрометр

мл – миллилитр

мм – миллиметр

мин/айн – айналым минутына

мин – минут

сағ – сағат

ПДТ - пандемиялық дәрілерге төзімділік

GYC - сірке қышқылы бактерияларына арналған қоректік орта

MRSA - метициллинге төзімді стафилококк

MRS - сүтқышқылды бактерияларды дақылдауға арналған қоректік орта (de Man, Rogosa and Sharpe)

pH – сутегі көрсеткіші

КІРІСПЕ

Жұмыстың жалпы сипаттамасы.

Жұмыс барысында микроорганизмдердің антагонистік белсенді штамдары бөлініп алынды, консорциумдар құрылды, олардың антагонизмі, 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 карамастан негізінен қалдықтардың құрамына кіреді [1]. Сүт сияқты екіншілік сүт шикізатының тағамдық құндылығы өте жоғары, ол жақсы сіңімділігімен, қоректік заттардың оңтайлы қатынасымен, биологиялық және физиологиялық үйлесімділікпен сипатталады.

Сарысу құрамында иммунитет көтеретін мынадай компоненттер бар, лактоферин, иммуноглобулин, В тобына жататын барлық дәрумендер, сонымен қатар С дәрумені, никотин қышқылы, холин, Е дәрумені және биотин, микро және макроэлементтер, мындай Са, К, Р, Fe, Zn. Сүт сарысуында алмастырмайтын аминқышқылдары бар. Клиникалық түрде хирургиялық әсер болғаннан кейін қолдануға, гипертонияда, диабетте, иммун тапшылығы жетіспегенде, қанасты инфекцияларында және сүйек ұлпаларының инфекцияларында, асқазан-ішек жолдарының ауруының профилактикасында емдеуге сүт сарысуын қолдануға болады.

Қазақстанда сүтті қайта өңдейтін 350-ден астам кәсіпорын тіркелген. Жыл сайын республикамызда сүзбе, ірімшік және сүзбе өнімдерінің 25 000 тоннаға жуық түрлі сорттары өндірілді (ірімшік пен сүзбе өндірісін қайта есептеуде ҚР статистика агенттігінің мәліметі бойынша) 1 тонна ірімшік пен сүзбе өндірісінде 8 тоннаға дейін сүт сарысуы алынады. Ақуызы жоғары өнімдерге жіберілген 1 тонна сүттен алынған сүт сарысуының теориялық шығымы 65% -дан 82% -ға дейін: табиғи ірімшіктер - 80%; майсыз ірімшіктер - 65%; майлылығы төмен ірімшіктер - 65%; сүзбе ірімшіктер- 65%; сүзбе - 80%; техникалық казеин - 75%; тағамдық казеин - 82%. Ағынды суларға жіберілген бір тонна сарысу су қоймасын 100 м³ тұрмыстық ағынды сулар сияқты ластайды. Сүттің қышқылдануы процесінде пайда болған органикалық қышқылдар (негізінен сүт) ағынды суларды рН 4-5-ке дейін қышқылдандырады. Ірімшік жасау зауытында ауысымына 50 тонна сүтті қайта өңдеу кезінде алынатын сарысумен ластанған ағынды суларды тазарту құны 80 мың адам тұратын қаладағы ағынды суларды тазартуға кететін шығынға тең. Көптеген елдерде 80-90% дейін сүт сарысуы пайдаланылады. Ресейде негізінен мал азығына пайдаланылатын сарысудың 30-40% -ы пайдаланылады. Қалғаны ағынды суға төгіледі. Қазақстанда жағдай одан

да нашар. Сарысуды қайта өңдеу проблемасы іс жүзінде шешілмеген күйінде қалып отыр. Екіншілік сүт шикізатының айтарлықтай мөлшері және оның жоғары тағамдық құндылығы оны толық жинауды және ұтымды пайдалануды қажет етеді.

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 [2]. Инвазивті кандидоздан болатын өлім 46-75% құрайды [3-5]. Басқа жүйелік микоздардан айырмашылығы, кандидоз - тері мен шырышты қабаттарда, негізінен асқазан -ішек жолында мекендейтін эндогенді саңырауқұлақтардың белсенді болуының салдары болып табылады [6], Асқазан - ішек жолдарында *Candida* түрлерінің колонизациялануы инвазивті кандидоздың дамуының негізгі патогенетикалық сипаты болып табылады [7-10]. Микробиоманың бұзылуы, иммундық жүйенің әлсіреуі және ішек тосқауылының бұзылуы сияқты спецификалық жағдайлар *C. albicans*-тың таралған және инвазиялық инфекцияларына итермелейді [4-6].

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, мақсатты метаболиттердің жаңа продуцент-штамдарын бөліп алу, сондай-ақ максималды антагонистік белсенділіктің көріну жағдайларын зерттеуді 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 антогонистік белсенді сүтқышқылы 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 сарысу 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 - диффузды ойықтар, перпендикуляр сызықтары, қос қабатты агармен анықталды. 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 $CaCO_2$ адамның ішек эпителий клеткаларының дақылында зерттелді.

Зерттеу жұмысының ғылыми жаңалығы: микроорганизмдердің жаңа штамдары бөлініп, сүтқышқылды бактериялар, лактозаыдыратушы ашытқылар, сірке қышқылды бактериялардан тұратын саңырауқұлақтарға және бактерияларға қарсы белсенділігі бар ашытқы ассоциациялары құрылды.

Жұмысты орындауда алынған нәтижелер сүтқышқылды, сірке қышқылды бактериялардың және лактозаыдыратушы ашытқылардың антагонистік белсенділігі тұрғысынан моно - және аралас дақылдардың метаболизмі туралы қазіргі көзқарастарды толықтырады. Ішек эпителийінің Сасо-2 клетка дақылында, дайындалған ассоциациялардың тиімділігі расталды. Асқазан-ішек жолдарының стресс жағдайында ашытқы микроорганизмдерін қорғайтын бидай кебегі, ал индигенді микроорганизмдер сүтқышқылды бактериялардың бактериоциндерінің теріс әсерінен қорғайтыны көрсетілді. 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 метоболизмінің 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.

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

Жұмыстың апробациясы: диссертацияның негізгі мазмұны 14 баспа жұмысында, соның ішінде Scopus-та келтірілген халықаралық журналдардағы 3 мақалаларда, БҒЖЗК тізбесіндегі республикалық ғылыми журналдардағы 3

мақалада, халықаралық конференциялардың 6 тезисінде көрсетілген.

Жарияланымдар.

- 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", конференциясы. «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 ғылыми-өндірістік орталығы, 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.

Диссертацияның құрылымы. Диссертациялық жұмыс: кіріспе, үш бөлімнен, қорытынды мен ұсыныстардан және пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады. Диссертация 119 беттен, соның ішінде 11 кесте, 28 суреттен құралған.

1 ЗЕРТТЕУ БАҒЫТЫН ТАҢДАУДЫҢ НЕГІЗДЕМЕСІ

1.1 Функционалдық өнімдер

Соңғы жылдары күнделікті сұранысқа ие өнімдердің құрамын, олардың дәмдік қасиеттерін, сондай-ақ қауіпсіздігін түзету үшін оларға көбінесе физиологиялық негізсіз тағамдық қоспалар қосылады, олар өз кезегінде қоздырғыш механизмі асқазан-ішек жолдарының қалыпты микрофлорасының бұзылуы болып табылатын, «заманауи ауруларға» алып келеді. Сонымен қатар, өндірістің барлық кезеңдерінде шикізат пен азық-түлік өнімдерінің бөгде микроорганизмдермен және олардың метаболизм өнімдерімен ластануы, қазіргі кезде кең таралған дисбактериоздан бастап бауыр, бүйрек, эндокриндік жүйе мен қатерлі ісіктердің пайда болуына дейін әкеле отырып, адам ағзасына улы әсер етеді.

Тамақтанудағы қателіктер, күйзелістер, гормондар мен басқа да дәрілік препараттарды көп пайдалану, үнемі өсіп отыратын тұрмыста пайдаланылатын химиялық құралдар, агрессивті антибактериялық терапиялар жағдайды нашарлатып отыр, соның нәтижесінде халықтың 90-95%-ның асқазан-ішек жолының микрофлорасында шартты-патогенді саңырауқұлақтардың, сондай-ақ ауру тудыратын бактериялардың құрамының артуы байқалады [11]. Микоздар жақын болашақтың негізгі аурулары деп болжануда. Қазақстан мамандарының деректері бойынша біздің республикамызда азаматтардың 75% - 90% қандай да бір дәрежедегі дисбактериозға шалдыққан [12]. Қазіргі уақытта халықаралық тәжірибеде дұрыс тамақтанудың басым бағыттарының бірі функционалды сауықтыру өнімдерін дайындау болып табылады.

Функционалды өнімдер термині 1955 жылы Жапонияда ішек микрофлорасын қалыпқа келтіретін лактозасы бар сүтқышқылды олигосахарид алынғаннан кейін тәжірибеге енді. Жапондық зерттеушілері ұсынған функционалды тамақ өнімдерін өндіруде функционалды ингредиенттердің қатарына сүт қышқылды бактериялар, бифидобактериялар, олигосахаридтер, диеталық талшықтар мен омега-3 май қышқылдары енді. 1991 жылы Жапонияда «Арнайы тағамдарға арналған өнімдер туралы» (FOSHU) арнайы үкіметтік қаулыда көрініс тапқан функционалды тамақтану тұжырымдамасы жасалды. Сол уақытта дәрілік терапияның рөлін әлсірету мен құнын төмендетудің маңызды жолы ретінде функционалды тамақтануға көзқарас қалыптасты. 70-90 жылдары Батыс Еуропада, бұрынғы КСРО елдерінде, АҚШ-та және тағыда басқа елдерде функционалды өнімдердің биологиялық құндылығын зерттеу жұмыстары жандандырылды. Функционалды өнімдер дәріханалар мен азық-түлік дүкендерінде жиі пайда бола бастады. Тамақтану және медицина саласындағы мамандардың болжамы бойынша таяудағы 15-20 жылда бұл өнімдердің үлесі бүкіл азық-түлік нарығының 30%-на жетуі тиіс. Олар сату саласынан көптеген дәстүрлі дәрілік препараттарды 35-50% - ға ығыстырады деп болжанды [13].

PMFA Тамақтану Институтының анықтамасына сәйкес, функционалды

тағам – бұл бізді тек энергиямен қамтамасыз ететін энергетикалық функцияны ғана емес, сонымен қатар денсаулығымыз бен әл-ауқатымыздың жақсаруын қамтамасыз ететін, белгілі бір аурулардың қаупін төмендететін тағам. Функционалды өнімдердің биологиялық белсенді қоспалардан айырмашылығы - олардың пайдалы ингредиенті дәстүрлі тағам құрамында және физиологиялық концентрацияда болады.

XXI ғасырдың басында олардың тізіміне: тағамдық талшықтар, изопреноидтар, дәрумендер, олигосахаридтер, қант спирттері, сүт қышқылы бактериялары. фосфолипидтер, холиндер. аминқышқылдары, пептидтер, ақуыздар, нуклеин қышқылдары, макро және микробиоэлементтер, гликозидтер, полиқаньқпаған май қышқылдары және басқа антиоксиданттар, спирттер, цитаминдер, органикалық қышқылдар, өсімдік энзимдері және басқа да фито-қосылыстар мен лектиндер енді.

1995-1998 жылдары F. Bellisleнің қызметкерлерімен бірге жасаған «Еуропадағы функционалды тамақтанудың ғылыми тұжырымдамасы» (Scientific Concepts of Functional Food in Europe) бойынша, егер адам ағзасының белгілі бір негізгі функциясына (дәстүрлі тағамдық әсерлерден басқа) оң әсерін көрсетсе және осы қатынастарды растайтын объективті дәлелдер алу мүмкіндігі болған жағдайда ғана функционалды тамақ өнімдері қатарына жатқызылады. Өсу, даму және саралау; тотығу белсенділігі бар қосылыстардан қорғау; жүрек-тамыр жүйесінің жағдайы; қант диабеті мен семіздікке әсер ету; сүйек тінінің жағдайы; асқазан-ішек жолдарының физиологиясы, оның ішінде микрофлораның жағдайы; иммундық жүйенің жағдайы; мінез-құлық реакциясы және психикалық денсаулық жағдайы сияқты ағзаның осындай негізгі функциялары мен жағдайларына жатады.

Функционалды өнімдердің негізгі компоненттері болып биоактивті заттардың үш тобы: пробиотиктер, пребиотиктер және симбиотиктер табылады. Аталған ГОСТ 52349-2005 осы ұғымдардың мәнін былай тұжырымдайды: «Пробиотик-адамдарға пайдалы (патогенді емес және улы емес) тірі микроорганизмдер түріндегі физиологиялық функционалды тағамдық ингредиент. Олар дәрі-дәрмектердің, тағамдық қоспалардың немесе тағамның құрамында бола отырып, қалыпты ішек микрофлорасының биологиялық белсенділігін қалыпқа келтіреді және арттырады».

«Пребиотик» - бұл зат немесе заттар кешені түріндегі шығу тегі микробтық емес тағамдық ингредиент. Оны тағам құрамында жүйелі пайдалану ішектің қалыпты микрофлорасының биологиялық белсенділігінің өсуін және/немесе жоғарылауын таңдамалы түрде ынталандырады. Көптеген зерттеулер көпшілік қосылыстардың бұл қабілетке ие екендігін көрсетті. Осы препараттар тобының негізгі өкілдері: шығу тегі табиғи олиго - және полисахаридтер (мысалы: дәнді дақылдардың, көкөністердің, жемістердің (атап айтқанда инулин), шөптердің (псиллиум) тағамдық талшықтары; шығу тегі жасанды дисахаридтер (лактоулоза); парааминобензой қышқылы; лизоцим; қанықпаған май қышқылдары, антиоксиданттар, кальций пантотенаты, ферменттер, амин қышқылдары.

«Симбиотик - бұл адам ағзасындағы физиологиялық функциялар мен зат алмасу процестерін өзара күшейтетуге әсер ететін пробиотиктер мен пребиотиктердің үйлесімі. Функционалды өнімдерге қажетті мақсатты емдік және профилактикалық қасиеттер беру үшін оларға табиғи биологиялық белсенді компоненттер қосылады: дәрумендер мен биологиялық маңызды макро және микроэлементтер (селен, цинк, йод, темір, молибден және т.б. барлығы 30 астам) және тағамдық талшықтар, сүт қышқылы бактериялары және пробиотиктер, антиоксиданттар, полиқанқыпаған май қышқылдары және т. б. Әдетте, функционалды өнімдер үшін шикізат ретінде, өндіріс барысында денатурацияға ұшырамайтын, экологиялық таза және генетикалық модификацияланбаған материал қолданылады.

Қазіргі уақытта көптеген функционалды өнімдер дәрі-дәрмектер мен тамақ өнімдерінің ортасында, сондықтан оларды тағам өнімдеріне де, тағам өнімдерінің диеталық түрлеріне, тіпті дәрі-дәрмектер қатарына жатқызуға болады деп болжануда. Соңғы 10-20 жыл ішінде бұл өнімдерді өндіру мен тұтынудың өсуі әлемнің көптеген елдерінде байқалады. «Georg Morris Centre» жүргізген функционалды өнімдерді тұтыну нарығын халықаралық талдауы бойынша олардың жекелеген түрлері бойынша өндіріс жыл сайын 5-40% - ға өсіп отыр [13]. Бұл үрдіс АҚШ, Канада, Батыс Еуропа, Жапония, Австралия және әртүрлі аймақтардағы басқа елдерде айқын көрінеді.

Пробиотиктердің асқазан-ішек жолдарының (АІЖ) көптеген ауруларын, сондай-ақ ас қорыту органдарымен тікелей байланысты емес ауруларды кешенді емдеудегі оң рөлі соңғы жылдардағы бірқатар жарияланымдарда көрсетілген. Соған қарамастан, пробиотиктердің әсерінің негізі болып табылатын, молекулалық механизмдер көбінесе белгісіз және аз зерттелген. Қазіргі уақытта ішек дисбактериозын емдеуде қолданылатын құралдардың бірыңғай және нақты жіктелісі әлі дамымаған, пробиотиктер туралы идеяларды тұжырымдамалық қайта қарау жүріп жатыр. Олардың орнына маңызды құрамдас бөлігі клеткалық компоненттер, метаболиттер және пробиотикалық культуралардың сигналдық молекулалар молекулалары болып табылатын метабиотиктер ұғымы келуде. Олардың қалай оң әсер ететінін түсіну, нақты клиникалық жағдайларда одан әрі стратегия үшін белгілі бір іріктеу критерийлерін белгілеуде шешуші маңыздылыққа ие. Организмнің қалыпты физиологиялық жағдайы ішек гомеостазының тұрақтылығы мен микрофлораның функционалды белсенділігін сақтауға негізделген. Соңғы жылдары метаболизм өнімдері немесе пробиотикалық микроорганизмдердің құрылымдық компоненттері бар метабиотиктер тобы анықталды. Метабиотиктерді қолдану ішектің басқарылатын микробиоценозын жасауға мүмкіндік береді. Метабиотиктер жоғары биожетімділікпен сипатталады және өз микробиотасымен қақтығыспайды, АІЖ-ға түскен бойда жұмыс істей бастайды [14]. Қолдану тиімділігі мен қауіпсіздігі, сондай-ақ биосәйкес өндірістік штамдар мен олардың синбиотикалық бірлестіктерін іріктеуге негізделген поликомпонентті пробиотиктердің конструкциясымен қамтамасыз етіледі [15].

Функционалды өнімдерді тұтыну нарығы 50-65% функционалды мақсаттағы сүт өнімдерімен, 9-10 % - нан-тоқаш өнімдерімен, 3-5% - арнайы сусындармен, 20-25% - басқа тамақ өнімдерімен қалыптасады. Әр түрлі елдердегі халықтың 15-40% дәстүрлі дәрі-дәрмектердің орнына функционалды өнімдер мен биологиялық белсенді қоспаларды пайдаланады.

19 ғасырдың ортасынан бастап микробиологияның ғылым ретінде пайда болуымен, ашу үрдістерін жүзеге асыруға жауапты микроорганизмдер анықталды. Осы кезеңде микроорганизмдердің таза дақылдарын қолданудың негізгі биологиялық принциптері дамыды, бұл тағам өнімдерінің қауіпсіздігін жақсартуға және оның дәмін өзгертуге ғана емес, сонымен қатар олардың тағамдық және биологиялық құндылығын, сонымен қатар биожетімділігін арттыруға да ықпал етеді. Нәтижесінде, қазіргі уақытта тамақ өнеркәсібінде көптеген микроорганизмдерді қолдана отырып, әлемдегі миллиардтаған адамдар тұтынатын, адам рационының 1/3 бөлігін құрайтын көптеген ферменттелген өнімдер шығарылады [16,17]. Бұлар негізінен ферменттелген дәнді дақылдар мен көкөністер, бұршақ дақылдары, тамырлар және түйнектер, ашытылған сүт өнімдері, ашытылған және консервіленген ет өнімдері, ашытылған балық өнімдері, алкогольді ішімдіктер.

Ферменттеу процестері оларды өндіретін микроорганизмдер мен негізгі метаболиттер бойынша келесідей жіктеледі: сүт қышқылы (сүтқышқылды бактериялар), сірке қышқылы (сірке қышқылы бактериялары), этил спирті және көмірқышқыл газы (ашытқылар), пропион қышқылы (пропион қышқылы бактериялары), кейбір жағдайларда аммиак және май қышқылдары (бациллалар, зеңдер). Бациллалар мен зеңдер негізінен крахмалды қанттау немесе протеолизі үшін де, біріншілік ферменттеуден кейін екіншілік микробиоталар ретінде де қолданылады. Ферменттеуді сонымен қатар негізгі тағамдық субстраттармен сипаттайды – сүт өнімдері, көкөністер, бұршақ дақылдары, жарма, жүзім, жемістер немесе жидектер, сондай-ақ ет пен балық.

Ферменттелген өнімдерде органолептикалық көрсеткіштердің сақталуы мен жақсаруынан әлдеқайда көп қасиеттер байқалады, ал оларды тұтынудың пайдасы олардың жекелеген микробтық, қоректік немесе биологиялық белсенді компоненттерінің әсерінен едәуір көп. Бұл ферменттеуді жүзеге асыратын микроорганизмдердің, тамақ өнімдері мен сусындар арқылы асқазан-ішек жолына түсетін олардың метаболиттерінің ерекшеліктеріне қызығушылық тудырады. Микробтардың өзара әрекеттесуінің әртүрлі түрлері зерттеліп, оларды реттейтін физикалық, химиялық, биологиялық және генетикалық факторлардың рөлі сипатталып жатыр [18].

1.2 Сүтқышқылды бактериялардың ерекшелігі

Бүгінгі таңда тағамдық биотехнология тағам және азық өнімдерінің қауіпсіздігі мен биологиялық құндылығын жақсартатын жаңа буынды өнімдер мен тағамдық қоспаларды жасауға бағытталған. Бұл жағдайда дайын өнімнің санитарлық-микробиологиялық және органолептикалық көрсеткіштерін жақсартуға ықпал ететін, сондай-ақ өндірістік процесті күшейтуге мүмкіндік

беретін органикалық қышқылдар, бактериоциндер, ферменттер, дәрумендер сияқты белгілі бір биологиялық белсенді компоненттерді синтездеуге қабілетті микроорганизмдер технологиялық шешім бола алады.

Бұл жағдайда сүт қышқылды бактериялар ерекше орын алады. Ішек микрофлорасын түзету, әртүрлі аурулардың алдын-алу дәстүрлі түрде олардың көмегімен дайындалатын сүт қышқылы өнімдерді қолдану арқылы жүзеге асырылды. Микроорганизмдердің бұл тобы ең көп зерттелген топтардың бірі болып табылады, дегенмен оларға деген қызығушылық жоғалмайды және ғылыми әдебиеттерде олардың жаңа пайдалы қасиеттері туралы ақпарат үнемі пайда болуда. Сүтқышқылды бактериялармен қатар, аз зерттелген, бірақ тәжірбеде (ірімшік дайындау, өсімдік шикізатын сүрлеу, пробиотиктер өндірісі) қолданыс тапқан пропион, сондай-ақ сірке қышқылы бактерияларыда көбірек назар аударып отыр. Олардың физиологиялық және биохимиялық ерекшеліктері, зен саңырауқұлақтарының және өнімді басқа да ластаушы микроорганизмдердің өсуін тежеу белсенділігі практикалық қолданыста жоғары пайда әкеледі.

Шикізат пен азық-түліктің ластану және бұзылу қаупін төмендету үшін қазіргі уақытта тұтынушының ағзасына жағымсыз әсер ететін нитриттер мен сульфиттер, бензой, пропион, сорбин, сірке қышқылдары және олардың тұздары сияқты түрлі химиялық ингредиенттер кеңінен қолданылады. Бұл жағдайда химиялық заттарға балама органикалық қышқылдарды өндіретін микроорганизмдер болып табылады, негізінен сүтқышқылды бактериялар қауіпсіз деп саналады. Олардың қауіпсіздігі тірі организмдердің және көптеген тамақ өнімдерінің, асқазан-ішек жолдарының қалыпты микрофлорасының өкілдері болып табылатындығына және ұзақ мерзімді сақтау өнімдерін алу, оларды биологиялық белсенді заттармен байыту және адамның иммундық деңгейін арттыру үшін тамақ өнеркәсібінде ұзақ уақыт қолданылуына негізделген [19 - 21].

Азық-түлік микроорганизмдерінің көптеген комбинацияларының нәтижесінде әлемнің әртүрлі мәдениеттеріне тән мыңдаған түрлі тағамдар мен сусындар алынады. Соңғы жылдары тұтынушылардың денсаулығына ықтимал пайдасын анықтау үшін сүтқышқылды бактериялардың тағамдық құндылығы мен функционалдығын зерттеудің болашағы артып келеді [22 - 24]. Ферменттелген тамақ өнімдерін өндірудің өзіндік тарихы бар елдердегі зерттеулер, ашу үрдісіне қатысатын штамдардың қасиеттеріне қатысты зерттеулер болып табылады [25]. Кәдімгі үнділік ашытылған тағамнан бөлініп алынған *Lactobacillus plantarum* штамы бірқатар тағамдық қоздырғыштардың өсуін тежейтіні көрсетілген [26]. *Lactobacillus casei/acidophilus* көмегімен дайындалған пробиотикалық йогурттар мен ашытылған сүт өнімдері қарапайым йогурттар мен сүтке қарағанда жоғары антиоксиданттық потенциалға ие, себебі олар жүзеге асыратын протеолизде, кейбір созылмалы ауруларға қарсы сүт өнімдерінің қорғаныс әсеріне қатыса алатын антиоксидантты пептидтер түзіледі [27]. Сүтқышқылды бактерияларға жасалған скрининг нәтижесінде, әдеттегі ұйытқы ретінде пайдаланылатын

түрлерін қоса алғанда, сүтті ашыту кезінде жаңа күшті ингибиторлық антигипертензивті пептидтерді өндіру қабілетіне *Lactobacillus casei* ATCC 7469 мен шай саңырауқұлағы (72-сағаттық) ең белсенді екендігі көрсетілді [28]. Бифункционалды йогурт өндіруде көмекші дақыл ретінде *Lactobacillus casei* PRA205 қолдануға болады. Бұл дақыл пробиотик ретінде бифункционалды йогуртты биоактивті пептидтер мен өміршең клеткалармен байыта отырып, адам денсаулығын нығайтады [29, 30].

Қазақстандық ғалымдар отандық дәстүрлі сүтқышқылды өнімдерінің изоляттары арасында әлеуетті *Lactobacillus* пробиотикалық штамдарын іріктейді, олар ашытылған пробиотикалық өнімдерді өндіруде ашытқы ретінде перспективалы үміткер болады [31]. Тамақ өнеркәсібінде пробиотикалық және технологиялық қасиеттерге ие жаңа перспективті *Lactobacillus* штамдарын алуға көп көңіл бөлінуде. Табиғатта сүтқышқылды бактериялар сүтте, әртүрлі өсімдіктерде, көкөністерде, жемістерде және топырақта кездеседі.

Бұл мезофильді және термофильді, қышқыл мен спиртке төзімділігімен ерекшеленетін, таяқша немесе шар тәрізді болып келетін, анаэробты қозғалмайтын микроорганизмдер. Олар өнеркәсіпте ашытылған сүт өнімдерін: йогурт, сүзбе, қаймақ, айран, қышқыл май, ашытылған пісірілген сүт, қою айран, ірімшік және т.б. ауда қолданылады. Сонымен қатар, олар көкөністерді ашытуда және жемді сүрлеуде, сондай-ақ қара бидай қамырын жасауда пайдаланылады. Сүт қышқылды бактериялар консервілеуде қышқылдандыру үшін, кондитерлік өндірісте, алкогольсіз сусындар өндірісінде т.б. қолданылатын, сүт қышқылын алу үшін де қолданылады.

Сүт қышқылды ашу дегеніміз - сүт қышқылының түзілуімен сүттегі қант - лактозаның анаэробты өзгеруі болып табылады. Индукцияланған ашу үрдісінің сипаты бойынша сүт қышқылды бактериялардың екі тобы бар: сүт қышқылы жалғыз өнім ретінде түзілетін гомоферментативті және анағұрлым күрделі гетероферментті. Гетероферментті түрінде сүт қышқылынан басқа, сірке қышқылы, спирт, CO₂, сутегі және кейбір хош иісті заттар сияқты өнімдер едәуір көп мөлшерде түзіледі. Кейбір жағдайларда, шарап, сыра, жеміс-жидек шырындарын дайындау кезінде сүт қышқылды бактериялар және олар жүзеге асыратын өздігінен ашу барысында өнімдердің қышқылдануы және бұзылуы туындауы мүмкін.

Сүттің жоғары тағамдық және биологиялық құндылығы оны ашыту кезінде одан да арта түседі. Функционалды өнімдердің тұтыну нарығын, қазіргі уақытта жартысынан көбін сүт қышқылы өнімдері құрайды, олардың бастапқы ашытқы дақылдарының антагонистік белсенділігі организмнің дисбактериозы мен интоксикациясының алдын алады. Оларды дайындауда қолданылатын бактериялық ашытқы дақылдары шын мәнінде адамның ас қорыту жолына бейімделген бірегей пробиотиктер болып табылады [32, 33]. Сүт қышқылы өнімдерінің пайдалы әсері, олардың бірқатар микроорганизмдерге, соның ішінде патогендерге қарсы әсеріне байланысты. Бұл сүт қышқылды бактериялардың ішекте зиянды бактериялардың дамуын тежейтін сүт қышқылы мен басқа да заттарды (сутегі асқын тотығы, сірке,

бензой қышқылдары және т.б.) жинақтау қабілетіне байланысты, бұл әдетте шіріту процестерін тежеуге және ыдырайтын улы өнімдер түзілуін тоқтатуға септігін тигізеді. Сүт қышқылы сусынға белгілі бір дәм беріп қана қоймай, оның диеталық және профилактикалық қасиеттерін де анықтайды. Жұмыстың нәтижесі - ас қорыту ферменттерінің ішек жолына шығарылуын белсендіру және олардың әсерін ынталандыру болып табылады. Сүт қышқылының арқасында организмде фосфор мен кальцийдің сіңуі артады.

Сүт қышқылы бактерияларының патогенді және шартты-патогенді микроорганизмдермен бәсекелес өзара әрекеттесуі [34, 55], сондай-ақ олардың микробқа қарсы пептидтерлі түзуі [36, 37, 38] қазіргі кезде тәжірибе жүзінде дәлелденген. Ішек микрофлорасын түзету, сондықтан әртүрлі аурулардың алдын-алу дәстүрлі түрде сүт қышқылы бактерияларының көмегімен дайындалған сүт қышқылды өнімдерін қолдану арқылы жүзеге асырылған.

Қазіргі уақытта Қазақстанда барлық жастағы халық арасында дисбиотикалық жағдайлардың кең таралуы, пробиотикалық қасиеттері бар препараттар мен өнімдер өнеркәсібінің белсенді дамуын талап етеді. *Bifidobacterium adolescentis* 180, *B. breve* 204, *B. breve* 584 және *B. breve* 587 бактериялық изоляттарына жасалған скрининг [39], олардың жоғары пробиотикалық қасиеттерге ие екенін көрсетті. Сүтқышқылды бактерияларының консорциумы дисбактериоз кезінде бөлініп алынған патогенді және шартты-патогенді микрофлораға қарсы күшті әсерге ие. *Bifidobacterium spp.* штамдарына негізделген консорциумның құрамында, антагонистік *B. breve* және *B. adolescentis* штамдарының тірі массасы, 10⁹-дан астам тірі бифидобактериялар бар; алайда, плазмидалар жоқ, сол себепті грам-оң рецептивті патогенді және шартты-патогенді микрофлора үшін антибиотиктің тұрақтылығының тасымалдаушысы бола алмайды.

1.3 Пробиотик-микроорганизмдердің асқазан-ішек жолының индигендік микрофлорасымен өзара әрекеттесуі

Организмнің қалыпты физиологиялық жағдайы ішек гомеостазының тұрақтылығына және микрофлораның функционалды белсенділігін сақтауға негізделген. Пробиотиктерді сәтті қолданудағы негізгі шарт - олардың асқазан-ішек жолдарының агрессивті ортасына төзімділігі, сондай-ақ олардың организмнің микробиотасымен қарама-қайшы қатынастарының алдын-алу болып табылады. Пробиотикалық препараттарды, қоспаларды және тағам өнімдерін қолдану қауіпсіздігі дәлелденген факт болғанымен, бұл бір қарағандағыдай қарапайым емес екендігі анықталды. Өткен ғасырда, пробиотикалық микроорганизмдерді көп мөлшерді ұзақ уақыт бойы тағайындау, ішек микрофлорасының аэробты және микроаэрофильді өкілдерінің дисбиотикалық өзгерістерінің дамуына ықпал етуі мүмкін екендігі көрсетілген [40]. Ұзақ уақыт бойы тірі пробиотикалық микроорганизмдерді қабылдаған адамдарда әртүрлі асқынулардың пайда болуы туралы жекелеген хабарламалар бар. Сонымен, сүт қышқылды бактериялар, оның ішінде бифидобактериялар, эндокардит, сепсис, бактериемия, пневмония, ішек

абсцессі, менингит, урологиялық инфекциялар сияқты оппортунистік инфекциялардың қоздырғышы бола алады [41 - 43]. Бұл бактериялар аллергиялық және аутоиммундық патологияларға да әсер етуі мүмкін. Олар гемолитикалық уремиялық синдромның клиникалық көріністерін айқындата отырып, тромбоциттер агрегациясын жоғарылатуы мүмкін және олардың кейбіреулері улы биогендік аминдердің көзі бола алады [44, 45].

Резиденттік микрофлораны пробиотиктермен қалпына келтіру мәселесінде көптеген қателер, жалған теориялық және практикалық түсініктер жинақталды. Пробиотиктердің тиімсіздігінің басты себептерінің бірі құрамына кіретін микроорганизмдер адамға жат болуы мүмкін [46]. *In vitro* тәжірибелік жағдайында және зертханалық жануарларға жүргізілген бақылауларда пробиотикалық және индигенді лактобациллалардың штаммдары арасында, жекелеген адамдардың, егеуқұйрықтар мен тышқандардың әртүрлі анатомиялық аймақтарынан бөлініп алынған резиденттік лактобациллдер арасында антагонистік қатынастардың (бионесәйкестігі) кең таралуы анықталды. Лактобациллалар арасындағы антагонизмнің айқындылық дәрежесі зерттелген дақылдардың түрлері мен штаммдарына да байланысты. Бір жануарлар ұрпағынан бөлініп алынған лактобациллалар бір-бірімен толықтай үйлесімді болған.

Тәжірибелік жағдайда алғаш рет жануарлар ұрпақтарының ас қорыту жолдарының резиденттік лактобациллаларының белсенді селекциясына туа біткен қабілеттілігі аналықтарына ұқсас екенін көрсетті. Алынған мәліметтер резиденттік микроорганизмдердің шығу тегі басқа, бірақ, бір түрдің өкілдерімен биосәйкестігі колонизацияға төзімділіктің жалпы биологиялық механизмі, қожайын организмнің микроэкологиялық жүйесінің гомеостазын сақтау деген қорытындыға келуге мүмкіндік береді. Сондай-ақ, гетеро-және гомо-пробиотикалық лактобациллалар сау реципиенттің ішектерінде сақталуы оральді енгізу кезінде өтпелі сипатқа ие екендігі анықталды [47]. Сау жануарлардың ішектерінен пробиотикалық лактобациллалардың жойылуы биотоптардың биологиялық сыйымдылығының шектеулі болуына және резиденттік микрофлорамен антагонистік қатынастарға байланысты болып келеді. Осыған орай, автор алғаш рет пробиотикалық штамдарды селекциялауда және пробиотиктердің емдік-профилактикалық мақсатта ұсынудың, қожайын организмнің резиденттік микрофлорасына кіретін микроорганизмдер сәйкестігінің трансплантациялық көзқарасына негіздеді. Лактобациллалардың индигендік штамдарымен антагонистік және синергидтік қатынастарын ескере отырып, микроэкологиялық бұзылуларды түзету үшін дәстүрлі гомопробиотиктерді қолданудың орындылығы мен жоғары тиімділігі тәжірибе түрінде дәлелденді.

Патогенді және шартты патогенді микроорганизмдерге қатысты пробиотикалық лактобациллалардың антагонистік қасиеттерін бағалаудың модификацияланған зертханалық әдісі ұсынылды. *In vitro* жағдайында лактобациллалардың зерттелген штамдары грам-теріс бактерияларға қарағанда ең тиімді екендігі көрсетілген. Олардың антагонистік белсенділік

дәрежесі шамға тән болды. Қолдану тиімділігі мен қауіпсіздігі, сондай-ақ биосәйкес өндірістік штамдар мен олардың синбиотикалық бірлестіктерін іріктеуге негізделген поликомпонентті пробиотиктердің қауымдастығымен қамтамасыз етіледі [48].

Пробиотиктерді әрдайым клиникалық қолданудың себептерін талдау көптеген факторлар организмдегі пробиотикалық штамдардың өмір сүруіне және белсенділігіне әсер етуі мүмкін деген қорытындыға әкеледі, солардың ішінде пробиотикалық бактериялардың арасындағы антогонизм мен резиденттік микрофлора маңызды болуы мүмкін [49, 50]. Штамдардың ерекшелігін қосымша зерттеу қажеттілігі туындайды, бұл белгілі бір ферменттелген өнімді алу үшін шикізатты өзгеріске ұшырату мүмкіндігімен ғана емес, сонымен бірге олардың қабылдаушы ағзада өмір сүруімен, онымен және индигендік микрофлорамен әрекеттесуімен байланысты.

Жоғарыда айтылғандар пробиотикалық ретінде ұсынылатын сүт қышқылды бактериялардың ерекшеліктерін, сондай-ақ адамның белгілі бір аурулары үшін диеталық және кейбір жағдайларда тіпті дәрілік араласуда қолдануға болатын функционалды ашытылған тағамдар үшін қолданылатын ерекшеліктерін мұқият зерттеу қажеттілігін көрсетеді.

1.4 Сірке қышқылды бактериялар

Сірке қышқылды бактерияларға көңіл аз бөлінеді. Соған қарамастан, барлық сүт қышқылды өнімдерде сүт қышқылының ашуымен қатар, сірке қышқылының ашуы да жүреді. Сірке қышқылының ашуы сүт қышқылының ашуы сияқты айқын болмағанымен, ол өнімнің дәмі мен консистенциясына әсер етеді, ал шамадан тыс көп болуы өнімнің сапасын бұзуы мүмкін. Аэробты жағдайда сірке қышқылы бактериялары негізгі соңғы өнім ретінде сірке қышқылын түзе отырып, қантты, қант спиртін және этанолды тотықтырады. Бұл зат алмасудың ерекше түрі оларды барлық басқа бактериялардан ерекшелейді. Сірке қышқылы бактерияларын Пастер 1850 жылдары сипаттағанына қарамастан, соңғы уақытқа дейін олар жасанды зертханалық ортада өсіру қиындықтарына байланысты жақсы зерттелмеген. Олардың клеткалары көбінесе өсіруге жарамсыз күйде болатындықтан, оларды бөліп алу, дақылдау және идентификациялау көбінесе қиын [51].

Соңғы жылдары сірке қышқылы бактерияларының физиологиясын, олардың тамақтану көздері мен метаболизм өнімдерін, оларды анықтау әдістерін, сондай-ақ молекулярлық биология және таксономиясын түсінуде біраз жетістіктерге қол жеткізілді [52, 53]. Сірке қышқылы бактерияларын анықтауды жеңілдетудегі маңызды қадам осы жұмыста молекулалық биологиялық әдістерді қолдану, атап айтқанда, рРНК 16s тізбегін талдаудың жаңа әдістерін енгізу арқылы мүмкін болды. Қазіргі уақытта олар *Acetobacteriaceae* тұқымдасының он туысыны жіктеледі.

Ферменттелген тағамдардың адам денсаулығына тигізетін пайдасы туралы түсініктің артуына байланысты, соңғы жылдары сірке қышқылы

бактерияларының табиғи экожүйелерде де, ферменттелген өнімдерді алу барысында да зат алмасуына назар аударылуда.

Сірке қышқылы бактериялары өздерінің метаболитикалық ерекшеліктеріне байланысты биотехнология саласында қызығушылық тудырып отыр, олар аскорбин қышқылы, дигидроксиацетон, глюконий қышқылы, целлюлоза продуценттері ретінде кеңінен қолданылады. Сондай – ақ, ағзаларды трансплантациялау кезінде ерітінділерді дайындауда қолданылатын, көктамыр ішіне енгізілетін антибиотиктер ерітінділерін дайындауда пайдаланылатын жаңа буынды поли қышқылдары-лактобиондарды алуда да пайдаланылады [54]. Сонымен қатар, сірке қышқылы бактериялары, кейбір елдерде маңызды табыс көзі болып табылатын какао өндірісінде де пайдаланылады. Олар түзетін микробтық целлюлоза керемет физикалық қасиеттерге ие және тәжірбелік қолдану мүмкіндігі бар. Сірке қышқылы бактерияларының немесе олардың ферменттерінің биотрансформациясының басқа өнімдеріне С дәруменін алу үшін қолданылатын 2-кето-Л-гулон қышқылы; сонымен бірге, тамақ өндірісінде калориясы аз тәттілендіргіш ретінде пайдаланылатын D-тагатоз; және антибиотик өндірісінде негізгі аралық өнім болып табылатын шикимат жатады [55].

Сірке қышқылы бактериялары *Alphaproteobacteria*-ға енетін *Acetobacteraceae* тұқымдасына енетін грам-теріс облигатты анаэробты бактериялар болып келеді. Олар *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Kozakia*, *Swaminathania*, *Saccharibacter*, *Neoasaia*, *Granulibacter*, *Tanticharoenia*, *Ameyamaea*, *Neokomagataea* және *Komagataeibacter* туыстарының мүшесі. Сірке қышқылы бактерияларының морфологиялық, физиологиялық және генетикалық сипаттамаларға негізделген жеке жіктелуі соңғы жылдары біршама өзгерістерге ұшырады. Олардың таксономиясы, биохимиялық аспектілері, бөліп алу әдістері, идентификациялау және сандық бағалаулары, жалпы биотехнологияда қолданылуы шолуда егжей-тегжейлі қарастырылған [56].

Полимеразды тізбекті (PCR-DGGE) реакцияның денатурациялық градиент реакциясы арқылы сірке қышқылының ашуынан кейін жиі қалпына келетін түрлерді нақты топтастыра алынды, олар негізінен *Acetobacter*, *Gluconobacter* және *Gluconacetobacter* туыстарының өкілдері болған [57]. Тамақ өнеркәсібінде сірке қышқылы бактериялары ашытылған сүт өнімдерінің ашыту ұзақтығын азайту, ащы дәмді жою және хош иісті жақсарту, сонымен қатар ішінара гидрогенделген өсімдік майларының тотығуынан қорғау және өнімдердің балғындығын арттыру үшін қолданылады [58].

Соңғы жылдары әртүрлі сірке суларын өндіруге көп көңіл бөлінуде. Әр түрлі шикізат, ашытқы штамдарының түрлерімен мен спиртті және кейіннен сірке қышқылды ферментациясының нәтижесінде алынған бальзамдық, ақшарап, күріш сияқты сірке сулары жасалуда. Бұл өнімдердегі негізгі ұшқыш қосылыс сірке қышқылы, спирттер, қышқылдар, эфирлер, альдегидтер және

кетондар болып табылады ұлар оған ерекше хош иіс пен дәм береді. Олардың танымалдылығы, сонымен қатар әртүрлі полифенолдардың, микроэлементтердің және оларда кездесетін басқа биоактивті қосылыстардың әсерінен микробқа қарсы, диабетке қарсы, антиоксидантты және гипотензивті әсерге негізделген [59 - 62]. Бальзам сірке суы – бұл екі сатылы жүзім ашытқысының ферментациясы нәтижесінде алынған нутрицевтикалық өнім. Ашыту жағдайларының өсу кинетикасына, биологиялық өнімнің дамуына, популяция динамикасына және соңғы өнімнің сапасына қалай әсер ететіні туралы мәлімет аз.

Пробиотикалық организмдердің қасиеттері бар (рН–тың төмен мәндеріне және өт тұздарының жоғары концентрациясына төзімділік, патогенді бактерияларға қарсы антагонистік белсенділік, антибиотиктерге сезімталдық және т. б.) йогурт пен сүзбе сияқты дәстүрлі Иран өнімдерінен бөлініп алынған – *Acetobacter indonesiensis* және *Acetobacter syzygii* сірке қышқылы бактериялары бірнеше рак клеткаларының (He La, MCF-7, AGS және HT-29) және адамның қалыпты (адамның кіндік венасының эндотелий клеткалары) клеткаларының цитотоксикалық мәніне бағаланды [63].

Нәтижелер таңдалған штамдардың қолайлы пробиотикалық сипаттамаларын, сондай-ақ рак клеткаларының барлық сызықтарына қатысты *Acetobacter syzygii* цитотоксикалығының жоғары екендігін растады, ал, сол орайда олар түзетін метаболиттер адамның қалыпты клеткаларына қатысты клеткалық уыттылықты көрсетпеді. *A. syzygii* штаммының метаболиттерінің қатерлі ісікке қарсы әсері рак клеткаларындағы Апоптоздың индукциясына байланысты деген қорытынды жасалды. Алынған деректер болашақта қатерлі ісікке қарсы препараттар ретінде пайдалану үшін перспективті болатын тиімді қосылыстарды анықтау бойынша зерттеулер жүргізу міндетін қояды. *Acetobacter syzygii* пробиотикалық түрлерінің ауыз қуысының кең таралған карциномасы профилактикалық әсері басқа жұмыстарда да расталған.

Сүтқышқылды мен сірке қышқылды бактерияларының пробиотикалық (Scientific компаниясы және "О.Д. Пролисок" өндірістік компаниясы жеткізетін "Симбитер" мультипробиотигі) қоспасы денеде май қыртыстарының пайда болуына және егеуқұйрықтардағы бауыр ауруларының дамуына профилактикалық әсер етеді [64]. Мұнда жеке организмдердің метаболиттерінің синергетикалық әсері олардың жеке әсерлерінің қосындысынан асады. Тағамдық және биологиялық қасиеттері бойынша ферменттелген өнімдердің ішіндегі ең құндыларының бірі – айран болып табылады. Ол сүт қышқылды, сірке қышқылды бактериялар мен ашытқылардың симбиотикалық өзара әрекеттесуінің өнімі. Айран холестериннің төмендеуі және ангиотензин түрлендіретін ферменттің тежелуі, микробқа қарсы белсенділік, ісіктердің өсуін басу, жараларды емдеу жылдамдығын арттыру және иммундық жүйенің модуляциясы, аллергия мен астма ағымын жеңілдету сияқты бірқатар пайдалы қасиеттермен байланыстырылады. Сондай-ақ, айранның басқа микробтық компоненттерімен қатар, *Acetobacter syzygii* сірке қышқылды бактериялар

микотоксиндерді байланыстыру қабілетіне ие, осылайша олардың асқазан-ішекте абсорбциялануын төмендетеді [65].

Айранды тұтыну ішек пробиотасын модуляциялайды және май қышқылдарының тотығуын ынталандыру арқылы семіздіктің алдын алуға көмектеседі [66]. Айраннан және басқа сүтқышқылды өнімдерінен антигипертензивті белсенділігі бар, сондай-ақ антитромботикалық, иммуномодуляциялық, остеогенді және антиоксидантты әсері бар пептидтер бөлініп алынған [67 - 69]. Колмакова Т.-ның шолуында айран саңырауқұлақтарының микробтық құрамын және айран, сүт сусынының пробиотикалық қасиеттерін, атап айтқанда оның антиканцерогендік, радиопротекторлық, антигенотоксикалық және антимуtagenдік, антиоксидантты, гипотензивті, гипогликемиялық, қабынуға қарсы және жараларды емдейтін, микробқа қарсы, иммуногендік және аллергияға қарсы биологиялық әсерін зерттеуге арналған заманауи ақпараттар келтірілген. Айран саңырауқұлақтарының ажырамас бөлігі сірке қышқылды бактериялар болып табылады. Олар ашытқыға қысым көрсетеді, бірақ олардың болуы айранның антибиотикалық белсенділігін арттырады. Олардың болуы, жоғары коректік сусынның консистенциясы мен дәміне әсерін тигізеді.

Бұл деректер айранға зерттеу нысаны және пробиотиктері бар әлеуетті өнім ретінде қызығушылықтың артуына әкелді [70 - 75]. Айранның бактерияға қарсы, иммунологиялық, ісікке қарсы әсерін одан әрі зерттеу пробиотикалық әсерімен бірге оның жасырын емдік және функционалдық қасиеттерін нақтылауға мүмкіндік береді [76].

Сірке қышқылды бактерияларының адам денсаулығына ықтимал әсері туралы ғылыми әдебиеттердегі мәліметтер, олардың жаңа ферменттелген өнімдерді дайындауға және жаңа технологиялық шешімдерді жасауға қатысуы туралы қосымша зерттеулерді дамытуды талап етеді. Олардың басқа микроорганизмдермен, атап айтқанда, сүтқышқылды бактериялармен және ашытқылармен өзара әрекеттесуін зерттеу, оларды жоғары органолептикалық көрсеткіштері ғана емес, сонымен қатар емдік әсері жоғары функционалды өнімдерді өндіруде бастапқы дақыл ретінде пайдалану мақсатында зерттеу өте өзекті болып табылады. Осыған байланысты жаңа организмдерді анықтау үшін әр түрлі экологиялық орталардан бөлініп алынған сірке қышқылды бактерияларына скрининг жүргізу, олардың штамдық айырмашылықтарын зерттеу, болашақта биотехнология саласында пайдалану мақсатында моно-және басқа микроорганизмдермен аралас дақылдарда ара қатынастарын зерттеу перспективті болып отыр.

1.5 Микроорганизмдердің резистенттілігі

Антибиотиктерді клиникалық тәжірибеге енгізу ХХ ғасырдың ең үлкен медициналық жетістігі болды [77]. Жұқпалы ауруларды емдеуден басқа, антибиотиктер көптеген заманауи медициналық процедураларға, соның ішінде қатерлі ісік ауруын емдеуге, ағзаларды трансплантациялауға және жүрекке ашық ота жасауға мүмкіндік берді. Алайда, осы құнды қосылыстарды

дұрыс пайдаланбау микробқа қарсы препараттардың тұрақтылықтығының тез өсуіне әкелді, қазіргі уақытта кейбір инфекциялар іс жүзінде емделмейді [78]. Алғаш рет дәрі-дәрмектердің барлық топтарына төзімді микроорганизмдер 1970-ші жылдары анықталды, ал 1990-шы жылдардың соңында барлық белгілі антибиотиктерге төзімді бұрыннан белгілі микроорганизмдердің штамдары пайда болды.

Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының 2014 жылдың сәуірінде жарияланған баяндамасында «Бұл үлкен қауіп, енді болашаққа деген болжамды білдірмейді, өйткені ол дәл қазір әлемнің әр аймағында бар және жасқа қарамастан, әркімге, әр елде теріс әсер етуі мүмкін» делінген. Микробқа төзімділіктің пайда болуы мен таралуын болдырмау жаһандық проблема ретінде танылған. Постантибиотикалық дәуірдің қауіптілігі бұл адам денсаулығына қауіпті екенін саясаткерлерді мойындауға итермеледі және антибиотиктердің ашылуы мен дамуына деген қызығушылықты арттыратын қосымша қаржыландыру қажеттілігін негіздеді [79]. Негізгі ұсыныстардың бірі-дәрі-дәрмектерді ертерек ашуға ынталандыру [80]. Клиникаға тиімді синтетикалық антибиотиктерді әкелудің салыстырмалы түрде жетіспейтіндігін ескере отырып, инфекцияға қарсы препараттардың жаңа буынын дамытуға ең жақсы үміт жаңа микробтық табиғи өнімдерді табу болып табылады, өйткені бұл қосылыстар химиялық әртүрлілігімен және антибиотик ретінде тиімділігімен теңдесі жоқ [81].

Антибиотикалық заттардың, соның ішінде саңырауқұлаққа қарсы заттардың танымал өндірушілері актиномицеттер (антибиотиктердің белгілі класының 64% - ын құрайтын жіп тәрізді актиномицеттер), сондай-ақ саңырауқұлақтар болып табылады. Бұған қарағанда бактериялар әлдеқайда аз зерттелген. Сонымен қатар, эволюция барысында бұл организмдер бәсекелес микроорганизмдердің өмірлік белсенділігін әртүрлі жолдармен, соның ішінде антибиотикалық заттарды синтездеу арқылы басу қабілетін дамытты.

Соңғы жылдары әртүрлі тағамдарды көгеруден қорғаудың микробиологиялық әдістерін жасауға деген назар артып отыр. Ол үшін сүтқышқылды, сондай-ақ пропион қышқылды бактерияларды пайдалану ұсынылады, олардың консервілеу әсері ортаның рН мәнін төмендететін және өнімдердің бүлінуіне әкелетін микроорганизмдердің дамуын тежейтін органикалық қышқылдардың, спирттердің, пероксидтердің және басқа метаболиттердің әсерімен ғана емес, негізінен олардың саңырауқұлақтарға-ықтимал контаминанттарға қатысты антагонизмді көрсететіндігімен түсіндіріледі. Бактерияға қарсы антибиотиктерді тиімсіз пайдалану, сондай-ақ адам өмірінде жалпы химияның көптеп пайдаланылуы, саңырауқұлақ ағзаларының агрессивтілігінің жоғарылауына ықпал етті, олар өз кезегінде тағамдық өнімдерді, ауылшаруашылық жануарларының жемінде бүлдіріп, қиын емделетін микоздар тудыруда.

Аурудың алдын алу үшін антибиотиктер түзетін микробтарды қолдану мыңдаған жылдарға созылады. Мысалы, 2000 жылдан астам уақыт бұрын Сербияда, Қытайда, Грецияда және Египетте ашық жараларды емдеу үшін

көгерген нанның дәстүрлі шұңқырлары пайдаланылған. Біздің дәуірімізге дейінгі 1550 жылмен белгіленген Эбер папирусы, ең көне медициналық құжат болып табылады. Ол жерде көгерген нан мен емдік топырақтан алынған дәрі-дәрмектер тізімі енген [82]. *Nai* және *Meuer* мамандандырылған зат алмасуға әсер ететін аралас түрлерді өсірудегі технологиялық жетістіктерге назар аударды [83].

Соңғы зерттеулер микробтық түрлердің өзара әрекеттесуін зерттеу бактериялық физиологияның жаңа аспектілерін және антибиотиктердің ашылуын белсендіруге ықпал ететін жаңа арнайы метаболиттерді анықтай алады деп болжайды. Заманауи мақалаларға шолу жасау, табиғи өнімдердің ашылуына әсер ететін түрлердің өзара әрекеттесуі туралы тақырыптарды қамтамасыз етеді. Бұл мақалаларда бактериялардың және саңырауқұлақтардың өзара әрекеттесуі мен өсірудің инновациялық әдістеріне, жаңа арнайы метаболиттердің индукциясын анықтауға екі шолу келтірілген [84, 85]. *Chevrette* және *Curri* антибиотиктерді ашудың эволюциялық аспектілеріне жан-жақты шолу жасап, антибиотиктердің табиғаттағы рөлін талқылады [86]. *Ueda* мен *Verru* антибиотиктер өндірісін химиялық ынталандыру арқылы бірлесіп өсіру әдістерін қолдана отырып, антибиотиктер табылған жағдайларды қарастырды [87]. Антибиотик өндірушілердің өзін-өзі қорғауы көбінесе туа біткен төзімділік деп аталады, ал антибиотик емес өндірушілерде өзін-өзі қорғау гендерінің пайда болуы жүре пайда болған резистенттілік ретінде белгілі.

1.6 Кандидамикоздар

Қазіргі уақыттағы ең өзекті мәселелердің бірі саңырауқұлақ ауруларының қаупі болып табылады, олардың жиілігі әлемдік фармацевтика өнеркәсібі мен қазіргі заманғы денсаулық сақтаудың озық жетістіктеріне қарамастан, бүкіл әлемде, оның ішінде Қазақстанда да тұрақты өсіп отыр. Бұл бірқатар әлеуметтік факторлар мен саңырауқұлақ инфекцияларының алдын-алу мен емдеуде, таралуына жеткілікті көңіл бөлінбеу себебімен анықталады.

Candida туысының ашытқылары табиғатта кең таралған және адамның терісі мен шырышты қабатының микрофлорасының өкілдері ғана емес, сонымен қатар жүйелік микоздардың ең көп таралған қоздырғыштары болып табылады. Олардың адаммен үнемі байланысы болуы, адамдар популяциясындағы өтпелі кандидоздардың көп таралуын түсіндіреді. Олар Еуропа халқының 65-80% -ның нәжисінде кездеседі. Кандидомикоздар айтарлықтай қауіп төндіреді, өйткені нақты және клиникалық белгілерінің болмауына байланысты оларды клиникалық диагностикалау көбінесе қиынға соғады [88].

Қоршаған ортадағы кез-келген бұзылыстар, ең бастысы адамның иммундық дисфункциясы жағдайы ашытқының көбеюіне және ауыр аурулардың кең спектрінің қалыптасуына ықпал етуі мүмкін. *Candida* туысының ашытқылары қанға түсе отырып, кез-келген органды жұқтыра алады. Сонымен қатар, хирургиялық араласуды қиындатып, өлімге дейін алып келеді [89]. Саңырауқұлақтардың қан арқылы таралу қабілеті орталық жүйке

жүйесіне, буындарға, сүйектерге микотикалық зақым келтіреді. Саңырауқұлақтардың көпшілігі тропизмге ие, яғни белгілі бір тіндерге әсер ете алады [90]. Саңырауқұлақтардың патоген ретінде белсенділігі және олар тудыратын аурулардың тереңдеуіне науқастың иммунологиялық және эндокриндік ерекшеліктері, атап айтқанда, қант диабеті, қалқанша безінің ауруы, гипоталамус-гипофиз-гонад дисфункциясы және т. б. ықпал етеді. АИВ-инфекциясы кезінде науқастардың 90%-ға жуығы қайталанатын кандидозбен ауырады [91].

Алайда, макроорганизмнің *Candida spp.*-ке төзімділігін реттейтін және шырышты қабаттың колонизациясының алдын алатын иммундық жүйенің туа біткен және жүре пайда болған факторларының рөлі осы күнге дейін жеткіліксіз зерттелген. Шырышты қабаттардың зақымдануымен пайда болатын кандидоздың үстірт формалары өте жиі кездеседі (24-60%) және олардың саны үнемі өсіп келеді [92, 93]. Кандидоздың беткі формаларының клиникалық ағымы (ауыз қуысы, өңеш, вульва және қынап) көбінесе қоздырғыштар спектрінің өзгеруімен, процестің ұзақтығымен және жылына қайталану санының артуымен байланысты. Қайталанатын курс кезінде жиі жүргізіліп жатқан антимикотикалық терапияға төзімділік, пациенттердің өмір сүру сапасының төмендеуі және асқынулардың болуы (өңештің қаттылығы, фиброгастродуоденоскопия кезіндегі байланыс осалдығы) байқалады. Аурудың осы түрлерімен ауыратын науқастарды емдеу белгілі бір қиындықтармен байланысты. Антифунгальды терапияның тиімділігін арттыру үшін, ең алдымен, фондық ауруларды түзету қажет.

Бұл саңырауқұлақтың патогендік потенциалының көрінуіне ықпал ететін факторлар- негізгі қожайын клеткаларға ену мен адгезияны, гидролаза секрециясын, ашытқының жіпшелер түзуге өтуін, байланысты зондтау және тигмотроптылық, биоқабықшаның пайда болуын, фенотиптік ауысуды қамтамасыз ететін заттар болып табылады. Сонымен қатар, жақында вируленттіліктің жаңа механизмдері табылды.

Кандидомикоздардың жиілігі мен ауырлығын қазіргі медициналық тәжірибеде қолданылатын дәрі-дәрмектер мен процедураларда күшейтеді. Бұл антибиотиктер, иммунодепрессанттар, жүктіліктің алдын алатын дәрілер, стероидтар, қатерлі ісіктерді емдеуде химиотерапияда, ревматоидты артритте қолданылатын препараттар, тіпті көмірсулардың шамадан тыс тұтынылуы. Жаңа патоген ретінде 2009 жылы алғаш рет бөлініп алынған *Candida auris* үлкен алаңдаушылық тудырып отыр [94].

Қазіргі уақытта осы организм тудыратын микоздардың өршуі бес континенттің кем дегенде он бес елінде тіркелген. *Candida auris* - дәстүрлі биохимиялық әдістерді қолдану арқылы анықтау өте қиын инфекциялық қоздырғыш. Кейбір изоляттар антифункционалды препараттардың барлық үш негізгі класына төзімді болуы себебінен, емдік мақсатта олардың комбинациясы жоғары мөлшерде қолданылады. Әр түрлі географиялық алыс орналасқан елдерде анықталуы, әр түрлі клондық популяциялардың жақында және бір мезгілде пайда болғанын көрсетеді. Қазіргі уақытта *C. auris*-тің (13-

39) клиникалық ерекшеліктері, микробиологиясы, терапевтік мүмкіндіктері және бақылау шаралары егжей-тегжейлі зерттелуде, алайда жағдай қауіпті болып қала береді. Бұл саңырауқұлақты анықтау қиын, өйткені *C. auris* –ті *Candida*-ның басқа түрлерінен ажыратуға жалпы қабылданған фенотиптік және биохимиялық әдістер мүмкіндік бермейді. Сонымен қатар, изоляттардың 90%-дан астамы флуконазолға және 35%-ы амфотерицинге төзімді [95].

Әр түрлі авторлардың зерттеулерінде, антагонистік белсенді сүт қышқылды бактерияларды анықтау кезінде саңырауқұлақтарға тест-дақылдары ретінде зеңдердің өсуін тежеу тұрғысынан ғана назар аударылады. Саңырауқұлақтар сүт өнімдерінің бұзылуын тудыра отырып, сүт өнеркәсібінде айтарлықтай экономикалық шығындардың себебі болып табылады. Сол себепті, саңырауқұлақтарға қарсы белсенділікке ие, метаболиттердің кең спектрін түзуге қабілетті микроорганизмдермен бірге, сүт қышқылды бактерияларын қолдана отырып, ашытылған сүт өнімдерін биоконсервілеу үлкен қызығушылық тудырады. Таза өнім белгісі бар өнімдерге тұтынушылық сұраныстың артуы жағдайында, тамақтың саңырауқұлақтармен бүлінуін азайту үшін пайдаланылатын химиялық қосындыларға антифункционалды дақылдар балама ұсынады. Сүтқышқылды бактерияларынан алынған ең көп таралған антифункционалды қосылыстар органикалық қышқылдар, бос май қышқылдары және ұшқыш қосылыстар екендігі көрсетілген. Таңдалып алынған лактобациллалардың екілік комбинациясы, жақында төрт сүт өнімдерінде *Penicillium commune* және *Mucor racemosus* ингибирлеу үшін сәтті қолданылды [96]. Сонымен қатар, *L. rhamnosus*-тен *in vitro* жағдайында зең саңырауқұлақтарын тежейтін 9 аминқышқылды пептид бөлініп алынған [97].

Қазіргі қалыптасқан жағдайда, адамдар мен жануарлар үшін саңырауқұлақтарға қарсы әсері бар функционалды емдеу-профилактикалық мақсатта қолданылатын өнімдер мен биологиялық белсенді қоспаларды дайындау бойынша кешенді шараларды қолдануды талап етеді. Патогендердің табиғи антагонистері болып табылатын пайдалы микрофлораның өкілдерін қолдана отырып, микробиологиялық қорғаныс құралдарын жасау қажет. Табиғи микрофлора әртүрлі аурулардың қоздырғыштарының өсуін тежеп қана қоймайды, сонымен қатар дәрумендердің, аминқышқылдарының және басқа биологиялық белсенді қосылыстарды синтездеу арқылы адам ағзасының қорғанысын ынталандырады. Дәстүрлі түрде, бұл мақсатта бактериялық сипаттағы әртүрлі аурулардың қоздырғыштарының өсуін белсенді түрде тежейтін сүтқышқылды бактериялар қолданылады. Олар арнайы әзірленген пробиотиктер түрінде және олардың негізінде дайындалған сүтқышқылды өнімдері түрінде де пайдаланылады. Алайда, олардың патогендік саңырауқұлақтармен қарым-қатынасына аз көңіл бөлінеді және сүтқышқылды микроорганизмдердің патенттелген штамдарының арасында *Candida* саңырауқұлақтарының белсенді антагонистері жоқ.

Бұл жерде күннен-күнге өсіп келе жатқан микоз, соның ішінде кандидомикоз мәселелері мен оларға қарсы дәстүрлі емнің нәтижесіздігімен

тығыз кездесіп отырған, медициналық микология мамандарының жұмыстарын ерекшелеуге болады. Осылайша, Ермоленко Е.И. және Хусмарк У [98, 99]. *Candida* туысының саңырауқұлақтарының лактобациллалардың әсеріне сезімталдығына зерттеу жүргізген. Тихомирова О.М. және Иванова Е.А. «Тибет күріші» табиғи қауымдастығының микроорганизмдерінің *Candida albicans*-тің өсуіне тежеу қабілетін бағалау үшін скрининг жүргізді және олардың негізінде антифункционалды пробиотикалық өнімдер алу үшін сүтқышқылды бактериялардың 8 штаммын іріктеп алды [100]. *Lactococcus* туысының бактериялары арасында фунгицидтік белсенділіктің болуы нашар зерттелген және фунгицидтік заттардың табиғаты туралы ештеңе дерлік белгісіз [101, 102]. Алайда, сүт өнеркәсібінде қолданылатын лактобациллалардың саңырауқұлаққа қарсы мүмкіншілігін зерттеу, олардың микроицеттермен ластануына қарсы тамақ өнімдерін биоконсервілеу процестеріне қатысуына ғана емес, сонымен қатар пробиотиктер ретінде пайдалануға да қызығушылық тудыруда [103].

1.7 Сүт сарысуы

Бүкіл әлемде әртүрлі аурулардың алдын-алу және емдеуде адамдар үшін улы емес, жанама әсерлері жоқ, кең спектрлі табиғи қосылыстарға сұраныс артып келеді. Сондықтан табиғи, соның ішінде фунгицидтік антимикотикалық агенттерді іздеу өзекті мәселе болып табылады.

Функционалды тамақ өнімдерін өндіруге арналған шикізат ретінде сүт өнеркәсібінің жанама өнімі- сүт сарысуы ерекше қызығушылық тудырып отыр. Сиыр сүтінен жоғары ақуызды сарысу өнімдерін өндіруде, сүт сарысуы ретінде түзілетін жанама өнім үнемі өсіп келеді. 2012 жылмен 2016 жыл аралығында, Қазақстанда ірімшік өндірісі 1,6 есеге, сүзбе өндірісі 29,4% - ға артқан [104]. Бұл ретте сарысудың шығымы пайдаланылатын шикізаттың 65% - дан 82% - ға дейін құрайды. Қазақстан Республикасының статистика агенттігінің деректері бойынша республикада жыл сайын 25 мың тоннадан астам ірімшік пен сүзбе өндіріледі, бұл жылына 200 мың тоннаға дейін сүт сарысуының пайда болуына әкеледі.

Қазіргі уақытта әлемдегі сүт сарысуының көлемі шамамен 140 миллион тоннаны құрайды. Статистика деректері бойынша, Ресейде жыл сайын шамамен 3 млн. т. сүт сарысуы өндіріледі, оның 59% ауыл шаруашылығы жануарларына жемге кетеді, тағы 20% егістікке немесе ағынды суға ағызылады және тек 21%-ы одан әрі өңдеуге түседі. Қазақстанда жағдай одан да нашар - сарысудың аз ғана мөлшері кептіріледі, ал экологиялық қызметтер оны сарқынды суға ағызуға қатысты либерализммен ерекшеленеді [104]. Қазақстан Республикасында сүт сарысуын өңдеудің әзірленген және енгізілген тәсілдерінің болмауы, құнды сүт өнімінің жоғалуына, сүт өңдеу кәсіпорындарының кірісінің төмендеуіне және қоршаған ортаның ластануына әкеп соғады.

Әлемде және негізінен Ресей Федерациясында әртүрлі өсімдік компоненттері қосылған сарысуды жоюдың көптеген әдістері жасалды. Бұл

жағдайда әдетте алдын-ала кептірілген сарысу концентраты қолданылады. Сүтқышқылды бактериялар мен лактозаны ыдырататын ашытқылармен ферменттелген сусындар немесе сарысуға негізделген өнімдерді алу бойынша технологиялар аз, ал өнімдер нарықта жоқ. Сарысудың құрамы биологиялық құндылығы бойынша тұтас сүттен кем түспейтін шикізаттың толыққанды түрі екенін көрсетеді. Сонымен қатар, «қайталама ресурстар» терминін қолданудың заңдылығы туралы дауласуға болады, өйткені оның биологиялық құндылығы мен өндіріс көлемі сүт шикізатынан төмен емес.

Сүт сарысуында 50% - ға дейін құрғақ заттар, 250-ге дейін түрлі құнды қосылыстар бар, оның ішінде 20% - ға жуық ақуыздар (иммуноглобулиндер (Igs), лактоферрин (Lf), гликомакропептид (GMP) және сфинголипидтер) казеиндерге қарағанда маңызды аминқышқылдары көп (биологиялық құндылығы бойынша тауық жұмыртқасының ақуызынан жоғары, бұл тамақ өнімдерінің тағамдық бағалауында жоғары болып табылады [105-107], сондай - ақ, басқа азотты, микро және макроқосылыстар, сүт майы, минералды тұздар, лактоза, витаминдер, ферменттер, органикалық қышқылдар бар.

Сарысудың энергетикалық құндылығы тұтас сүттен 3,5 есе төмен, бұл семіздіктің алдын алу үшін диеталық тамақ өнімдерін өндіруде қолданудың орындылығын анықтайды. Өндірістің тұйық циклын қамтамасыз ететін екіншілік сүт шикізатын қайта өңдеу, тамақ өнеркәсібінің тиімділігі мен кірісін едәуір арттыруға мүмкіндік берер еді. Сүт сарысуының негізінде сүт майы (ірімшік қосылған кілегей), сарысу нәруыздарының кешені, лактоза сияқты түрлі пайдалы өнімдерді өндіру әдістері жасалған. Сүт сарысуынан коммерциялық өнімдер: дәрумендер, пептидтер, амин қышқылдары, бактерицин, минералды кешен, ББЗ, оның ішінде бактериялық қауымдастық және су алу мүмкіндігі перспективті болып көрінеді.

Сүт сарысуы пробиотик- микроорганизмдердің тіршілігі үшін өте қолайлы орта болып табылады және осы парадигмаға сәйкес, ашытылған сүт өнімдерін алудың барлық тұжырымдамасын қайта қарастыру мүмкіндігі туып отыр. Ол пребиотиктердің синтезі үшін бастапқы шикізат, мысалы: лактулоза. Сүт сарысуы негізінде синбиотикалық биотехнологияның принциптерін жүзеге асыруға болады [108]. Сондықтан соңғы жылдары сүт сарысуына қызығушылық арта бастады [111, 112]. Сүт сарысуының құрамында сүт қышқылды бактериялардың кейбір зат алмасу өнімдері, мысалы, ұшқыш май қышқылдары, сондай-ақ оның дәмін нашарлататын липаза, фосфорилаза және т.б. болғандықтан, ол пайдалы қасиеттеріне қарамастан, сусын ретінде танымал емес. Тұтынушылардың сұранысын арттыру үшін оның органолептикалық сипаттамаларын реттеу мүмкіндіктері жасалуда.

Сарысудың органолептикалық көрсеткіштерін жоғарылатудың кең таралған нұсқасы-оған сүт немесе кілегей, айран, йогурт, сонымен қатар жеміс шырынын қосу болып табылады, бұл өнімді едәуір байытады және оның құнын арттырады. Фитокомпоненттер ретінде жеміс-жидек және көкөніс қоспалары қолданылады [113 - 118]. Функционалды өнімдер нарығында ең танымал сусындар, жеміс жеңілдігі мен балғындық беретін түрлі жеміс

қоспалары бар сусындар болып келеді. Олардың ішінде тағамдық және биологиялық құндылығы жоғары өсімдік қоспаларын қолданған, аралас сүт және өсімдік өнімдері ерекше орын алады. Сүт-өсімдік сығындылары бар сусындарды нейроцевтикалық функционалды топқа жатқызуға болады, өйткені олар антиоксиданттардың, аминқышқылдарының, дәрумендердің, минералды қосылыстардың, полифенолдардың жоғары құрамымен сипатталады және стресске қарсы, гипогликемиялық әсерге ие, ағзаның төзімділігі мен өнімділігін арттырады.

Сарысудың негізінде ас қорыту функцияларын, иммундық жүйені, адам ағзасындағы метаболитикалық процестерді жақсартуға арналған, бифидогенділікті көрсететін, дененің бірқатар патологиялық жағдайларының – стресс, атеросклероз, миокард инфарктісі, қатерлі ісік және т. б. пайда болуына жол бермейтін сусындар алуға арналған бірқатар технологиялық шешімдер жасалған [119 - 143]. Өсімдік сығындыларын немесе олардың композицияларын (даршын итмұрын жемістерін, төртжапырақты мүкжидек жидектерін, қара жемісті шетен жидектерін, Амур жүзім жидектерін, коломиктті Актинидия жидектерін), мангостин сығындыларын пайдаланған кезде композициялардың антиоксиданттық әсерінің синергетикалық әсерлері белгіленді [144].

Нано-тағамдық қоспаларға ерекше дәм мен хош иіс беру үшін оларға микробқа қарсы белсенділігі бар, сақтау мерзімін ұзартуға ықпал ететін дәстүрлі емес ащы хош иісті және дәрілік шикізаттан (маржорам, насыбайгүл, беде, орегано, кориандр тұқымы, лимон қабығы) және табиғи дәмдеуіштерден жасалған фитоэкстракт түріндегі қоспалар қосымша енгізіледі. БАВ (L-аскорбин қышқылы, фенолдық қосылыстар, флювонол гликозидтері, катехиндер және т.б.) химиялық құрамы мен мазмұны бойынша жаңа нано сусындар белгілі аналогтардан асып түседі және оларды әлеуетті иммуномодуляциялық әсері бар өнімдер ретінде қолдануға болады [145].

Табиғи шикізат негізінде, сүт және каротиноидты витаминді мұздатылған ұсақ дисперсті қоспалардың сарысулары (топинамбур пюресі, асқабақ пюресі, банан, шырғанақ және т.б.) және фитоэкстрактілер түрінде қосылған өсімдік қоспалары негізіндегі сауықтыру тағамдарына арналған жаңа функционалды аралас сүт-өсімдік нано-тамақтарының технологиясы ғылыми негізделген және дамыған. Наносусындарға ерекше дәм мен хош иіс беру үшін қосымша дәстүрлі емес хош иісті және дәрілік шикізаттан (маржорам, райхан, тәтті беде, орегано, кориандр тұқымы, лимон қабығы) фитоэкстракттар түрінде және микробқа қарсы белсенділігі бар, сақтау мерзімін ұзартатын, табиғи дәмдеуіштерден алынған фитоэкстракттар қосымша енгізіледі. Биологиялық белсенді заттардың химиялық құрамы мен құрамы (L-аскорбин қышқылы, фенолды қосылыстар, флавонол гликозидтер, таниндер, катехиндер және т.б.) жағынан жаңа наносусындар белгілі аналогтардан жоғары болатындығы көрсетілген және потенциалды иммуномодулярлық әсері бар өнімдер ретінде қолданыла алады [146].

Органолептикалық көрсеткіштерін жақсарту, сондай-ақ микронутриенттік құрамды түзету, соңғы өнімнің тағамдық және биологиялық құндылығын арттыру мақсатында сарысуды асхана қызылшасынан, сәбізден және асқабақтан жасалған көкөніс езбесімен біріктіру негізінде сусынды пробиотикалық дақылдармен ашыту жүргізілді. Алынған мәліметтер, езбе тәрізді көкөніс қоспаларын енгізу сарысудан ашытылған сусындардың органолептикалық көрсеткіштерін жақсартуға, микроэлементтердің құрамын теңестіруге ғана емес, сонымен қатар пребиотикалық әсерге байланысты ашыту процесінің қарқындылығын арттыруға мүмкіндік береді.

Алынған мәліметтер негізінде функционалды тамақтануға арналған, көкөністер мен олардың қоспалары қосылған сарысу сусындарының технологиясы мен рецептілері жасалды. Мұндай сусындарды қолдану, асқазан - ішек жолының қызметіне және жалпы бүкіл ағзаның жағдайына пре-және пробиотиктер әртүрлі жағымды әсерлерге ықпал етеді [147]. Сарысуға негізделген функционалды қасиеттері бар тамақ өнімдерінің ассортиментін кеңейту үшін математикалық модельдеу арқылы оңтайландырылған тәттілер рецептері жасалды. Сонымен қатар, олар десерттердің жағымды дәмін қамтамасыз ететін сарысу негізі мен жеміс-көкөніс толтырғыштарының оңтайлы қатынасы анықталды. Ол үшін үш факторлы симплекс-центроидты жоспарлар қолданылды [148]. Тәжірибелік зерттеулердің нәтижелері әзірленген десерттерді өнеркәсіптік өндіріске функционалды тамақ ретінде енгізудің орындылығы туралы ұсыныс жасауға негіз береді.

Сүт сарысуының негізінде жемістер және жидектер, сондай-ақ лимон қышқылы, жүгері крахмалы, қант, хош иістер мен бояғыштар қосылған желе өнімдерінің тобы шығарылады [149 - 151]. Олардың кемшіліктеріне функционалдық қасиеттердің болмауы, сондай-ақ табиғи емес тағамдық бояғыштар мен хош иістерді қолдану болып табылады. Оларды өндіруде сарысудағы ақуыздарды жою үшін сарысуды ағартудың технологиялық операциясы қолданылады, бұл желенің биологиялық құндылығының төмендеуіне, өндіріс шығындарының өсуіне, демек, өнімнің өзіндік құнының өсуіне әкеледі. Сонымен қатар, заманауи бояғыштардың, хош иістердің және толтырғыштардың кең таңдауы мен тартымдылығына қарамастан, оларды қолдану физиологиялық тұрғыдан негізсіз, әсіресе балалар тағамында, сондықтан сауатты тұтынушылар табиғи ингредиенттерге негізделген экологиялық таза өнімдерді артық көреді.

Өңделмеген және пробиотикалық микроорганизмдермен ферменттелген сарысу өте тиімді, антибактериалды, вирусқа қарсы әсері бар сусын болып табылады. Тек ішек қызметін ғана емес, сонымен қатар қабылдаушы ағзаның жалпы гомеостазын сақтауға көмектесетін басқа органдар мен жүйелерді де реттей алады. Сарысуға пробиотиктерді, пребиотиктерді, әртүрлі биологиялық белсенді табиғи өсімдік ингредиенттерін немесе белгілі бір қасиеттері мен химиялық құрылымы бар метабиотиктерді енгізу сарысу сусындарының функционалды қасиеттерін, сондай-ақ олардың тұрақтылығын жақсартуға көмектеседі. Осылайша алынған функционалды сусындар адамға

тән физиологиялық функцияларды, соның ішінде синбиотикалық микробиотаның белсенділігіне байланысты оңтайландыратын мақсатты агент бола алады [152]. Жалпы алғанда, сарысуды өсімдік тектес қоспалармен байыту арқылы тұтынушыға тартымды өнімдерді дайындау үшін оның пайдалы қолданылуына ықпал етеді деп айта аламыз, алайда алынған өнімнің функционалдығы оның құрамдас бөліктерінің жалпы функционалдығынан аспайды, ал оның құны артады.

1.8 Микробиотаны қалыпқа келтіруге арналған сусындар

Қазіргі уақытта функционалды тамақтануда адам ағзасының микроэкологиялық жағдайын оңтайландыруға ықпал ететін өнімдерге ерекше рөл беріледі. Себебі, нормобиоценоз - бұл иммунобиологиялық тұрақтылықтың және жалпы денсаулықтың кепілі болып табылады [153]. Сүт қышқылды өнімдер адамның асқазан-ішек жолдарының микрофлорасын қалыпқа келтіре отырып, оның иммундық жағдайына да оң әсер етіп, емдік қасиетке ие екені белгілі.

Сүт сарысуы сарысу бірқатар ауруларды (ішек аурулары, жабын және сүйек тіндерінің инфекциясы, иммун тапшылығы, қант диабеті, гипертония, хирургиялық араласудан кейінгі асқынулар және басқалар) емдеу және алдын-алу үшін тиімді қолдану мүмкіндігі клиникалық дәлелденген. Соған орай, сарысу адам ағзасына кешенді әсер ететін жаңа сусын жасауда негіз бола алады. Сүтқышқылды бактерияларының бұрын айтылған қасиеттерін ескере отырып, адамның асқазан-ішек жолында шартты патогенді микроорганизмдердің өсуіне және дамуына әсер ету үшін қажетті көрсеткіштері бар, атап айтқанда одан ықтимал қоздырғыштардың жойылуына ықпал ететін сусындар алу үшін сүт қышқылды бактериялардың антагонистік белсенді штамдарын және олардың комбинацияларын қолдану перспективті болып көрінеді. Бірқатар объективті себептерге байланысты (бактерияға қарсы антибиотиктерді ұтымсыз пайдалану, күнделікті өмірді жалпы химияландыру, тамақ өнеркәсібіне арналған шикізаттың көгерген саңырауқұлақтармен ластануы, дұрыс тамақтанбау және т.б.) соңғы жылдары адам ағзасында микромицеттердің шамадан тыс дамуы байқалуда, Соған орай, сарысу негізінде алынған жаңа сусынның функционалдығын арттырудың өткір қажеттілігі туындады.

Пайдалы микроорганизмдер мен олардың метаболизм өнімдерінен басқа, моно-(ксилит, сорбит), поли - (пектиндер, декстрин, инулиндер) және олигосахаридтер (гликозидті байланыстармен байланысқан моносахаридтер), витаминдер-антиоксиданттар (А, С, Е); микроэлементтер (селен); құрамында флавоноидтар бар өсімдік сығындылары; полиқаньқпаған май қышқылдары және басқа биологиялық белсенді заттар асқазан - ішек жолдарының қызметіне оң әсер ететіні белгілі. Жоғарыда айтылғандай, тамақ өнімдерінде асқазан-ішек жолында сіңірілмейтін, бірақ ас қорыту функцияларын тиімді жақсартатын және пайдалы ішек микрофлорасын ынталандыратын диеталық талшықтардың болуы ерекше маңызды. Бұл сүтқышқылды ашыту өнімдері

мен өсімдік қоспаларының үйлесімі, қажетті қасиеттері бар функционалды тамақ өнімдерін құрудың ең перспективті жолдарының бірі болып табылады деп болжауға мүмкіндік береді. Өздеріңіз білетіндей, тамақ өнімдерін өндірудің технологиялық процестерінде, ас қорыту жолымен өту кезінде пробиотикалық дақылдар көптеген агрессивті әсерлерге ұшырайды, бұл олардың белсенділігінің төмендеуіне, ішінара немесе толық жойылуына әкеледі.

Пробиотикалық микроорганизмдерге негізгі қауіп факторлары ол асқазанның қышқыл ортасының әсері, өт қышқылдарының, ферменттердің, өнімдердегі микробқа қарсы компоненттердің және оттегінің әсері болып табылады. Асқазан-ішек жолдарының әртүрлі бөліктеріндегі пробиотиктердің әртүрлі штамдарының өмір сүру деңгейі әртүрлі болуы мүмкін. Кейбір штамдар асқазанда жойылады, ал басқалары көп мөлшерде бүкіл ішек жолынан өте алады. Пробиотиктер осындай динамикалық ортаға бейімделуі немесе қорғалуы керек. Осыған байланысты пробиотикалық культуралардың клеткаларын қорғау және қолайсыз өндірістік және асқазан-ішек жағдайларында олардың өміршеңдігін арттыру әдістерін әзірлеу өзекті.

Асқазан-ішек жолдарының агрессивті ортасында белсенділік пен өміршеңдікті сақтаудың бір әдісі - әртүрлі тасымалдаушылардағы бактериялық клеткалардың иммобилизациясы. Бұл стратегияның ықтимал пайдасы - асқазанның жоғары қышқылдығына қарамастан, клеткалардың өміршеңдігін сақтау, адамның асқазан-ішек жолына клеткалардың қорғалуын және жеткізілуін қамтамасыз ету. Құрамында еритін немесе ерімейтін диеталық талшықтары бар пробиотикалық қоспаларды қолдану ішек микробиотасына жағымды әсер етеді және бірқатар аурулардың жағдайын жақсартуға көмектеседі.

Әр түрлі зерттеулерге сәйкес, тағамдық талшықты тұтыну жүректің ишемиялық ауруы, инсульт, гипертония, қант диабеті, семіздік және кейбір асқазан-ішек аурулары қауіпін азайтады, иммундық функцияны, қандағы липидтер мен глюкозаны жақсартады, қан қысымын төмендетеді, нәжісті тұрақтатып және салмақ жоғалтуды жеңілдетеді. Бидай кебегі антиоксидантты және иммуномодуляциялық белсенді және қатерлі ісікке қарсы қасиетке ие. Бидай кебегінің диеталық арабиноксиландары ішектің микрофлорасына әсерін тигізеді және плазмадағы жалпы холестерин мен хомықтардағы LDL холестеринінің концентрациясын төмендетті. Бидай кебегінің Ксилоолигосахаридтері бифидобактериялардың өсуі үшін субстрат бола алады және сублимациялық кептіру кезінде пробиотиктерді қорғайды.

Синбиотикалық өнімдер пробиотик микроорганизмдермен ас қорыту жолын колонизациялауға және өнімнің құрамында пребиотикалық ингредиенттердің болуына байланысты өзінің оң микрофлорасының биологиялық белсенділігін арттыруға ықпал етеді. Өсімдік талшықтары болып табылатын сорбентте иммобилизацияланған ашытқы бактериялары, қосымша қорғау дәрежесіне ие, сонымен бірге өттен де.

Реактивация процесі сорбентте жақын орналасқан клеткалардың

«топтық» мінез-құлқының (кворум сезімталдығы) есебінен жеделдетілетін болады. Сонымен қатар, биологиялық ыдырайтын сорбент тек енгізілетін бактериялар үшін ғана емес, резиденттік микрофлора өкілдері үшін де қорек көзі болып табылады. Алайда, ішек микрофлорасын саңырауқұлақ микроорганизмдеріне, атап айтқанда *Candida* туысының ашытқыларына қарсы профилактикалық әсерін қалыпқа келтіруге бағытталған өнімнің әзірлемелері жоқ. Сондай-ақ, кандидозды емдейтін дәрігерлердің бақылауы бойынша, сүт, соның ішінде сүт қышқылы өнімдері осы аурудың өршуіне ықпал ететіндігін атап өткен жөн.

Бұл қолайсыз нәтижелерді жоққа шығару үшін қосымша зерттеулерді қажет етеді. Қазіргі уақытта табиғи өнімдердің қауіпсіздігін бағалау әдістері және саңырауқұлаққа қарсы емдеуде табиғи өнімдерді қолданудың жаңа технологиялары назар аударуда [154-157]. Антифунгальды қасиеттер тұрғысынан ең көп зерттелгендер- *Lactobacillus*, *Pediococcus* және *Leuconostoc* түрлері болып табылады [158-160]. Үй жағдайындағы және коммерциялық йогурт үлгілерін зерттеу кезінде саңырауқұлақтарға қарсы белсенділікке ие сүт қышқылды бактериялар бөлініп алынды. Саңырауқұлаққа қарсы ең жоғары белсенділікке *Streptococcus thermophiles* (*Candida albicans*-ты тежеу аймағы - 13,3 мм) ие болды, сонымен қатар, *Lactobacillus lactis* және *Lactobacillus bulgaricus* әлсіз көрсеткіштер көрсетті [161]. Сүтқышқылды бактерияларға негізделген пробиотиктер қазіргі уақытта кандидоздармен бірге жүретін дисбактериоздармен күресудің маңызды құралдарының бірі ретінде танылған. Ал пробиотиктермен толықтырылған ашытылған сүт өнімдерінің өндірісі көп миллионды бизнеске айналды.

1.9 Ашытқылар

Ашытқы - бұл адамның тіжирбесінде қолданылған алғашқы микроорганизмдердің бірі. Қазіргі уақытта ашытқы, сондай-ақ олардың метаболикалық өнімдері тамақ өнеркәсібінің әртүрлі салаларында - тамақ өнімдерін өңдеу және консервілеу, негізінен пісіру, қайнату және шарап жасау, сонымен қатар фармацевтика мен өнеркәсіптік ферменттер өндірісі сияқты салаларда қолданылады. Олар микроорганизмдердің ең перспективалы және «технологиялық» топтарының бірі болып табылады [163].

Ашытқылар - адамның тәжірибелік қызметінде қолданылған алғашқы микроорганизмдердің бірі. Қазіргі уақытта ашытқылар, сонымен қатар олардың метаболизм өнімдері тамақ өнеркәсібінің әртүрлі салаларында - тамақ өнімдерін қайта өңдеу мен консервілеуде, негізінен нан пісіруде, сыра қайнатуда және шарап жасауда, сондай-ақ фармацевтика мен өндірістік ферменттер өндірісі сияқты салаларда қолданылады. Олар микроорганизмдердің ең перспективті және «технологиялық» топтарының бірі болып табылады [163]. Ашытқылар тамақ пен сусындарды ферменттеуде маңызды рөл атқарумен қатар, адам денсаулығына пайдалы көптеген қасиеттерге ие. Асқазан-ішек жолына түскен ашытқылар қоректік заттардың сінуін ынталандырады, патогенді бактериялардың токсиндерін және тіпті

вирустарды бейтараптандырады [164, 165], гипоаллергенділікпен ерекшеленеді. Қазіргі уақытта тәжірибеде қолдану үшін жоғары өнімді каротин синтездеуші *Rhodospiridium diobovatum* ашытқы штамдары ұсынылды және каротиногенез процестеріне әртүрлі факторлардың әсері анықталды [166]. Ашытқылардан туындаған пробиотикалық әсерлер, соның ішінде ішек ауруларының алдын-алу және емдеу және иммундық жүйені ынталандыру адам денсаулығының ең танымал салдары болып табылады. Ашытқының кейбір түрлері патогенді бактериялардың, сондай-ақ азық-түліктің бұзылуына әкелетін бактериялардың өсуін тежейтін микробқа қарсы қосылыстар түзуге қабілетті, бұл олардың қауіпсіздігі үшін күресте жаңа агенттердің бірі болуға мүмкіндік береді [167].

Ашытқының басқа пайдалы функциялары-фоллий қышқылының биофортификациясының фитат гидролизі арқылы минералдардың биожетімділігін жақсарту [168 - 171] және микотоксиндердің ашытқы клеткаларының қабырғасымен беткі байланысты детоксикациясы болып табылады [172]. Құрғақ белсенді ашытқылар ауыл шаруашылығында қолданылады. Күйіс қайыратын жануарлардың асқазан-ішек жолының микрофлорасымен өзара әрекеттесе отырып, рН-ты тұрақтандырады және ацидоздың дамуына кедергі жасайды, яғни пробиотикалық әсер етеді [173]. Автолизат немесе гидролизат түріндегі сыра ашытқыларын кейіннен балық пен шаян тәрізділердің дернәсілдеріне, нематодтарға жем ретінде қолданылады. Олардың құрамындағы бетаглюкандар, нуклеин қышқылдары, сондай-ақ маннан олигосахаридтері балықтарда стрептококк инфекциясына төзімділігін арттыра отырып, иммундық реакциялардың жоғарылауына ықпал етеді [174].

Ашытқылар түзетін полиаминдер балық дернәсілдерінің ас қорыту жүйесінің жетілуіне қатысады. Сонымен қатар, ашытқының кейбір түрлері және олардың, β -глюкандар мен маннопротеидтер сияқты кейбір компоненттері, қожайын организмнің иммундық және антиоксидантты жүйелерін ынталандыруы мүмкін. Ашытқы микробиотасының балық денсаулығы мен тамақтануына қатысуын түсіну санитарлық жағдайды да, балықтың өнімділігін де жақсартуға көмектеседі [175]. Адам қолданатын ферменттелген тағамдар ашытқы сияқты микроорганизмдердің көзі болып табылады, олар адам денсаулығына әртүрлі пайдалы әсер етеді және пробиотиктер ретінде әрекет ете алады. Ферменттелген тағамдарда кездесетін ашытқылардың алуан түрлілігі өте жоғары, алайда қазіргі уақытта тек екі түрі пробиотиктер ретінде танылады: *Saccharomyces cerevisiae* және *S. cerevisiae var. boulardii*. [176 – 181]. *S. cerevisiae* тірі дақылдарын ауылшаруашылық жануарларының рационына қосу олардың өсуін, денсаулығын және иммундық реакциясын жақсартады [182]. Соңғы зерттеулер пробиотикалық потенциалы бар ашытқылардың басқа түрлерін анықтады, мысалы, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Torulaspora*, *Kluyveromyces*, *Hanseniaspora*, *Rhodotorula*, *Wickerhamomyces*, *Candida* және *Williopsis* [183]. Осы авторлардың пікірінше, нәжіс пен айраннан бөлініп алынған ашытқылар адамның асқазан-ішек жолдарының

жағдайларына жоғары бейімделуімен сипатталады. Сонымен, рН 2,5 жағдайында 8 сағат ішінде температурада 37°C болған кезде олардың өмір сүру деңгейі 86-97%-ды құрады. рН 1,5 кезінде нәжістен бөлінген ашытқылардың өмір сүру деңгейі 85-92%-ды құрады. Кефир изоляттары жоғары сезімталдықты көрсетті және 8 сағаттық инкубациядан кейін олардың өміршеңдігінің деңгейі 33 және 38%-ды құрады. Ашытқының бұл штамдары өт қышқылдарының тұздарына, сондай-ақ рН 2-де қышқыл ортаға жоғары төзімділікті көрсетті және осы жағдайларда олардың өмір сүру деңгейі 95% -ға жетті. Пробиотиктердің құрамына кіретін ашытқылардың асқазан-ішек жолдары арқылы транзитті өткізу қабілеті штамға байланысты деген қорытынды жасалды [184].

Сонымен қатар, ашытқының кейбір штамдары антиоксиданттық белсенділікке ие. Жұмыста шикі сиыр сүтінен бөлінген ашытқы клеткаларының НТ-29 тоқ ішектің ісік клеткаларының адгезиясына қабілеттілігі бағаланды [183]. *P. kudriavzevii* клеткалары үшін адгезия 62 клетка/100 клетка НТ-29 және *Geotrichum sp* клеткалары үшін 80 клетка/100 НТ-29 құрады. Бұл мәліметтер бифидобактериялардың түрлеріне (> 350) қарағанда төмен болды және бұл клеткалардың мөлшеріне байланысты болуы мүмкін, өйткені кейбір ашытқылар бактерияларға қарағанда ішек бетіне бекіту үшін үлкен аумақты қажет етеді [185]. Екінші жағынан, *Kourelis* ашытқысының Сасо-2 клеткаларына жоғары адгезиясы туралы хабарланды [186]. Бұл зерттеуде *Candida parapsilosis* адгезиясы 100 Сасо-2 клеткасына 300-ден астам астам ашытқы клеткасын құрады. Сонымен бірге, Кумур және т.б клеткалардың адгезиялық қабілетіне ас қорыту протеиназаларының әсерін зерттеді [186]. Олар көк ірімшік пен айранның К протеиназа, пепсин немесе трипсинмен өңделген Сасо-2 клеткаларының бірнеше түрін бөліп алды.

Нәтижелер Сасо-2 клеткаларына К протеиназа қосу арқылы адгезияның 20% төмендегенін көрсетті, ал пепсин мен трипсин бұл қабілетке айтарлықтай әсер етпеді. *Kluveromyces* туысы Сасо-2 клеткаларына адгезия қабілетін көрсетті. Бұл әсіресе, *Kluveromyces lactis* үшін айқын болды. Екінші жағынан, *Debaryomyces hansenii*, *Kluveromyces marxianus* және *Kloeckera lodderae*-мен салыстыруға болатын адгезия қабілетін көрсетті; дегенмен, *Debaryomyces occidentalis*-тің адгезиялық қабілеті төмен болды. Басқа ашытқылар, соның ішінде *S. cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica* және *Candida humilis*, Сасо-2 клеткаларына жабыспады. Бұл нәтижелер адгезия клетка қабырғасындағы ақуыздардан туындағанына қарамастан, ашытқылар ішек протеиназалары болған кезде жақсы сипаттамаларға ие екенін көрсетеді.

Ашытқының антибиотиктерге табиғи төзімділігі бар екендігі белгілі, сондықтан оларды осы препараттармен емделген пациенттерге тағайындайды. Дәстүрлі шығыс тағамынан бөлініп алынған 20 түрлі ашытқының антибиотикке төзімділігі бағаланды [187]. Нәтижелер ампициллинге (10 және 25 мкг/мл), хлорамфениколға (30 мкг/мл), эритромицинге (5 және 15 мкг/мл), пенициллинге (10 мкг/мл), стрептомицинге (25 мкг/мл) және тетрациклинге (30 мкг/мл) төзімділікті көрсетті. Плазмидтермен, патогендермен немесе ішек

микробиоталарының басқа микроорганизмдерімен кодталған гендердің ықтимал берілуі микробтық тепе-теңдіктің бұзылуына әкелуі мүмкін болғандықтан, мобильді элементтерді тасымалдайтын штаммдарды пробиотиктер ретінде қолдануға болмайды. *S. cerevisiae*, *S. boulardii*, *K. lactis*, *D. hansenii*, *C. parapsilosis* және *Issatchenkia orientalis*-те плазмидтердің бар-жоғы тексерілді және ықтимал трансмиссивті плазмид-кодталған гендердің берілу мүмкіндігі толығымен жоққа шығарылды. Осы авторлар бағалаған штамдардың ешқайсысында плазмидтік ДНҚ-ны оқшаулау мүмкін болмады.

Сүт микробиологиясында әдетте сүт қышқылды бактериялар басым болғанымен, ашытқылар аз мөлшерде спирт бар қышқыл, тұтқыр, аздап газдалған масса болып табылатын айран сияқты өнімдерді ашыту процесінде маңызды рөл атқаратыны белгілі болды. Айран дәндері-айран өндіруге арналған ұйытқы-микрорганизмдердің, оның ішінде ашытқылардың (*Kluyveromyces*, *Saccharomyces* және *Torula*) күрделі микробтық симбиотикалық қоспасы болып табылады [188].

Бұл микроорганизмдердің өзара әрекеттесуі синергетикалық және антагонистік болуы мүмкін, бірақ көбінесе олар бір-біріне өзара пайда әкеледі [189]. Ашытқылар салыстырмалы түрде қарапайым ортада өсуі мүмкін, ал сүт қышқылды бактериялар таңдағыш болып келеді және олар ашытқылардан алатын аминқышқылдары мен дәрумендер сияқты көп қоректік заттарды қажет етеді. Өз кезегінде ашытқылар сүт қышқылды бактериялардың метаболизм өнімдерін белсенді түрде бейімдейді. Сүтқышқылды бактерияларының әртүрлі түрлері мен ашытқылардың өзара әрекеттесуі Сахараның оңтүстігіндегі Африканың байырғы халықтарының ашытылған сүт өнімдерінің мысалында зерттелді. *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* -ті сүттегі *K. marxianus*-пен бірлесіп дақылдау кезінде, сүт қышқылды бактериялардың өміршеңдігі күшейтілгені байқалды. Ал, ашытқылар *L. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* лактозаны ыдыратуының нәтижесінде пайда болатын галактозаны ассимиляциялау мүмкіндігінен пайда көрді. Сонымен бірге, *Lactobacillus paracasei subsp.* сүтте, әсіресе *K. marxianus*, *S. cerevisiae* немесе *Naumovozyma dairenensis* ашытқысымен бірге дақылдау кезінде тіршілік әрекетінің едәуір жоғары көрсеткіштерін көрсетті [190].

Сүтқышқылды бактерияларын, сондай – ақ ұлттық ашыған сүт сусындарын-қымыз бен шұбатты дайындауға арналған ұйытқылардың құрамына кіретін лактоза ашытқыларын зерттеу кезінде олардың *Candida* туысы ашытқыларына қатысты антагонизмі тұрғысынан бұл организмдердің монокультуралары осындай қабілетімен ерекшеленбейтіні көрсетілді, ал осы өнімдерді дайындауға арналған кейбір полиштамдық ұйытқылар олардың тіршілік әрекетін белсенді түрде тежеді [191]. Алынған мәліметтер, қажетті қасиетке, атап айтқанда саңырауқұлаққа қарсы антагонистік белсенділікке қол жеткізу үшін ашытқы микроорганизмдері арасында оң өзара әрекеттесу қажет екенін көрсетті.

2 ЗЕРТТЕУ ОБЪЕКТІЛЕРІ МЕН ӘДІСТЕРІ

2.1 Зерттеу объектісі

Микроорганизмдер культуралары микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығының («МЖВ ҒӨО» ЖШС, Алматы, Қазақстан) тағамдық микробиология зертханасының коллекциясынан алынды. Бұл микроорганизмдер Республикалық микроорганизмдер коллекциясында (РМК, Нұр-Сұлтан, Қазақстан Республикасы) қол жетімді және келесі сүт қышқылды бактериялар штамдарын қамтиды: *Lactobacillus delbrueckii* 5 (RKM 0850), *Lactobacillus gallinarum* 1 (RKM 0851), *Lacticaseibacillus rhamnos* 4.m-2a-1, *Lacticaseibacillus paracasei* 33-4 (RKM 0852), *L. paracasei* 4 m-2B (RKM ОК) 0906) және *Lentilactobacillus parabuchneri* 3 (RKM 0854), сондай-ақ *Lentilactobacillus diolivorans* 1 m-bb, *Propionibacterium freudenreichii* PL (AKM 0734) секілді пропион қышқылы бактериялары, *Acetobacter fabarum* 4 M және *A. syzygii* 2 (RKM 0855), сонымен қатар, *Kluuveromyces marxianus* 19 (RKM 0853) және *K. marxianus* 4MA (RKM 0905) ашытқылары. Олар мақсатты бактерияларға және саңырауқұлақтарға қарсы антагонистік белсенділігін зерттеу үшін әр түрлі ассоциацияларға біріктірілген.

Бұл микроорганизмдердің барлығы, ірімшіктен алынатын пропионибактерияларды қоспағанда, бие мен түйе сүтінен дайындалған қазақтың ұлттық сүт сусындарынан бөлініп алынған. *L. rhamnosus*, *L. paracasei* 4 m-2b, *L. fermentum*, *L. diolivorans*, *A. fabarum*, *A. syzygii* және *Kluuveromyces marxianus* 4MA қымыздан, ал *L. delbrueckii*, *L. gallinarum*, *L. paracasei* 33-4, *L. parabuchneri* және *Kluuveromyces marxianus* 19 шұбаттан бөлініп алынған изоляттар болып табылады. Жұмыста *L. paracasei* 2 m-3 және *L. paracasei* 4 m-6b секілді қымыз туындылары да қолданылды («МЖВ ҒӨО» ЖШС, Алматы, Қазақстан).

Lactiplantibacillus plantarum L244 және *Schleiferilactobacillus harbinensis* L172 (Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne, Plouzané, Франция) тұратын, сүт өнімдерінің бұзылуын тудыратын сүт қышқылды бактериялардың бір ассоциациясы, саңырауқұлақтарға қарсы белсенділікті көрсетеді, сонымен қатар, *in vitro* жағдайында *Candida albicans*-қа қарсы белсенділікті зерттеуде және Caco-2 жасуша культурасының моделінде қолданылды.

Микробиология және вирусология ғылыми - өндірістік орталығының (Қазақстан, Алматы қ.) коллекциясынан келесі микроорганизмдер антагонистік белсенді ассоциацияларды, оның ішінде бактерияларды іріктеу үшін нысана ретінде пайдаланылды: *Escherichia coli* T1 (IMV2), *Mycobacterium citreum* TM1 (IMV5), *Mycobacterium rubrum* TM2 (IMV15), *Sarcina flava* 5 (IMV6), *S. flava* U (IMV7), *Salmonella enterica subsp enterica serovar Dublin* U (IMV4), 1 -ші Ценковский вакцинасы (әлсіретілген *Bacillus anthracis*) (IMV3), ашытқылар, яғни *C. albicans* 514 (IMV16) (қынап изоляты), *C. albicans* K1 (IMV17) және *C. albicans* K13 (IMV18) (ішек изоляттары) және зерттеу

саңырауқұлақтары, атап айтқанда *Aspergillus niger* P (IMV19)), *Fusarium sporotrichioides* ET (IMV20) және *Penicillium sp.* 4 (IMV21).

2.2 Қоректік орталар

Сүт қышқылының бактериялары MRS ортасында (де Мана, Рогоза және Шарпа), сарысуда (Амиран, Қазақстан), майлылығы 1,5% сүтте (Lactel, Қазақстан) немесе 35°C температурада 24 сағат бойы ультрапастеризацияланған органикалық майсыз сүтте (Lactel, Франция) өсірілді.

Пропионобактериялар жүгері глюкоза ортасында (жүгері сығындысы 20 г / л; глюкоза 10 г / л; (NH₄)₂SO₄ 5 г / л; K₂HPO₄ 2 г / л; CoCl₂ × 6H₂O 0,01 г / л.; агар-агар, 20 г / л) және майлылығы 1,5% сүтте (Lactel, Қазақстан) 35°C температурада 24 сағ. өсірілді.

Сірке қышқылы бактериялары MRS немесе GYC ортасында (глюкоза, 50 г / л; ашытқы экстракты 10 г / л; CaCO₃, 5 г/л) автоклавтаудан кейін 1 мл сірке қышқылы мен 5 мл этанол қосылды) 30°C температурада 48 сағат бойы өсірілді.

Саңырауқұлақтарға қарсы белсенділікті анықтау үшін GYC ортасының нұсқалары (1 мл/л немесе 5 мл/л сүт қышқылын қосқанда), MYP (D-маннитол, 25 г / л; пептон, 3 г / л; ашытқы сығындысы) , 5 г / л) және US (№4655758 АҚШ патентіне сәйкес: глюкоза, 20 г / л; (NH₄)₂HPO₄, 5 г / л; экстракты, 5 г / л; Na₂HPO₄, 2,7 г / л; лимон қышқылы моногидраты, 1, 15 г/л) қолданылды. *Acetobacter spp.* бар бастапқы ашытқыны немесе сусын үшін, олар сүт немесе сарысудағы басқа микроорганизмдермен бірге өсірілді.

Антагонистік белсенділікті анықтау үшін қолданылатын мақсатты микроорганизмдерді өсіруде, бактериялар үшін 30°C температурада 24 сағат бойы инкубацияланған қоректік агар (TM Media, Үндістан), ашытқылар үшін 30°C температурада 48 сағат бойы инкубацияланған декстрозасы бар Сабуро агары қолданылды, сонымен қатар зең саңырауқұлақтарына (сахароза, 30 г / л; NaNO₃, 2 г / л; K₂HPO₄, 1 г / л; MgSO₄, 0,5 г / л; KCl, 0,5 г / л) 72-120 сағат ішінде 30°C температурада инкубацияланған Чапек 7 ортасы пайдаланылды. Зең саңырауқұлақтары, 100 мл Чапек 7 ортасы мен мақта жүні қосылған, көлемі 250 мл колбада, 30°C температурада 120 сағат бойы өсірілді. Бұл жағдайда мақтаның бір бөлігінде мицелий дамып, споралар қоректік сұйықтықпен бірге жиналды. Егу үшін зең саңырауқұлақтарының споралық суспензиясы алынды, ал зең саңырауқұлақтарының мицелийі мақтада қалды. Антагонизмді тексеру үшін Чапек 7 агар (агар-агар, 20 г / л) қолданылды.

2.3 Зерттеу әдістері

2.3.1 Сүтқышқылды микроорганизмдерді бөліп алу

Сүтқышқылды микроорганизмдерін бөліп алу үшін, Қазақстан Республикасының Алматы облысының әр түрлі өндірушілерінен, үй сүтінің 24 үлгісі, оның ішінде әр түрлі жануарлардың сүті (сиыр, бие, түйе, ешкі), кілегей, қаймақ, қатық, айран, қымыз және шұбат іріктеліп алынды. Өнімдердің

үлгілері алдын-ала *Candida* туысының шартты патогенді ашытқыларына қатысты антагонистік белсенділіктің болуына тексерілді. Жануарлардың әртүрлі түрлерінің сүтінен және шартты патогенді ашытқыларға қарсы антагонизм көрсеткен микроорганизмдер бөлініп алынды.

Candida туысының ашытқыларына қатысты антагонистік белсенділік көрсеткен өнімдер сиыр сүті (май 1,5%) мен сарысуда күнделікті (1, 3 және 5 күннен кейін) қайта егіліп тұрды. Шартты патогенді саңырауқұлаққа қарсы белсенділік жүйелі түрде анықталып отырды. Өсіру температурасы 37°C-ты құрады. Барлығы 5 егу сериясы орындалды.

Содан кейін *Candida*-ға қарсы антагонизмді сақтайтын сиыр сүті мен сүт сарысуы және қымыз бірлестіктерінен микроорганизмдер бөлініп алынды. Культуралар 48 сағат бойы 30°C және 37°C температурада инкубацияланды. Микроорганизмдер әртүрлі морфологиялық колонияларынан бөлініп алынды, тазалығын бақылау үшін қосымша штрих әдісімен егілді. Жеке колониялардағы микроорганизмдер MRS қатты агарға қайта егілді, Грам бойынша бояу, каталаза белсенділігіне және сүтті қышқылдандыру қабілетіне байланысты анықталды. Сүтті қышқылдандыратын барлық грам-оң каталаза-теріс микроорганизмдер сүтқышқылды бактериялар болып саналды, биотехнологиялық құнды белгілері бойынша әрі қарай іріктеліп анықталды. Культуралар тоңазытқышта MRS ортасында және ашытылған сүтте 5-8 °C температурада сақталды.

2.3.2 Лактозаыдыратушы ашытқылар мен сірке қышқылды бактерияларын бөліп алу және зерттеу

Лактозаыдыратушы ашытқылар Ридер ортасында бөлініп алынды, 48 сағат бойы 30°C инкубацияланды. Тоңазытқышта қисық Ридер агарында сақталды.

Сірке қышқылы бактерияларын GYC немесе MRS ортасында дақылданды, 48 сағат бойы 30°C, инкубацияланды. Содан кейін қосымша, колонияларының мөлшері үлкею үшін бөлме температурасында 3-7 тәулік ұсталып, қиғаш агарға егілді, Грам бойынша боялуы анықталды. Грам теріс колонияларды GYC немесе MRS сұйық орталарына егіп, әрі қарай идентификациялады.

Таңдалған бактериялардың Грам-тиістілігі Греггерсон тестінің көмегімен анықталды [192]. Каталазаға белсенділігін сутегі асқын тотығымен реакция арқылы анықталды. Клетка морфологиясы LEICADC 300F сандық камерасы бар LEICADMLS тринокулярлық микроскопында зерттелді. Сүттің ұюы 37°C –та 72 сағатқа дейін сүтте инкубациялау арқылы зерттелді. Қышқылдың жинақталуы лакмус қағазымен анықталды. Іріктеуге рН-мәнін анықтау Consort 931P (Бельгия) мультипараметрлі анализаторда жүргізілді.

2.3.3 Сарысу негізінде сүт қышқылды сусындар мен ашытқыларды дайындау

Аралас культуралардың тең мөлшерінен тұратын қоспаның бір мл-ін (мл

(КТБ/мл) 1×10^7 колония түзетін бірлік) 10 мл сүтке қосып, сүтте ашытқы алу үшін 48 сағат ішінде 35°C температурада инкубациялады. Содан кейін 0,5 мл-і 9,5 мл сарысуға қосылып, 20 г/л тағамдық қант енгізіліп, содан кейін 24 сағат ішінде 35°C температурада инкубацияланды. Сенсорлық индекстер, рН, Тернер бойынша титрленетін қышқылдық және антагонистік белсенділік 7 және 24 сағаттан кейін анықталды.

2.3.4 Антагонистік белсенділікті анықтау

Антагонистік белсенділік әртүрлі әдістермен анықталды: ұяшықтардан диффуздалу, екі қабатты агар және перпендикулярлы штрихтар әдісі.

Ұяшықтардың диффузиялау әдісімен антагонизмді анықтау үшін, алдын ала ерітілген және 45°C дейін суытылған қоректік ортаға, әр 100 мл ортаға 1 мл мөлшерінде 1×10^5 КТБ/мл бар тест-культураның суспензиясы енгізілді. Зең саңырауқұлақтарын егу үшін, саңырауқұлақты қоректік ортасында мақтада дақылдауда алынған споралар суспензиясы пайдаланылды. Бұл жағдайда мицелий мақтада қалды, ал сұйықтықта тек споралар болды. Қоректік орта 25 мл-ден Петри табақшасына құйылды. Тест-дақылдары егілген орта қатқаннан кейін диаметрі 10 мм ұяшықтар дайындалды. Әр ұяшыққа 0,3 мл өнім салынды. Бактериялар 37°C -та 24 сағ, *Mycobacterium* мен ашытқылар 48 сағ, зең саңырауқұлақтары 30°C -та температурада 72-120 сағ инкубацияланды. Инкубация соңында зерттелетін микроорганизмдердің өсуін тежейтін аймақтардың диаметрі өлшенді.

Екі қабатты агар әдісімен шартты патогенді ашытқыларға қатысты антагонизмді анықтау үшін сүт қышқылды бактерияларды MRS ортасында ұзындығы 2 см жолақ түрінде 48 сағ өсірді. Содан кейін, жартылай сұық Сабуро (10 г/л агар-агар) қоректік ортасының 100 мл-не ашыған қамырдың 1×10^5 КТБ/мл енгізіліп, MRS ортасының жұқа қабат (5 мл) болып, құйылды. Оларды 37°C температурасында 48 сағ бойы инкубациялады. Нәтижелер сүт қышқылды бактериялардың жолақтары айналасында өсу болмаған аймақтардың болуымен бағаланды.

Антагонизмді MRS ортасында перпендикуляр жолақ әдісімен зерттеуде, Петри табақшасының ортасына немесе шетіне жолақ түрінде сүт қышқылды бактериялар егіліп, тәжірибе жағдайларына байланысты 48 сағаттан бастап инкубацияланды. Содан кейін концентрациясы 1×10^8 КТБ/мл болатын шартты патогенді ашытқылардың тест штамдарының суспензиялары дайындалды. Егу тұзақтың айнасымен жасалды, жолақтан 1 мм қашықтықта табақшаның шетіне дейін жүргізілді. Термостатқа 37°C температурада орналастырылды және 48 сағат бойы инкубацияланды. Өсіру аяқталғаннан кейін сүтқышқылды бактериялардың жолағынан ашытқы культураларының өсуі басталған жерге дейінгі арақашықтық өлшенді. Зерттеу натрий ацетаты жоқ MRS ортасында қайталанды.

Антагонистік белсенділік бойынша нәтижелерді неғұрлым көрнекі түрге келтіру үшін, әрбір нысаналы микроорганизм үшін тежеу аймақтары диаметрлерінің төменгі және жоғарғы мәндері анықталып, антагонистік

белсенділік нәтижелері 1 кестеде сипатталғандай көрсетілді. *Candida* туысының шартты патогенді ашытқыларына және негізгі бактериялық тест-дақылдарға қатысты алынған өнімдердің саңырауқұлақтарға қарсы белсенділігін арттыру үшін өсіру ортасын өсімдік текті биологиялық белсенді заттармен байыту жүргізілді. Қосымша өсімдік қоспалары ретінде маш, тары, таңқурай, кардамон, розмарин, куркума, даршын және зімбір пайдаланылды. Бұл өнімдер, бұрынырақта ашытылған сүт ашытқыларының антагонистік белсенділігінің жоғарылауына ықпал көрсетті. [193].

Кесте 1 - Сарысудағы сусындардың антагонистік белсенділік деңгейі

Антагонизм деңгейі	Жоғары	Жақсы	Орташа	Әлсіз	Болмауы
Белгісі	+++	++	+	±	-
Сипаттамасы	Топтың барлық сынақ культураларының өсуін айтарлықтай тежейді.	Топтың барлық культураларын, орташа басу аймақтарын басады; немесе көптеген культураларды айтарлықтай басады.	Топтың барлық культураларын немесе барлығын дерлік басады, басу аймақтары аз	5 сынақ культураларының 2-3 немесе 2-нің біреуін басады немесе басу аймақтары анық емес және көлемдері үлкен емес.	Топтың бірде-бір сынақ культураларын тежемейді

Біріншілік іріктеу үшін сарысуды стерилизациялаудан бұрын 1% мөлшерінде қоспалар енгізілді. Бұдан әрі енгізілетін қоспалардың мөлшері органолептикалық көрсеткіштерге сәйкес түзетілді. Кейбір сусындарға бие, түйе немесе сиыр (майлылығы 1%) сүтіне 20-30% мөлшерінде қосылды. Алынған сусындардың органолептикалық көрсеткіштері мен антагонистік белсенділігі бағаланды.

Барлық тәжірибелер үш қайталамада жүргізілді. Зерттеу нәтижелерін статистикалық өңдеу, егер басқаша көрсетілмесе, Стьюдент критерийін қолдана отырып, стандартты әдістеме бойынша жүргізілді [194]. Мәнділік деңгейі $p < 0,05$.

2.3.5 Сүт қышқылды бактериялардың молекулярлы-генетикалық идентификациясы

Сүтқышқылды бактериялардың биотехнологиялық құнды изоляттарын молекулярлық-генетикалық идентификациялау, Сэнгер бойынша 16S рРНҚ секвенирлеу арқылы жүргізілді. Лактозаны ыдырататын ашытқыларды, ашытқы және ашытқы тәрізді шартты-патогенді саңырауқұлақтарды анықтау үшін рибосомадағы ITS аймағы секвенирлеу жүргізілді.

Геномдық ДНҚ өндірушінің хаттамасына (Invitrogen, Carlsbad, АҚШ) сәйкес, PureLink Genomic DNA Kit ДНҚ-ны оқшаулауға арналған жинақтың

көмегімен бактериялардың тәуліктік культураларынан бөлінді. Үлгілердегі ДНҚ концентрациясы Qubit® 2.0 с флуорометрінде Qubit™ dsDNA HS Assay Kit (Life Technologies, Орегон, АҚШ) жиынтығының көмегімен анықталды. Генетикалық маркер ретінде 16S РНҚ генінің аймағы қолданылды. 16S РНҚ аймағын амплификациялау үшін, 25 мкл реакция қоспасы: 12,5 µl Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix (New England Biolabs Ins., USA); әмбебап праймерлер жұбы: 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') және 806R (5'-GGACTACCAGGGTATCTAAT-3') концентрациясы 10 µM-де 1,2 мкл-дан; ДНҚ матрицасы және 25 µl су мөлшерінде дайындалды [195]. Амплификация режимі келесі циклдардан тұрды: 95°C 5 минут, содан кейін 95°C – 30 секунд, 55°C – 40 секунд, 72°C – 50 сек - 30 айналым; элонгация - 72°C 10 минут аралығында.

ПТР өнімін тазарту CleanSweep™ PCR Purification (Life Technologies, Carlsbad, CA) реагенті көмегімен жүргізілді. Ашытқылардың тәуліктік культураларынан геномдық ДНҚ norgen Biotek Corp (Канада) компаниясының "Plant/Fungi DNA Isolation Kit" өсімдіктерінен/саңырауқұлақтарынан ДНҚ-ны бөліп алу жиынтығымен, өндірушінің хаттамасына сәйкес жүзеге асырылды. Үлгілердегі ДНҚ концентрациясы dsDNA HS шкаласы бойынша Qubit флуориметрімен (Invitrogen, АҚШ) анықталды.

Жұмыста ашытқылардың ITS аймағының әмбебап праймерлер пайдаланылды: ITS1 (5,-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3,) және ITS2 (5,-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3,). Амплификациялауға арналған реакциялық қоспасы (мкл) төмендегілерден тұрды: Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix - 12,5; Forward праймер (10 мкМ) - 1,25; Reverse праймер (10 мкМ) - 1,25; ДНҚ - 1,5; су - 8,5. ПТР қоспасының жалпы көлемі - 25 мкл/м құрады. Әмбебап праймерлері бар ПТР Eppendorf амплификаторында амплификация режимінде өткізілді: 94°C -30 сек; 55 °C -1 мин; 72°C -40 сек – 30 сек; 72°C - 10 мин. ПТР өнімдері боялып, 1,2% агарозды гельге енгізілді. Нәтижелер УФ-трансллюминаторда бейнеленді.

Ген фрагменттерін секвенирлеу Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) жиынтығын пайдалану арқылы өндіруші хаттамасына сәйкес жүргізілді. Кейіннен, фрагменттер 3500 DNA Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Hitachi, Hitachi, Токио Жапония) автоматты генетикалық анализаторында бөлінді. Секвенирлеу нәтижелері SeqA (Applied Biosystems) бағдарламасында өңделді. 16S рРНҚ гендерінің гомологиялық нуклеотидтік тізбегін және саңырауқұлақтар ДНҚ аймағының ITS нуклеотидтік тізбегін АҚШ Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығының Gene Bank халықаралық деректер базасында BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) бағдарламасы арқылы іздеу жүзеге асырылды [196]. Филогенетикалық анализ MEGA 6 бағдарламасын пайдалану арқылы жасалды. Нуклеотидтер тізбегін туралау ClustalW алгоритмін қолдана отырып жүргізілді. Филогенетикалық тармақтарды салу үшін Neighbor-Joining «көршілерді біріктіру» әдісі қолданылды [197].

16S метагеномды секвенирлеу, «Микробиология және вирусология институты» ЖШС-нің молекулярлы-генетикалық зертханасында толық геномды жаңа буын MiSeq (Illumina, АҚШ) секвенаторында жүргізілді. ДНҚ жинағы 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation guide (part no. 15044223 rev. A) [11] нұсқауларына сәйкес дайындалды. 16S рРНҚ генінің v3 және V4 өзгермелі аймақтары Illumina адаптерлері қосылған эмбебап бактериалды праймерлермен амплификацияланды және forward праймер үшін нуклеотид жұптарының келесі тізбегін қамтыды. Деректерді талдау және өңдеу MiSeq Reporter Software (Illumina) бағдарламалық жасақтамасының көмегімен жүзеге асырылды. Таксономиялық жіктеу Lawrence Berkeley (АҚШ) ұлттық зертханасының Greengenes database халықаралық деректер базасынан геннің 16S рРНҚ аймақтарының деректерімен салыстыру арқылы жүргізілді.

Брей-Кертис қашықтығын дисперсиялық талдау Адонистің көп өлшемді пермутациялық тестін қолдану арқылы жүргізілді. *C. albicans*-қа қарсы күшті, орташа, әлсіз белсенділікпен байланысты бактериалды қауымдастықтың құрылымы *Candida*-ға қарсы белсенді және белсенді емес үлгілер топтарындағы әртүрлі таксондардың ұсынылуындағы айырмашылықтарды бағалау үшін сызықтық дискриминантты талдауды (LDA) қолдана отырып, жоғары өлшемді биомаркерлерді анықтау алгоритмін қолдана отырып талданды.

2.3.6 Ұшқыр метаболиттерді талдау үшін қатты фазалы микроэкстракция және масс - спектрометриялық газды хроматография

Ұшқыр метаболиттерді талдау қатты фазалы микроэкстракция кейіннен масс-спектрометриялық газ хроматография әдісімен жүргізілді. 10 мл ферменттелген сүт бұрандалы қақпағы бар 20 мл колбаға (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) орналастырылды. Үлгіні дайындағаннан кейін, тепе-теңдік күйіне жету үшін колбаны 30⁰С температурада 30 минут ұсталды. Еркін кеңістіктегі ұшқыр заттар 85 мм карбоксин/полидиметилсилоксанмен (Supelco, Bellefont, PA, АҚШ) қапталған қатты фазалы микроэкстракция үшін талшыққа сіңірілді. Газхроматографиялық талдау MSD 7890 масс-спектрометрімен (Agilent, Санта-Клара, АҚШ) бірге 5977a газ хроматографының көмегімен жүргізілді. DB-WAXetr бағаны қолданылды (30 м × 0,25 мм, пленка қалыңдығы 0,25 мкм, J&W Scientific Inc., Фолсом, Калифорния, АҚШ), ал жылжымалы фаза (тасымалдаушы газ) гелий (>99,995%, Орынбор-Техгаз, Ресей) болды, жылдамдығы 1,0 мл/мин. Инъекция көлемі 10:1 бөлу қатынасында 0,5 мкл, ал еріткіштің кідірісі 1,5 мин болды. Қыздыру температурасы бастапқы 40⁰С температурадан 200⁰С-қа дейін 10⁰С /мин жылдамдықпен көтерілді. Инжектор мен электр жеткізу желісі сызығының температурасы сәйкесінше 250⁰С және 280⁰С болды. Масс-спектрлерді анықтау m/z 34-550 аму сканерлеу массаларының диапазонымен 70 эВ кезінде жүзеге асырылды. Құрылымын басқару және нәтижелерді өңдеу үшін Agilent MSD ChemStation (1701ea

нұсқасы) қолданылды. Деректерді өңдеуге - ұстап қалу уақытын, пиктердің аудандарын анықтау, сондай-ақ пиктерді олардың масс-спектрлері бойынша анықтау кірді. Масс-спектрлер Wiley 7th edition және NIST'02 жиынтықтарының көмегімен анықталды. Культуралардың супернатанттарын талдау үш қайталамада жүргізілді. Тәжірибелер үш түрлі үлгіде жүргізілді: талшықты дайындау, бос құтыны дайындау және бактериясыз культуралық ортаны дайындау. Сүттегі сірке қышқылының құрамын анықтау үшін калибрлеу 2 мг/мл-ден 50 мг/мл-ге дейінгі аралықта жасалды. Корреляция коэффициенті 0,93 құрады. Бақылау үлгісі ретінде сүт пайдаланылды.

2.3.7 Ашытылған сүттің Сасо-2 клетка культураларында *Candida albicans*-қа қарсы белсенділігі

Сыналатын ассоциациялар және ашытылған сүт өнімдерін дайындау

Ферменттелген сүт өндіру үшін қолданылатын әртүрлі сыналған ассоциациялар, МҮ800 (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* u *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, Choozit, Danisco, Sassenage, Франция) йогурт ашытқылары, *L. plantarum* L244 және *L. harbinensis* L172-пен толықтырылған МҮ800 ашытқылары [198], 10^7 КТБ/мл сүт мөлшерін, *L. rhamnosus* 4m-2a-1 және *A. fabarum* 4М тұратын, қымыздан бөлініп, антогонизм және биотехнологиялық көрсеткіштері бойынша іріктеліп алынған С1 консорциумы 10^7 КТБ/мл сүт мөлшерін, және *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3, *L. paracasei* 33-4, *A. fabarum* 4М және *K. marxianus* 19 тұратын С2 консорциумы, 10^7 КТБ/мл құрады.

Бұл тәжірибелерде нысан ретінде *Candida albicans* К13 вегетативті клеткалары қолданылды. 48 сағат ішінде 28⁰С температурада ашытқы пептонды глюкоза сорпасында (YPG) дақылдағаннан кейін, *C. albicans* клеткалары Malassez клеткаларын санау камерасының көмегімен есептелді, центрифугалау арқылы жиналды (1000 айн/мин, 5 мин), фосфат буферлі тұзды ерітіндісінде жуылды және стандартты коректік ортада 2×10^6 КТБ/мл дейін қайта ресуспензияланды

Өндірушінің нұсқауларына сәйкес тікелей қолданылған МҮ800 ашытқысын қоспағанда, ферменттелген сүтті дайындау үшін бактериялық және ашытқы штамдары алдымен бактериялар мен ашытқыларға арналған MRS және YPG сорпаларында екі рет өсірілді. Содан кейін культураның концентрациясы натрий хлориді бар пептонды сорпаның көмегімен мақсатты концентрацияға жеткізілді (Merck, Дармштадт, Германия). Центрифугалаудан кейін клеткалар стерильді майсыздандырылған сүтте ресуспензияланды және 9 мл стерильді майсыздандырылған сүтке егілді, содан кейін 24 сағат ішінде 37⁰С температурада инкубацияланды. Ферменттеуден кейін үлгілер 1 мл центрифугалық түтіктерге құйылып, бір аликвоттан 85⁰С температурада құрғақ жылыту блогын қолдана отырып, 15 минут ішінде термиялық өңдеуден өтті. Содан кейін ферменттелген сүт – 80⁰С температурада әрі қарай қолданылғанға дейін сақталды.

2.3.8 Сасо-2 клеткаларын өсіру жағдайлары

Адамның колоректальды аденокарциномасынан алынған Сасо-2 клеткалары 37 °С- та 5% (кө./кө.) СО₂ қатысында және құрамында пенициллин (100 ХБ/мл), стрептомицин (100 мкг/мл), 10% (кө./кө.) термоинактивирленген фетальды бұзау сарысуы, 4,5 г / л глюкоза, 25 мМ НЕРЕС, 2% (кө./кө.), 2 мМ L-глутамин және 1% (кө./кө.) алмастырылатын амин қышқылдары (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния) қосылған DMEM ортасында өсірілді және апта сайын қайта егіліп отырды. Клеткалар 37⁰С температурада 10 минут ішінде, EDTA (Sigma-Aldrich) 1 мл ерітіндісінде 0,25% трипсині бар моно қабаттарды инкубациялау арқылы колбалардан алынды. 30-дан 50-ге дейінгі ұяшықтар 80 × 10³ клетка / см² тығыздығымен егілді (Sigma – Aldrich). Мұндай жағдайларда клеткалар 3 күннен кейін бірігуге жетті және 21 күннен кейін толығымен дифференцияланды.

2.3.9 Сасо-2 клетка культураларында *Candida albicans*-ке қарсы белсенділікті бағалау

Сасо-2 клетка культурасындағы *Candida albicans*-қа қарсы белсенділікті бағалау үшін алдымен Сасо-2 клетка культурасына қосылатын *C. albicans* концентрациясын анықтау үшін алдын-ала тәжірибе жүргізілді. Ол үшін Сасо-2 клеткалары культуралық ортада 21 күнге дейін өсірілгеннен кейін (сараланған клеткалар) клеткаларды өсіру ортасынан 50 мкл DMEM және 50 мкл *C. albicans* суспензиясын алынып тасталды. Бұл 10³, 10⁴, 10⁵ және 10⁶ КТБ/мл соңғы концентрацияға қол жеткізу үшін жасалды, содан кейін 24 сағат инкубациялап, төменде сипатталғандай клеткалардың өміршеңдігі өлшенді.

Содан кейін *in vitro* жағдайында антагонистік белсенділікті бағалағаннан кейін таңдалған ең перспективті консорциумдарды қоса, әр түрлі микробтық консорциумдарды қолдана отырып ашытылған сүттің профилактикалық әсерін зерттеу үшін әр түрлі зерттеулер жүргізілді. Жоғарыда келтірілгендей, Сасо-2 клеткаларын өсіргеннен кейін, клеткаларды өсіруге арналған ортаны, 90 мкл DMEM және 10 мкл ашытылған сүтпен алмастырып, 24 сағ 37⁰С-та инкубацияланды. және клеткалардың өміршеңдігі өлшенді. Инкубациядан кейін клетка өсіру ортасы алынып, клеткалар 100 мкл PBS-пен екі рет жуылды. Содан кейін 10⁶ КТБ/мл соңғы концентрациясына жету үшін *C. albicans* вегетативті клеткаларының 50 мкл суспензиясы және 50 мкл DMEM қосылды, ал Сасо-2 клеткаларының өміршеңдігі 37⁰С температурада 6 және 24 сағат инкубациялаудан кейін төмендегі формула бойынша бағаланды.

Сасо-2 моноқабаттарының өміршеңдігі өндірушінің нұсқауларына сәйкес Сасо-2 клеткаларынан CytoTox 96 Non-Radioactive cytotoxic Assay (Promega, Madison, WI) көмегімен клетка өсіру ортасына лактатдегидрогеназаның (ЛДГ) ағуын өлшеу арқылы бағаланды. Бұл колориметриялық талдау, ЛДГ-ны сандық өлшеуге, клетка лизисінде босап шығатын тұрақты цитозол ферментін өлшеуге мүмкіндік береді. Өндірушінің нұсқауларына сәйкес әр планшетке үш бақылау енгізілді, яғни клеткасыз бақылау (культуралық ортаның фонын анықтау үшін бақылау ретінде қызмет ететін клеткасыз ұяшықтар), теріс

бақылау (өңделмеген клеткалар, яғни ашытылған сүт және *C. albicans* қосылмаған, бірақ сол еріткіш пен инкубация жағдайларында алынған клеткалар) және оң бақылау (өңделмеген клеткалар, ЛДГ-ны өлшеуге дейін 45 мин бұрын клетканы лизистеуге арналған ерітіндімен өңделген). ЛДГ өлшеу үшін әр ұяшықтан клетка өсіру арналған 50 мкл ортасы жиналып, 30 минут аралығында субстрат ерітіндісімен инкубацияланды. 490 нм-де жұтылу спектрофотометр көмегімен өлшенді. Әрқайсысы алты қайталамадан тұратын сегіз тәжірибе жасалды. Әрбір талдау үшін ЛДГ қатынасы келесі формула бойынша есептелді: Қатынасы $LDH = 100 \times \text{ЛДГ-нің (OD490) тәжірибеде босатылуы} / \text{теріс бақылаудағы ЛДГ-нің (OD490) орташа босатылуы}$.

Статистикалық талдау Statgraphics Plus для Windows бағдарламасын қолдану арқылы жасалды (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton версиясы 1.4). Деректердің қалыпты таралуын және дисперсиялардың біркелкілігін тексергеннен кейін, орташа мәндер арасындағы айтарлықтай айырмашылықтарды анықтау үшін бір жақты дисперсиялық талдау қолданылды. Содан кейін әр түрлі өсіру жағдайларында алынған орташа мәндерді салыстыру үшін сенімді маңызды айырмашылық критерийі Тьюки (HSD, $\alpha = 0,05$) қолданылды.

2.4 Асқазан-ішек стрессінің негізгі шектеу факторлары әсер еткендегі, консорциум микроорганизмдерінің өміршеңдігін анықтау

Ортаның рН мәні төмен болған кезде консорциум микроорганизмдерінің өмір сүруін анықтау үшін консорциум микроорганизмдерінің тәуліктік культурасын (сүт сарысуында) 3% бидай кебегін қоса отырып, 10 мл сарысуы бар пробиркаларға 10% мөлшерінде қосылды. Бақылау ретінде кебек қосылмаған сарысу қолданылды. Культура тәулік бойы 37⁰С температурада инкубацияланды. Құрамында 1×10^8 КТБ/мл кебек бар және кебексіз сарысудағы консорциумдар 0,2 мл мөлшерінде рН 3,0 және рН 2,0 физиологиялық ерітіндісі бар 20 мл колбаға енгізілді. Колбаларға енгізілген сұйықтықта кебек бөлшектері болатындай, кебек үлгілері алдын-ала біркелкі араластырылды. Колбалар шейкерлерге (120 мин) 37⁰С температурада орналастырылды. Консорциум микроорганизмдерінің өмір сүру деңгейі 1 және 2 сағаттан кейін MRS ортасына бірқатар сұйылтудан егу және КТБ/мл мөлшерін есептеу арқылы анықталды.

Өттің әр түрлі концентрациясы (0,5%, 1%, 5%, 10%, 15%) әсер еткен кездегі микроорганизмдер консорциумының өміршеңдігі, 10 мл MRS ортасы бар пробиркаларда 37⁰С температурада 1 күн өсіргеннен кейін КТБ/мл санымен анықталды. Егілген дақылдардың (MRS ортасындағы консорциум) қоректік орта көлеміне қатынасы 1:10 құрады.

2.5 Ассоциацияның жергілікті микрофлораға әсерін зерттеу

Антагонистік белсенді микроорганизмдер мен ассоциациялардың индигендік микрофлораға әсерін зерттеу үшін сау адамдардың нәжісінен, сондай-ақ пробиотикалық препараттардан Linex (Ресей) - *Lactobacillus*

acidophilus, *Enterococcus faecium*; Максилин (Қазақстан) - *L. acidophilus*; арықтау үшін биопрепарат (Қытай) - *L. acidophilus*; Бифидумбактерин (Ресей) - *Bifidobacterium bifidum*; Колибактерин (Ресей) - *Escherichia coli*. ішек микрофлорасының өкілдері бөлініп алынды. Сонымен қатар, «Энтерол» (*Saccharomyces boulardii*) препаратынан пробиотикалық ашытқы алынды.

Нәжістен сүт қышқылды бактерияларын алу MRS ортасында жүргізілді. Микроорганизмдер әр түрлі морфологиялық типтегі колониялардан іріктеліп алынды. Индигендік микрофлораға әсері ұяшықтар арқылы зерттелді.

Ашыған сүт ұйытқысын алу үшін, оның құрамдастарын 1 мл-ін майлылығы 1% сүтке (Lactel, Алматы) тең мөлшерде майлылық қосып, 35-37⁰С температурада 24 сағат өсірілді. Сусындар алу үшін, 5-10% мөлшерінде сүт ашытқысын, 1% бидай кебегі мен 20 г/л қант сүт сарысуына немесе сарысуға қосып, 7-ден 24 сағатқа дейін 35-37⁰С температурада өсірді. Содан кейін 5-10 балдық шкала бойынша дәмдік көрсеткіштерін тексеріп, антагонистік белсенділігі анықталды.

Бөлек колония 5 мл сүті бар пробиркаға орналастырылды. Бастапқы іріктеу 48 сағат ішінде сиыр сүтін қышқылдандыру және іру мүмкіндігі бойынша жүргізілді. Ортадағы қышқылдың жинақталуы индикаторлық лакмус қағазымен анықталды.

Ассоциацияларды құрастыру үшін, сүт қышқылды бактериялар, сірке қышқылды бактериялар, «ҒӨО МжВ» ЖШС-нің тағамдық микробиология зертханасының коллекциясындағы *Propionibacterium freudenreichii* PL пропион қышқылды бактериялар және лактоза ыдыратқыш ашытқылар сияқты микроорганизмдердің әртүрлі үйлесімдері пайдаланылды.

3 НӘТИЖЕЛЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ

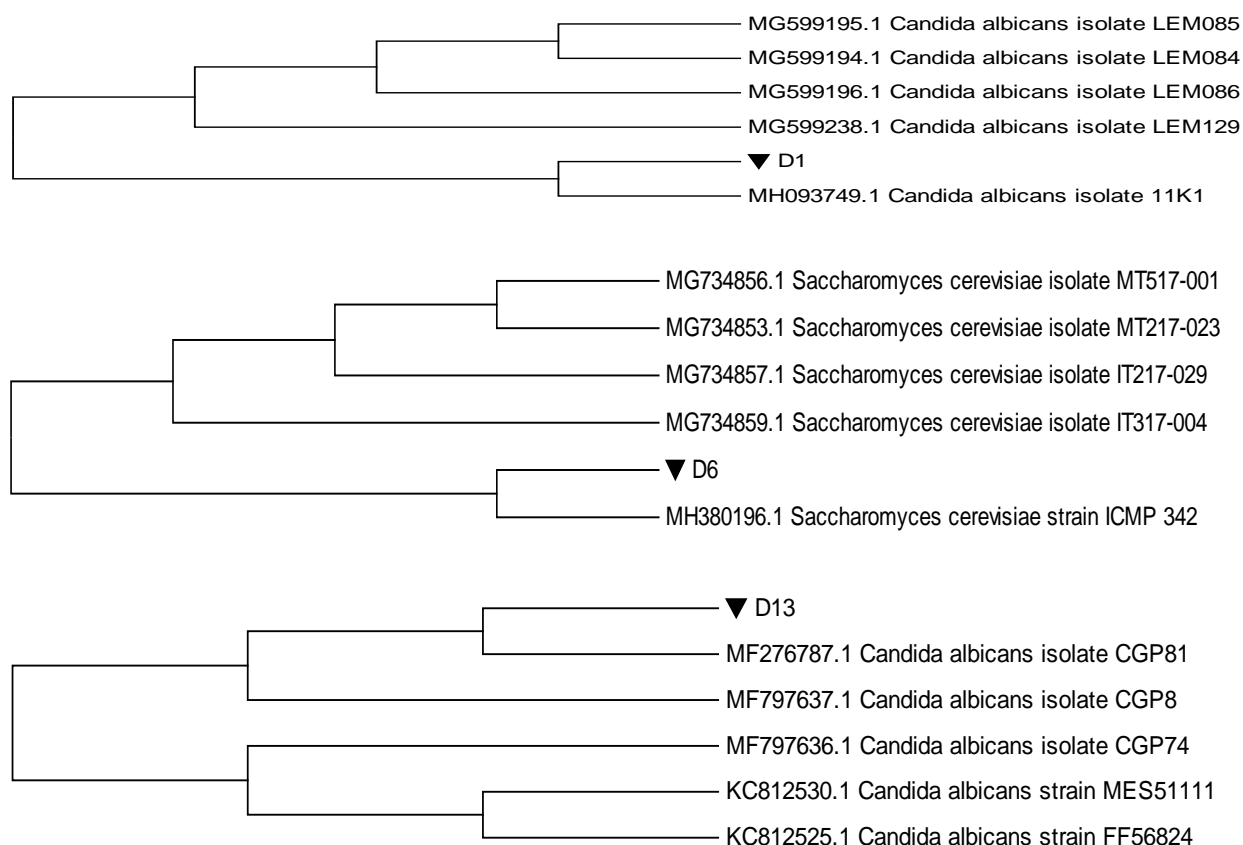
3.1 *Candida* туысының ашытқыларына қарсы антагонистік белсенділігі бар, ашытылған сүт өнімдерінен сүт қышқылды бактериялар мен ашытқылардың жаңа штамдарын бөліп алу

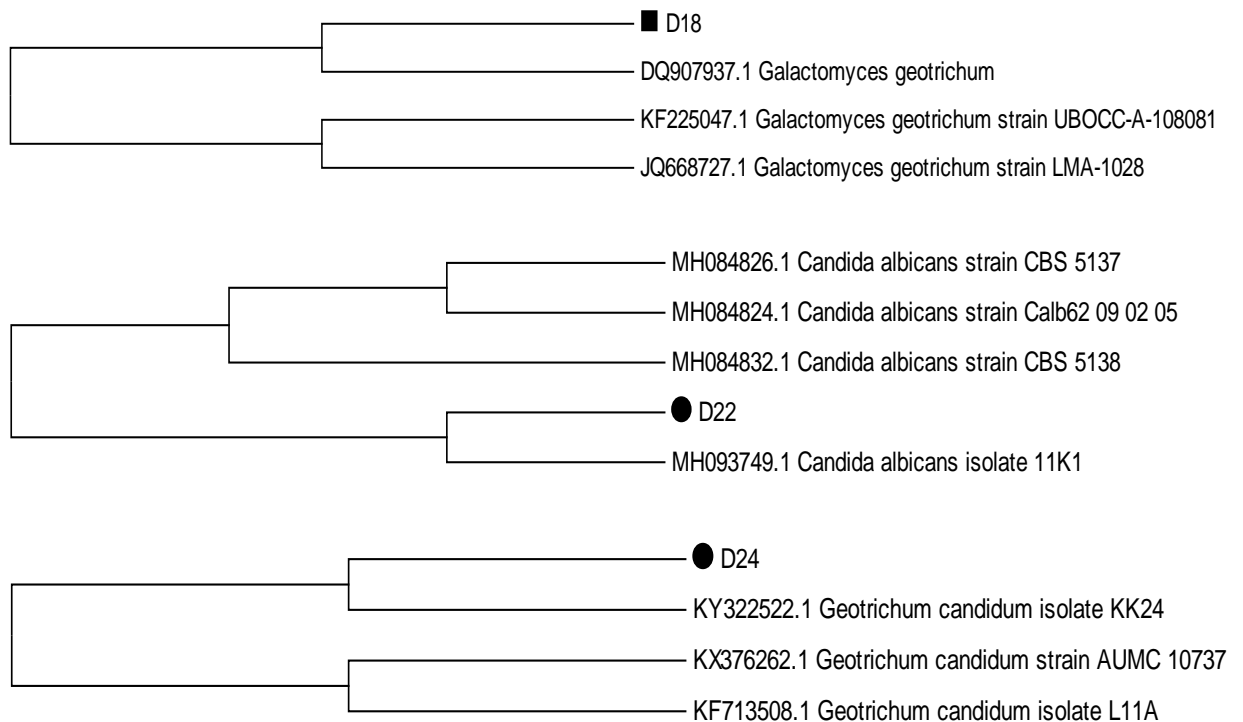
Сүтқышқылды бактериялардың көбінесе бактерияға қарсы белсенділігі жоғары екендігі белгілі. Фунгицидтік белсенділік сүтқышқылды бактерияларына тән емес физиологиялық белгісі болып табылады [199].

Сондықтан, бактерияға да және саңырауқұлаққа қарсы да белсенділігі бар сүтқышқылды микроорганизмдерді бөліп алу үшін, *Candida* туысының шартты патогенді ашытқыларының өсуін тежейтін сүт өнімдерін алдын-ала таңдау қажет болды.

Саңырауқұлақ инфекцияларының, әсіресе кандидомикоздардың шамадан тыс таралуын болдырмау үшін әрі қарай қолдануға болатын және ішектен *Candida* туысының шартты патогенді ашытқыларының жойылуына ықпал ететін сусындарды дайындау үшін, ішек ашытқыларының тест-культураларын іріктеу қажет болды. Ішек дисбиозы ауыратын науқастардың нәжісінен бөлініп алынған ашытқы және ашытқы тәрізді саңырауқұлақтарының D1, D6, D13, D18, D22 және D24 изоляттарын молекулалық-генетикалық сәйкестендіру жүргізілді.

Нуклеотидтер тізбегі және изоляттардың филогенетикалық тармақтары 1-суретте көрсетілген. Ұсынылған мәліметтерден көрініп тұрғандай, алты ішек изоляттарының үшеуі (D1, D13 және D22) *Candida albicans* түріне жатады.

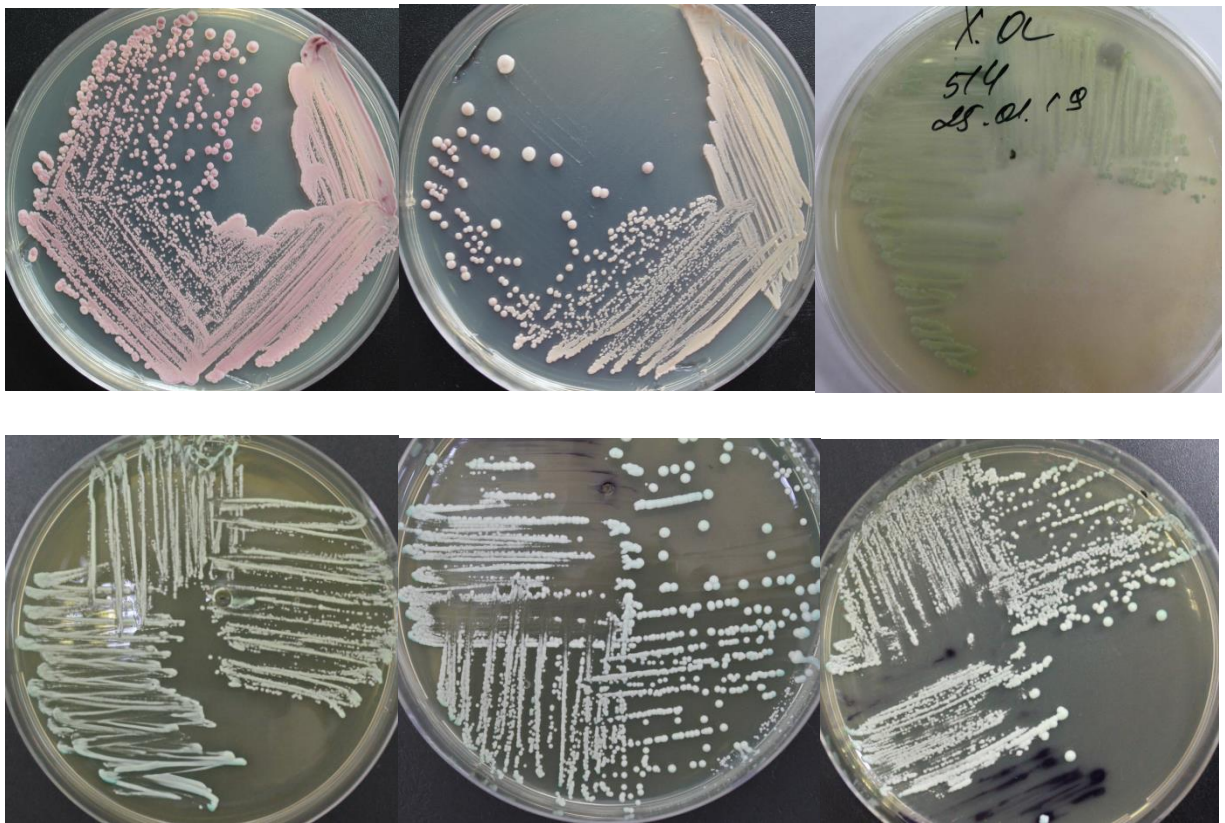




Сурет 1 - Ашытқы және ашытқы тәрізді саңырауқұлақтардың ішек изоляттарының филогенетикалық тармақтары

Басқа изоляттар нан пісіру және спирт өнеркәсібінде пайдаланылатын және піскен жемістер мен жидектер бетінің табиғи микрофлорасын құрайтын *Saccharomyces cerevisiae* ашытқыларымен, сондай-ақ табиғатта кең таралған *Geotrichum candidum* (анаморфты) сүт саңырауқұлақтарымен және оның *Galactomyces geotrichum* телеоморфымен, соның ішінде адам микробиомасымен ұсынылған [200-202]. Бұл микроорганизмдер иммунитеті әлсіреген пациенттерде сирек оппортунистік инфекциялардың қоздырғышы болуы мүмкін [203-205]. Алайда, адамның оппортунистік инфекцияларының негізгі қоздырғыштары *Candida* туысының ашытқылары болып табылады. Сондықтан, әрі қарай зерттеу үшін D1, D13 және D22 изоляттары таңдалды және *Candida albicans* 1К, *C. albicans* 13К және *C. albicans* 22к ішек изоляттары ретінде белгіленді.

Ашытқылардың тест-культураларының түрлік тиістілігі хромогендік агарда өсіру арқылы дәлелденді (Сурет 2).



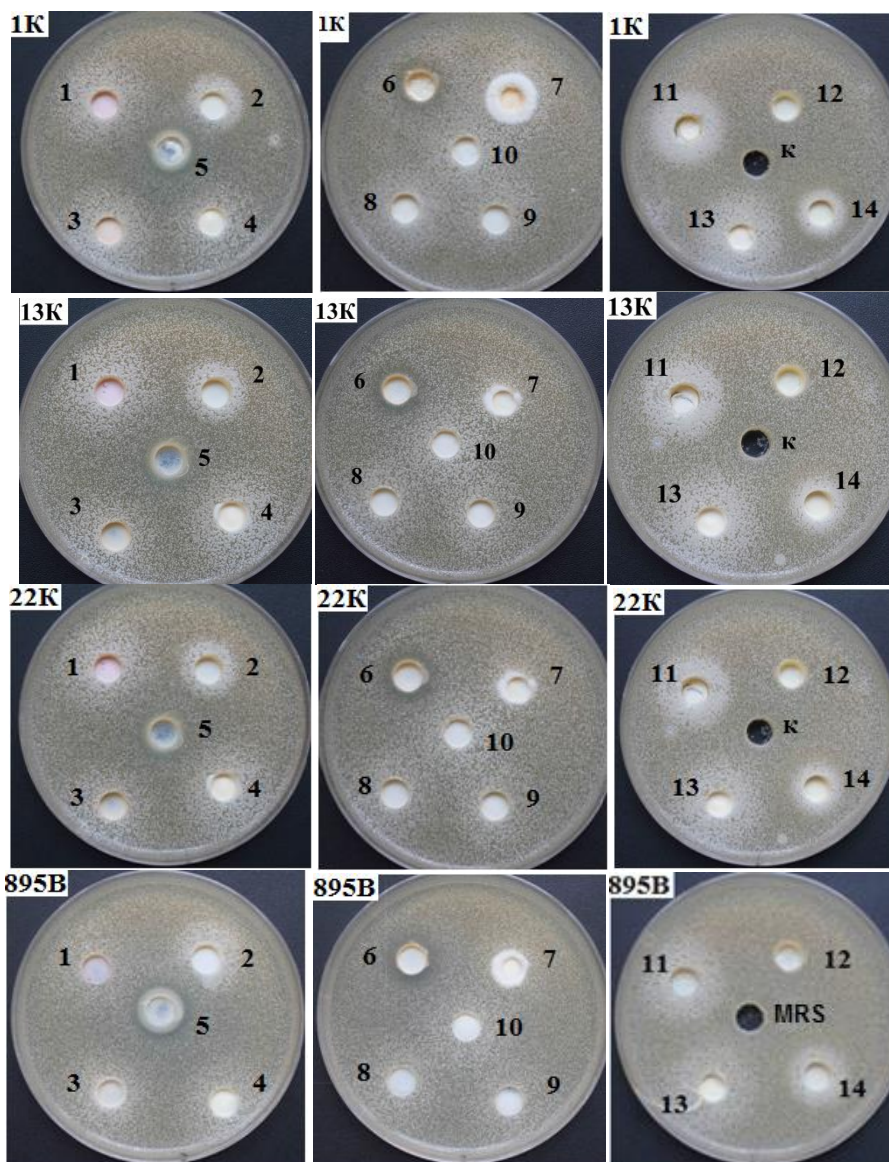
Сурет 2 - Хромогендік агарда *Candida* туысының тест-дақылдарының өсуі

Жоғарыда солдан оңға қарай: қызғылт колониялар - *C. krusei* 25B, қоңыр сарғыш - *C. glabrata* 589B, көгілдір көк *C. albicans* 514B; төменгі солдан оңға қарай: көгілдір көк колониялар - *C. albicans* 1k, *C. albicans* 13K және *C. albicans* 22k.

Сүтқышқылды бактериялар мен лактозаыдыратушы ашытқыларды бөліп алу әр түрлі өндірушілердің сүтқышқылды өнімдерінен, үй сүтінен, кілегейден, қаймақтан, қатықтан, айраннан, қымыз бен шұбаттан жүргізілді. Іріктеудің бірінші кезеңінде *C. albicans* шартты-патогенді ашытқыларға қатысты антагонизмді көрсететін өнімдер анықталды. Антагонистік белсенділіктің болуы ұңғымалардың айналасында ашытқы өсуін тежеу аймақтарының болуымен бағаланды. Тест-культуралар ретінде бұрын коллекцияда бар микроорганизмдердің арасында сүт қышқылды бактериялардың антагонистік әсеріне ең төзімді ретінде алдын-ала таңдалған *C. albicans* ашытқы штамдары болды, олар: *C. albicans* 13K ішек изоляты, *C. albicans* 514B қынап изоляты және флуконазолға төзімді *C. krusei* 25 ашытқысы 25 және *C. glabrata* 589 изоляттары.

Жалпы алғанда, сүт және сүтқышқылды өнімдер *C. albicans* шартты патогенді ашытқыларының өсуін тежемейтіні, тіпті ұяшықтардың айналасында олардың өсуін ынталандыратыны көрсетілген. Мәселен, олардың сүт өнімдерінің 15 үлгісінде, антагонизм ұяшыққа қымыз және шұбат енгізілген кезде ғана анықталды.

Сүт өнімдерін ішек кандидозымен ауыратын науқастарға қолдануға болмайтыны белгілі. Өсуді ынталандыру аймақтары ашытылмаған сүт пен кілегейді ұяшықтарға құйған кезде де байқалғандықтан, бұл сүттегі лактозаның көп болуымен байланысты болуы мүмкін (Сурет 3).

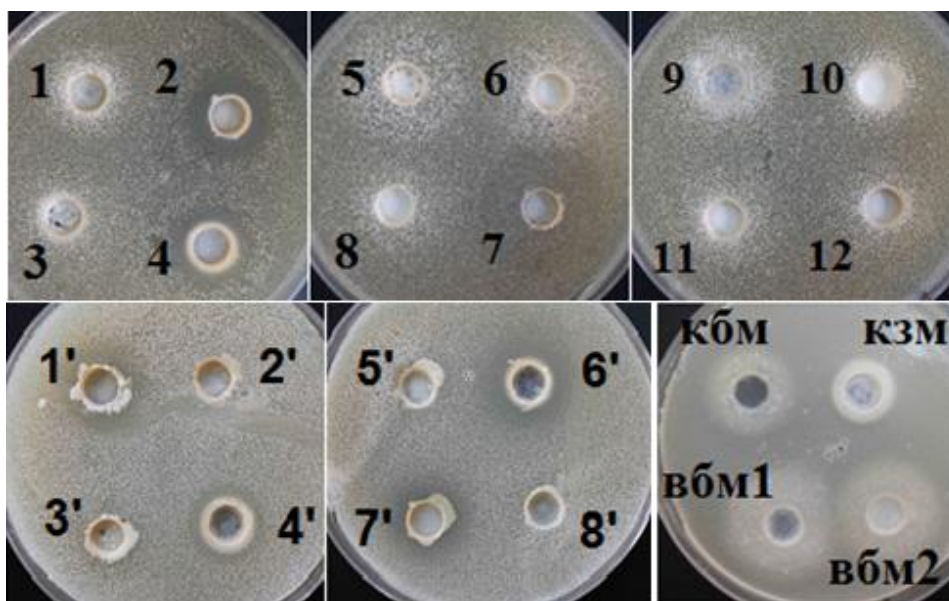


Ескерту: 1-биойогурт; 2 - майлылығы 3,2% табиғи сүт; 3- майлылығы 4,0% майлы айран, 4-фабрикалық қаймақ А- майлылығы 20%: құбыр суы (1:1); 5 – үй қымызы А; 6 – үй шұбаты А; 7-фабрикалық қаймақ В, майлы. 15%: құбыры суы (1:1); 8 – айран А; 9 – айран в; 10 – балалар йогурты; 11 – қайнатылған үй сүті,; 12 – үй қаймағы: құбыр суы (1:1); 13 – қаймақ С, майлылығы 15%: құбыр суы (1:1); 14-қоюлатылған сүт, майлылығы 7,1%; к- құбыр суы; MRS - MRS сұйық ортасы.

Сурет 3 - Сүт өнімдерінің әртүрлі *Candida albicans* штамдарының өсуіне әсері

Алайда, бұл құбылыстың себептерін егжей-тегжейлі зерттеу, зерттеудің міндетіне кірмеді. Біздің мақсатымыз *Candida* туысының шартты-патогенді ашытқыларының өсуін тежейтін микроорганизмдерді іріктеу және *Candida* өсуін тежейтін сүт сарысуында функционалдық сүт қышқылды сусындарды жасау болды.

Біздің зерттеуімізде ашытқылардың өсуін бие мен түйе сүтінен жасалған қазақтың ұлттық сусындары ғана тежеген, талдау үшін өнімдердің екінші тобын іріктеу кезінде әртүрлі өндірушілердің, негізінен қымыз бен шұбат үлгілері таңдап алынды және олардың *Candida*-ға қарсы белсенділігі анықталынды. Қымыздың шартты-патогенді ашытқыларға әсері дәлелденді (Сурет 4) бұл зерттеуде шұбат антагонистік белсенділік көрсетпеді.



Ескерту: 1 – сиыр сүті; 2 – қымыз I; 3 – шұбат I; 4 – қымыз II; 5 – шұбат II; 6 – зауыт шұбаты; 7 – зауыт қымызы I; 8 – қатық; 9 – қаймақ; 10 – кілегей; 11 – зауыт айраны I; 12 – зауыт айраны II; 1' – қымыз (қымызхана I); 2' – шұбат (қымызхана I); 3' – қымыз III; 4' – қымыз (қымызхана II); 5' – шұбат III; 6' – қымыз IV; 7' – қымыз V; 8' – зауыт қымызы II; кбм – бие сүті; кзм – ешкі сүті; вбм1 – түйе сүті1; вбм2 – түйе сүті 2

Сурет 4 - Сүт және сүтқышқылды өнімдерінің *Candida albicans* 13К ішек ашытқы изолятының өсуіне әсері

Зерттеу нәтижелері бойынша, үй қымызына қарағанда зауыттық қымыздың сынамаларының белсенділігі төмен болды. Сиыр, ешкі, бие, түйе сүті, кілегей, қаймақ, қатық және айран ұяшықтардың айналасындағы *C. albicans*-тің өсуіне ықпал етті. Демек, қымыздың және шұбаттың жеке үлгілерінің тежегіш белсенділігі сүттің осы түрлерінің химиялық құрамымен емес, ашуды жүзеге асыратын микроорганизмдердің физиологиялық ерекшеліктерімен байланысты. Қазақтың ұлттық сусындарының, сондай -ақ сиыр сүтінің, кілегейдің, қаймақтың, қатық пен айран сынамаларын *C. albicans* ашытқысының өсуіне әсерін зерттей отырып, біз сүт және ашытылған сүт

өнімдерімен сөзсіз патогенді ашытқыларды стимуляциялау әсерін растадық, бұл олардың газон ретінде тұтас өсіруге қарағанда, өнім қолданылған ұңғымалардың айналасында белсенді өсуімен көрінді. Сондықтан, келесі зерттеу жұмыстарын жүргізу үшін қымыздың № 2, 4, 1', 6' және 7' үлгілерінің консорциумдары іріктеліп алынды. Әрі қарай, қымыз үлгілерінің *C. albicans*-қа қатысты белсенділік көрсеткен №№ 2, 4, 1', 6' және 7' консорциумдары, сарысу негізіндегі функционалдық сусындар жасау мақсатында, сүт және сүт сарысуына бірнеше рет егілді. Шартты патогенді ашытқыларға қатысты антагонистік белсенділігі әр қайта егуден кейін бақыланып отырды.

Кесте 2 келтірілген мәліметтерден көрініп тұрғандай, *Candida* туысы ашытқысына қатысты антагонистік белсенділік сиыр сүті мен сарысуында жүйелі түрде қайта егу кезінде сақталады, дегенмен кейбір консорциумдарда төмендейді. Іріктелген ассоциациялардың шартты-патогенді ашытқыны тежеу дәрежесі тест штаммына байланысты болды. Жалпы, *C. albicans* 13К ішек изолятына қатысты саңырауқұлаққа қарсы белсенділік бие сүтімен сиыр сүті ассоциациясының бірінші отырғызуында жоғары болған. Ол химиялық құрамының микроорганизмдердің өсуіне және олардың антагонистік белсенді заттар өндірісіне әсерін сақтау салдарынан болуы мүмкін. Қайта егу кезінде ассоциациялардың антагонизмі төмендеді.

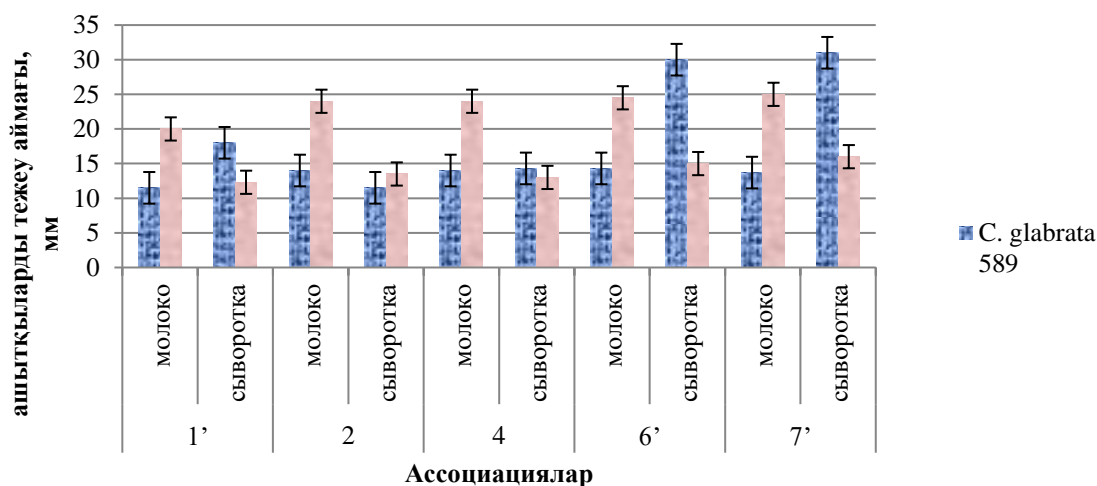
Кесте 2 - *Candida albicans* (мм) шартты-патогенді ашытқыларына қатысты сүт қышқылды микроорганизмдер консорциумдарының антагонистік белсенділігі

Консорциумдар	Қоректік орта	Өсудің тежелу аймақтары, мм					
		<i>C. albicans</i> 13К			<i>C. albicans</i> 514В		
		1 егу	3 егу	5 егу	1 егу	3 егу	5 егу
1'	сүт	17,3±0,3	22,0±0,2	16,0±1,0	10,5±0,5	17,0±0,5	15,0±0,5
	сүт сарысуы	25,0±0,2	19,3±0,3	14,3±0,7	10,5±0,3	10,5±0,4	19,0±0,5
2	сүт	24,2±0,4	15,0±1,0	17,0±0,4	26,0±1,0	15,3±0,7	18,2±0,3
	сүт сарысуы	24,3±0,7	17,1±0,4	10,5±0,5	14,0±1,0	15,0±0,5	16,3±0,3
4	сүт	25,0±0,1	13,0±0,1	18,0±0,1	18,0±0,1	13,0±1,0	14,0±0,1
	сүт сарысуы	22,0±0,1	18,0±0,1	17,0±0,1	10,5±0,1	19,2±0,1	20,0±0,1
6'	сүт	20,5±0,5	21,0±0,1	13,3±0,	13,0±0,1	18,0±0,3	16,3±0,7
	сүт сарысуы	18,0±0,2	16,5±0,3	16,0±0,7	16,3±0,3	18,0±1,0	15,0±0,5
7'	сүт	21,0±0,2	21,0±0,1	14,1±0,2	15,0±0,5	17,1±0,3	17,0±0,3
	сүт сарысуы	19,0±0,5	21,0±0,4	20,3±0,3	22,0±1,0	17,3±0,7	16,0±0,3

Ассоциациялардың жаңа ортаға бейімделуі *C. albicans* 514В қынап изолятына қатысты антагонизмнің жоғарылауына ықпал етті. №1 және №4 ассоциацияларда саңырауқұлаққа қарсы белсенділігі жоғары дәрежеде көтерілген. Бұл айырмашылықтар белсенді заттар мен ашытқының әртүрлі штамдарын тежеу механизмдерінің айырмашылығын көрсетуі мүмкін.

Сүт пен сарысуда бірқатар қайта егулерден кейін ассоциациялар флуконазолға төзімді *C. krusei* 25 және *C. glabrata* 589 ашытқыларының қынап штамдарына қатысты антагонистік белсенділігі тексерілді, олардың антагонистері бұрын коллекциялық сүтқышқылды бактериялардың арасында анықталмаған (Сурет 5).

Сиыр сүтінде өсіру кезінде барлық ассоциациялар *C. krusei* 25-ке қатысты жоғары белсенділік көрсететіні анықталды. *C. glabrata* 589-ға қатысты ең жоғары антагонистік белсенділікті сарысуда өсіру кезінде 1', 6' және 7' ассоциациялары көрсетті.



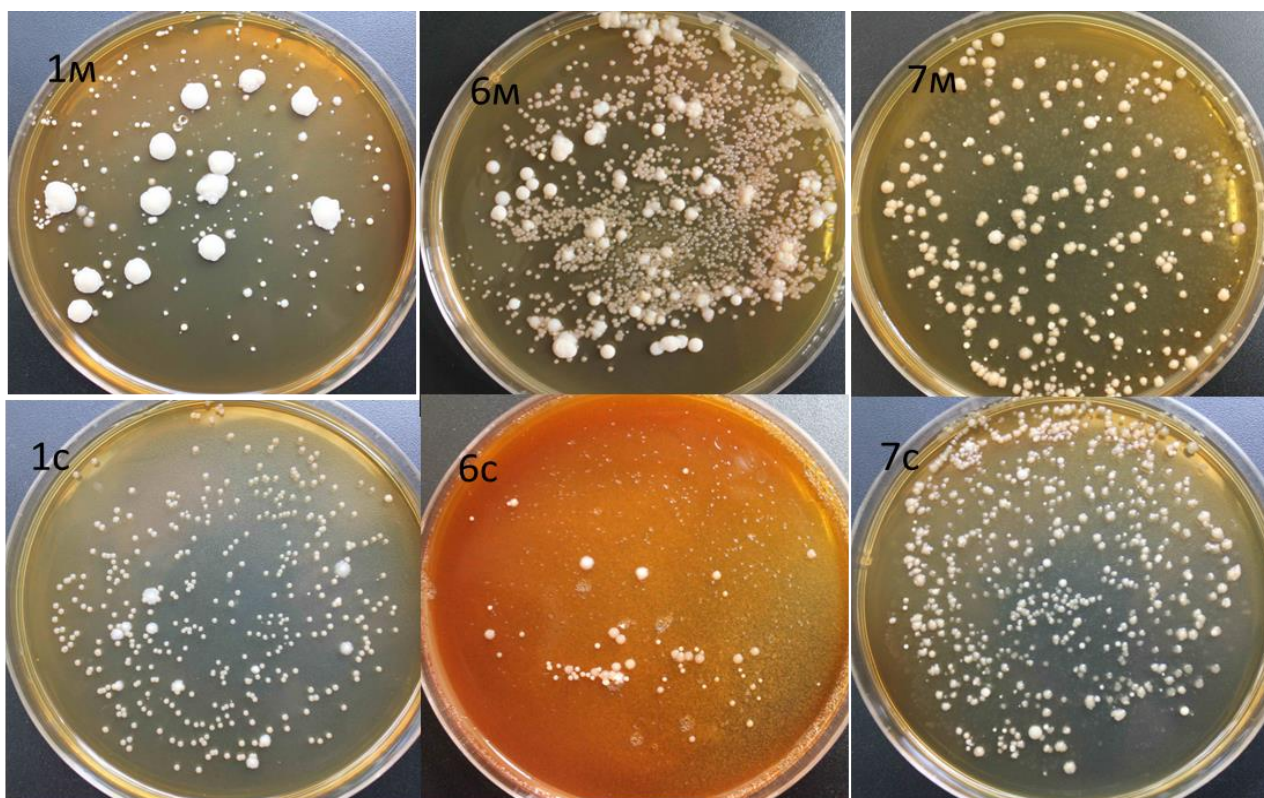
Ескерту: мәнділік деңгейі $P \leq 0,05$

Сурет 5 - Қымыз, сүт және сүт сарысуындағы сүтқышқылды микроорганизмдер ассоциацияларының *C. krusei* 25 және *C. glabrata* 589 ашытқыларына қатысты антагонистік белсенділігі

Осылайша, адам ағзасынан *Candida* ашытқысының шығарылуына ықпал ететін саңырауқұлақтарға қарсы әсері бар функционалды ашытылған сүт өнімдерін дайындау үшін сүт қышқылды бактериялар-антагонисттерін анықтау үшін жергілікті өндірілген сүт өнімдерінің микрофлорасы зерттелді. Өнімдерді антагонистік белсенділікке алдын ала сынау *Candida* антагонисттерін бөліп алу үшін қымыздың ең белсенді сынамаларын анықтауға мүмкіндік берді. Үй жағдайында дайындалған қымыз үлгілерінің саңырауқұлаққа қарсы белсенділігі жоғары болды. Анықталған антагонистік белсенділікке ие қымыз микроорганизмдерінің ассоциациясын сүтте де, сүт сарысуында да егу кезінде сақталды.

Ассоциацияларды екі ортада өсіру флуконазолға төзімді *C. krusei* 25 және *C. glabrata* 589 ашытқы штамдарына қарсы белсенді 1', 6' және 7' ассоциацияларын алуға мүмкіндік берді. Кейінгі зерттеулерде 1', 6' және 7' ассоциацияларынан сүт қышқылды бактериялар мен ашытқылар бөлініп

алынды. Сүт пен сарысудағы жеке ассоциациялардың микроорганизмдер колонияларының морфологиясы 6-суретте көрсетілген.



Сурет 6 - Сиыр сүтіндегі (үстінде) және сүт сарысуындағы (төменде) қымыз ассоциацияларындағы микроорганизмдер колонияларының морфологиясы

Барлығы 41 бактерия изоляттары және 34 ашытқы изоляттары бөлініп алынды; бактериялардың 28 изоляттары Грам-оң және каталаза-теріс, сүтті қышқылдандырады, яғни олар сүтқышқылды микроорганизмдер болып табылады. Олардың арасында таяқшалар басым, олар әдетте бір-екі және әртүрлі ұзындықтағы тізбектерде орналасады. Барлығы 4 кокка микроорганизмдері бөлініп алынды.

Каталаза-оң Грам-теріс бактериялар сірке қышқылды бактерияларға жатқызылды, олардың қымыз құрамында болуы бірқатар авторлармен көрсетілген [206].

Ашытқы микроорганизмдерінің арасында колониялардың бірнеше морфологиялық түрлері анықталды (Сурет 7). Барлық ашытқылар аскоспораларды түзеді. Изоляттардың едәуір бөлігінің колонияларының агарлы ортаға енуіне қарамастан, мицелий мен псевдомицелийдің пайда болуы анықталған жоқ.



Сурет 7 - Қымыздың ашытқы микроорганизмдері

Қымыз ассоциацияларынан бөлініп алынған сүтқышқылды бактериялар, сиыр сүтін ашыту жылдамдығы бойынша іріктелді. Жалпы, сиыр сүті мен сарысудағы қымыз ассоциацияларынан сиыр сүтін жақсы ашытумен сипатталатын сүтқышқылды бактерияларының 12 изоляты іріктелді. Әр түрлі жануарлардың сүтінен жалпы 28 сүтқышқылды бактериялар бөлініп алынды: бие сүтінен-11, ешкі сүтінен - 9, түйе сүтінен – 8.

Адам ағзасынан *Candida* ашытқысын жоюға ықпал ететін мақсатты саңырауқұлаққа қарсы әсері бар функционалды ашытылған сүт өнімдерін әзірлеуде сүт қышқылды бактериялар-антагонисттерін анықтау үшін жергілікті өндірілген сүт өнімдерінің микрофлорасы зерттелді. Өнімдерді антагонисттік белсенділікке алдын ала сынау *Candida* антагонисттерін бөліп алу үшін қымыздың ең белсенді сынамаларын анықтауға мүмкіндік берді. Үй жағдайында дайындалған қымыз үлгілерінің саңырауқұлаққа қарсы белсенділігі жоғары болды. Анықталған антагонисттік белсенділікке ие қымыз микроорганизмдерінің ассоциациясын сүтте де, сүт сарысуында да егу кезінде сақталды. Ассоциацияларды екі ортада өсіру флуконазолға төзімді *C. krusei* 25 және *C. glabrata* 589 ашытқы штамдарына қарсы белсенді 1', 6' және 7' ассоциацияларын алуға мүмкіндік берді.

Әр түрлі қымыз үлгілерінен 28 сүт қышқылды бактериялар мен 34 ашытқы изоляттары бөлініп алынды. Олар ары қарай, адамның ас қорыту жолынан *Candida* туысының ашытқысын жоюға ықпал ететін консорциумдар құру және олардың негізінде сусындар жасау жөніндегі жұмыстарда қолданылады. Қазақтың ұлттық сусыны қымыздың табиғи консорциумдарының *Candida*-ға қарсы белсенділігі туралы жаңа деректер алынды.

3.1.1 Бөлініп алынған микроорганизмдердің саңырауқұлақтарға және бактерияларға қарсы белсенділігін зерттеу

Сүт қышқылды бактериялардың іріктелген изоляттарының ашытқы және бактериялық тест-культураларына қатысты антагонисттік белсенділігі анықталды. Әр түрлі жануарлардың (ешкі, бие, түйе) шикі сүтінен бөлініп алынған сүтқышқылды бактериялардың изоляттары тек екі бактериялық тест-дақылдарына қатысты антагонисттік белсенділікке ие екендігі анықталды: *Sarc. flava* және *M. Citreum* (Кесте 3). Бұл сүт қышқылды бактериялардың осы

изоляттарымен сүт қышқылының өнімдерінің түзілуімен, сондай-ақ, грам-оң микроорганизмдерге қатысты антагонистік белсенді бактериоцин синтезімен де байланысты болуы мүмкін.

Кесте 3 - Әртүрлі жануарлар түрлерінің сүтінен алынған сүтқышқылды бактериялардың бактерияларға қатысты белсенділігі

№	Изолят	Бөліп алу көзі	Өсудің тежелу аймақтары, мм	
			<i>S. flava</i>	<i>M. citreum</i>
1	2	Бие сүті	15,0±1,0	13,0±2,0
2	2-2		17,3±0,7	16,0±1,0
3	3		11,0±0	15,0±0
4	5		15,0±2,0	17,0±0
5	6		14,0±1,0	13,0±0
6	8		13,5±1,5	11,0±1,0
7	9		15,0±0	18,5±0,5
8	10		12,5±0,5	13,0±0
9	13		14,5±2,5	17,0±1,0
10	14		12,5±0,5	11,5±0,5
11	15		12,0±0	15,0±0
12	1	Ешкі сүті	16,0±1,0	12,0±1,0
13	2		16,0±0	15,5±0,5
14	3		13,0±0	13,0±1,0
15	4		14,5±0,5	16,0±0
16	5		14,0±3,0	11,5±0,5
17	6		15,0±0	15,0±1,0
18	7		13,5±0,5	11,0±0
19	8		14,0±2,0	14,0±1,0
20	9		12,5±1,5	10,7±0,3
21	1-2	Түйе сүті	16,0±1,0	11,0±0,5
22	1-3		12,0±0	14,5±2,5
23	1-4		14,5±0,5	16,0±0
24	2-1		14,5±1,5	17,0±1,0
25	2-2		15,0±0,7	12,0±1,0
26	2-3		13,0±1,0	12,5±0,5
27	2-4		13,0±1,0	10,8±0,3
28	2-5		13,0±0	17,0±0

Ескерту: $P \leq 0,05$ орташа мәндері үшін мәнділік деңгейі.

Бие, ешкі және түйе сүті изоляттарының *Sarc. flava* өсуінің тежеу аймағының орташа диаметрі, сәйкесінше (13,8±0,5), (12,1±0,7) және (12,1±0,8) мм құрады; ал *M. citreum* де (14,5±0,7), (13,1±0,7) және (13,8±0,4) мм болды.

Бөлініп алынған культуралардың бактерияға қарсы белсенділігін зерттеу нәтижелері 5 кестеде келтірілген. Қымыздан іріктеліп алынған, барлық 12 изолят бактерияға қарсы белсенділіктің неғұрлым кең спектрін көрсетті. Олар тек қана грам-оң бактериялардың ғана емес, грам-теріс бактериялардың да өсуін тежеді.

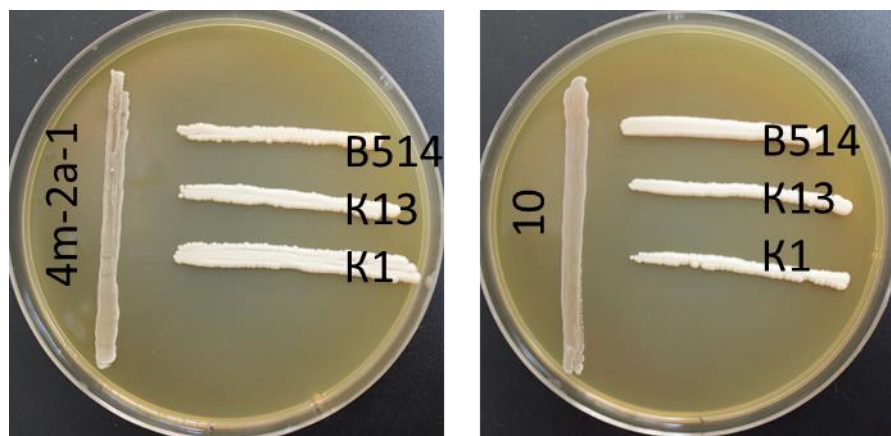
Кесте 4 - Қымыздың сүт қышқылды бактерияларының бактериалды тест-культураларына қатысты антибактериалды белсенділігі

№	Штамм	Өсудің тежелу аймағының диаметрі, мм						
		<i>S. dublin</i>	<i>E. coli</i>	<i>M. citreum</i>	<i>M. rubrum</i>	<i>Sarc. flava</i>	<i>Sarc. flava T</i>	Ценковский I.Вакцинасы
1	4М-2а-1	18,5±0,5	17,5±0,5	11,5±0,5	11,5±0,5	16,5±0,5	14,5±0,5	14,5±0,5
2	4М-2g	18,5±0,5	19,5±0,5	11,5±0,5	11,5±0,5	17,5±0,5	14,5±0,5	20,5±1,5
3	A15	18,5±0,5	16,5±0,5	17,5±0,5	15,0±0	12,5±0,5	14,5±0,5	11,5±0,5
4	10	17,5±0,5	15,5±0,5	13,0±1,0	13,0±1,0	18,5±0,5	11,5±0,5	16,5±1,5
5	1М-КК	18,5±0,5	19,0±1,0	12,0±1,0	15,0±1,0	16,5±0,5	13,5±1,5	16,5±0,5
6	2М-3	16,5±0,5	16,5±0,5	16,5±1,5	13,0±1,0	19,5±0,5	15,5±0,5	15,5±0,5
7	4М-2В-КВ	17,0±1,0	17,5±0,5	14,5±0,5	25,0±1,0	14,5±0,5	13,0±1,0	15,5±0,5
8	4М-6В	17,0±0,5	19,5±0,5	11,5±0,5	15,5±0,5	12,5±0,5	13,5±1,5	12,5±1,5
9	7М ВVK	19,0±1,0	19,5±0,5	11,5±0,5	13,0±1,0	13,0±1,0	13,5±0,5	13,0±1,0
10	7М KB	17,5±0,5	15,5±0,5	12,5±0,5	16,5±0,5	13,0±1,0	11,5±0,5	14,5±0,5
11	1М-ВВ	14,5±0,5	13,0±1,0	18,5±0,5	14,0±1,0	15,0±1,0	15,5±0,5	12,5±0,5
12	1СВК	13,0±1,0	16,5±0,5	13,0±1,0	12,5±0,5	13,5±0,5	13,5±0,5	13,0±1,0

Ескерту: $P \leq 0,05$ орташа мәндері үшін мәнділік деңгейі.

Изоляттардың саңырауқұлақтарға қарсы белсенділігін зерттеу кезінде, бұл көп жағдайда таңдалған әдіс пен тәжірибе жасалған ортаға байланысты екендігі анықталды. Сонымен, перпендикулярлы штрихтар арқылы *Candida*-ға қарсы белсенділігін зерттеу кезінде барлық дерлік бөлініп алынған микроорганизмдер шартты патогенді ашытқылардың өсуін тежеді (Сурет 8).

Бұл ретте, ашытқының өсуін тежеу аймағының ені сүтқышқылды бактерияларын өсіру ұзақтығына байланысты болды. Сүтқышқылды бактериялар штрихтарының инкубациясы неғұрлым ұзақ болса, соғұрлым кең аймақтар болды. Бұл құбылыс төмен молекулярлы (H_2O_2 және басқалары) өнімдермен, органикалық қышқылдар өнімдерінің есебінен ортаның рН қышқылдық көрсеткішінің айтарлықтай төмендеуімен байланысты болуы мүмкін. Алайда, бір қызығы, MRS ортасының құрамынан натрий ацетаты алынып тасталған кезде, антагонизм байқалмады. Алынған мәліметтер MRS ортасының құрамына кіретін натрий ацетатының сүтқышқылды бактериялардың саңырауқұлақтарға қарсы белсенділігіне әсері туралы мәліметтермен келісіледі [207, 208].



Ескерту: 4m-2a-1 және 10 – қымыз сүт қышқылы бактерияларының изоляттары; B514, K13, K1 – *C. albicans* штамдары

Сурет 8 - Натрий ацетаты бар MRS ортасында *Candida albicans* ашытқысының өсуін тежеу

Бір қызығы, *Candida*-ға қарсы белсенділіктің болуы көп жағдайда тығыз MRS ортасын қолданумен байланысты. Біздің зерттеулерімізде *Candida*-ға қарсы белсенділік сүтқышқылды бактерияларында екі қабатты агар әдісімен де анықталды, бірақ перпендикуляр штрихтарды қолданғанға қарағанда айтарлықтай айқын емес.

Сондай-ақ, ұяшықтар әдісімен зерттеу кезінде антагонизмнің жоқтығы туралы бірлі-жарым әдеби мәліметтер бар [209]. Бұл нәтижелер біздің тәжірибелерімізде де расталды. Ұяшықтар әдісімен *Candida* туысының шартты-патогенді ашытқыларға қатысты сүтқышқылды бактерияларының таза культураларының антагонистік белсенділігін тексеру кезінде, сүтқышқылды бактерияларын сүтте де, MRS ортасында да өсіру кезінде культуралық сұйықтықтармен ашытқының өсуін ынталандыру анықталды. Мұндай өсуді ынталандыру ұқсастығы бұрынырақта анықталған. Бұл құбылыс, ең алдымен, көміртегі көзі ретінде сүтқышқылды бактериялар түзетін сүтқышқылды шартты патогенді ашытқысының қолдануымен байланысты болуы мүмкін. Тұнба үсті сұйықтығы мен клетка массасының *C. albicans* өсуіне әсерін жеке зерттеу арқылы болжам тексерілді. Сүтқышқылды бактерияларының көпшілігінің супернатанттары ашытқының өсуіне ықпал етті. Алайда, кейбір жағдайларда басқа нәтижелер алынды, сондықтан бұл құбылыс біздің міндеттерімізге кірмейтін жеке зерттеуді қажет етеді.

Антагонистік белсенділіктің ең жоғары орташа көрсеткіштерін бие сүтінің изоляттары көрсеткендіктен, ашытылған бие сүтінен сүтқышқылды бактерияларының антагонистік белсенді штамдарын алудың жоғары мүмкіндігі туралы болжам жасалды. Перспективті микроорганизмдерді анықтау мақсатында сиыр сүтінде және сүт сарысуында табиғи ферменттелген бие сүтін (қымыз) бірнеше рет қайта егуден кейін іріктелген изоляттарға талдау жүргізілді.

Ұяшықтарда тәжірибе жүргізу кезінде қымыздан *Candida* туысы ашытқыларына қатысты антагонистік белсенділік танытатын жекелеген микроорганизмдер бөлініп алынды. Алайда, бірнеше рет қайта егуден кейін шартты патогенді ашытқыларға қарсы антагонизм жоғалып кетіп отырды. Бастапқы нұсқаларды жеке колонияларға дейін егу кезінде, грам-теріс бактериялар, ең ықтимал сірке қышқылы бактериялары анықталды.

Candida-ға қарсы белсенділік тек қымыз үлгілерінде анықталғандықтан, шартты-патогенді ашытқылардың өсуін әртүрлі дәрежеде тежейтін үлгілердегі қымыз микробиомаларына зерттеу жүргізілді.

3.1.2 *Candida*-ға қарсы белсенділік аясында қымызды метагеномды зерттеу

Шартты-патогенді ашытқыларға қатысты антагонистік белсенді, сондай-ақ *Candida*-ға қатысты антагонизм көрсетпейтін қымыз үлгілері қосымша іріктелді. Антагонистерді бөліп алу үшін алынған қымыз үлгілеріне, сондай-ақ сиыр сүтіндегі және сүт сарысуындағы қымыз микроорганизмдерінің ассоциацияларына метагеномдық зерттеу жүргізілді.

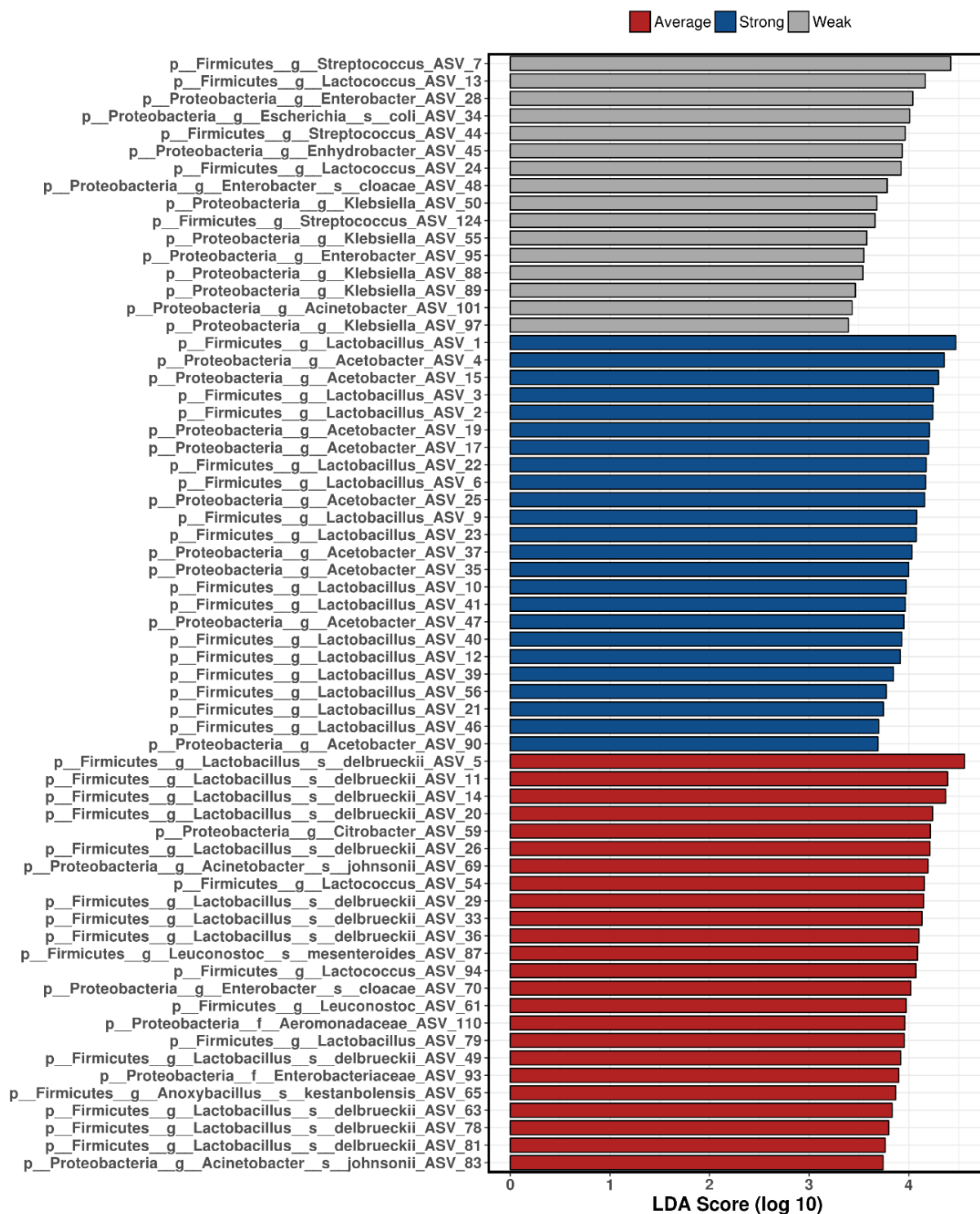
5-кестеде қымыз үлгілерінің антагонистік белсенділігі мен шығу тегі туралы мәліметтер келтірілген.

Candida-ға қарсы белсенділік контекстіндегі қымыз үлгілерінің бета-әртүрлілігін бағалау, үлгілердегі *Candida*-ға қарсы белсенділік пен сірке қышқылы бактерияларының көптігі арасындағы байланысты көрсетті (Сурет 9-10).

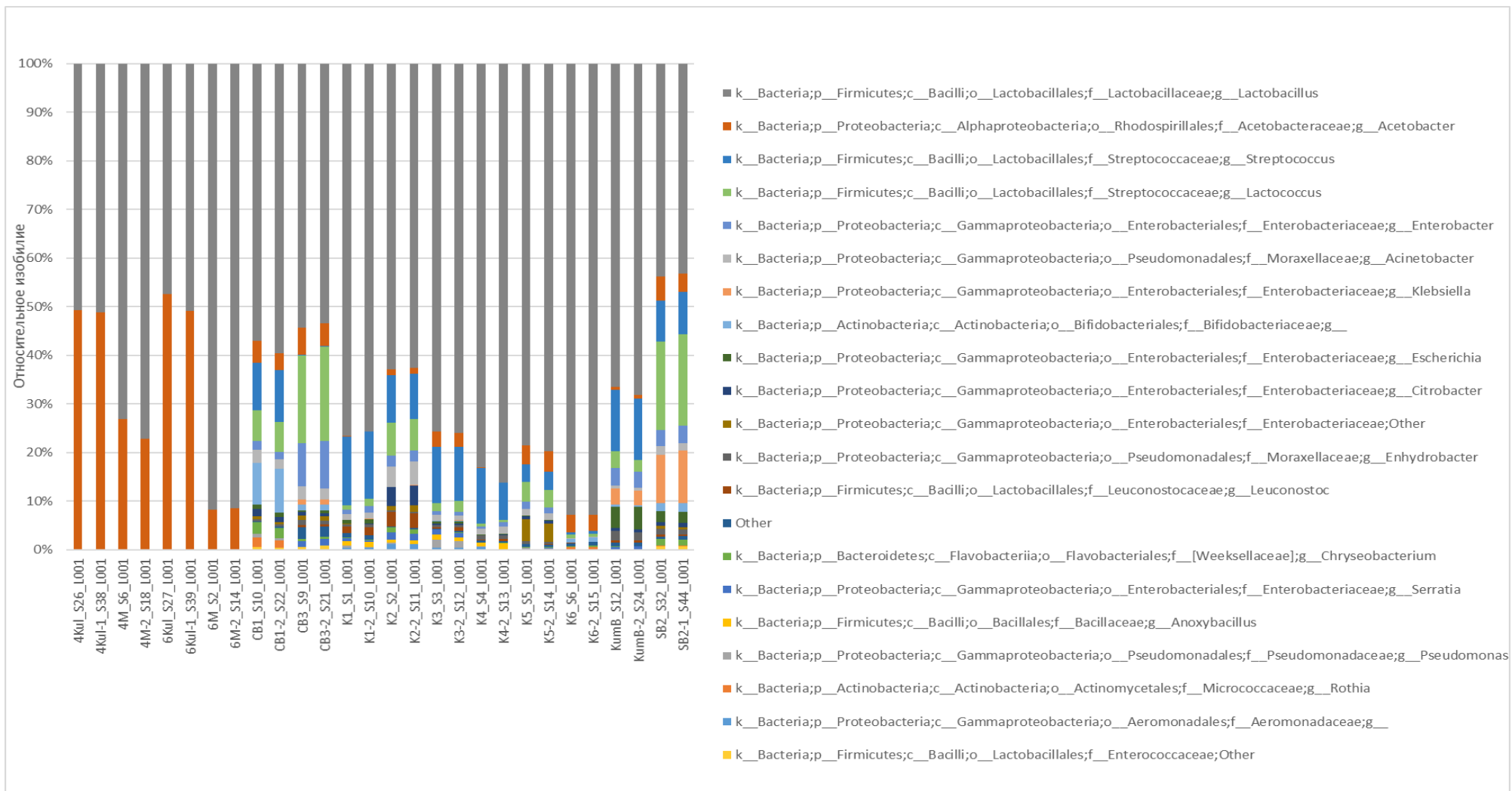
Брэй-Кертис қашықтығын дисперсиялық талдау, ASV деңгейінде үлгінің типі ($p = 0,0003$, $R^2 = 0,313$), сондай-ақ *C. albicans*-қа қарсы белсенділік ($p = 0,00233$, $R^2 = 0,189$) қымыз үлгілерінің бета-алуан түрін қалыптастыратынын көрсетті. Қымыз үлгілерінің екі бөлек топ (біреуі K1 - ден K4-ке дейінгі үлгілерді, ал екіншісі-қалған барлық үлгілерді қамтиды) құрғанын байқауға болады. Сондай-ақ, антифункционалды белсенділігі жоқ үлгілерден бөлек, *Candida*-ға қарсы жоғары белсенділік көрсеткен K6 және K5 үлгілері қызығушылық тудырады. Саңырауқұлаққа қарсы белсенділік көрсеткен, сүт пен сарысудағы екі қымыз ассоциациясы бірге топтастырылды.

Сарысудағы және сүттегі қымыз ассоциациялары *Acetobacter*-дің салыстырмалы едәуір жоғары санымен сипатталды (Сурет 9).

LEfSe



Сурет 9 - *Candida-ga* қарсы белсенділігі әлсіз (қызыл), орташа (сұр) және күшті (көк) үлгілерде әр түрлі дәрежеде болатын бактериялық таксондарды сызықтық дискриминантты талдау.



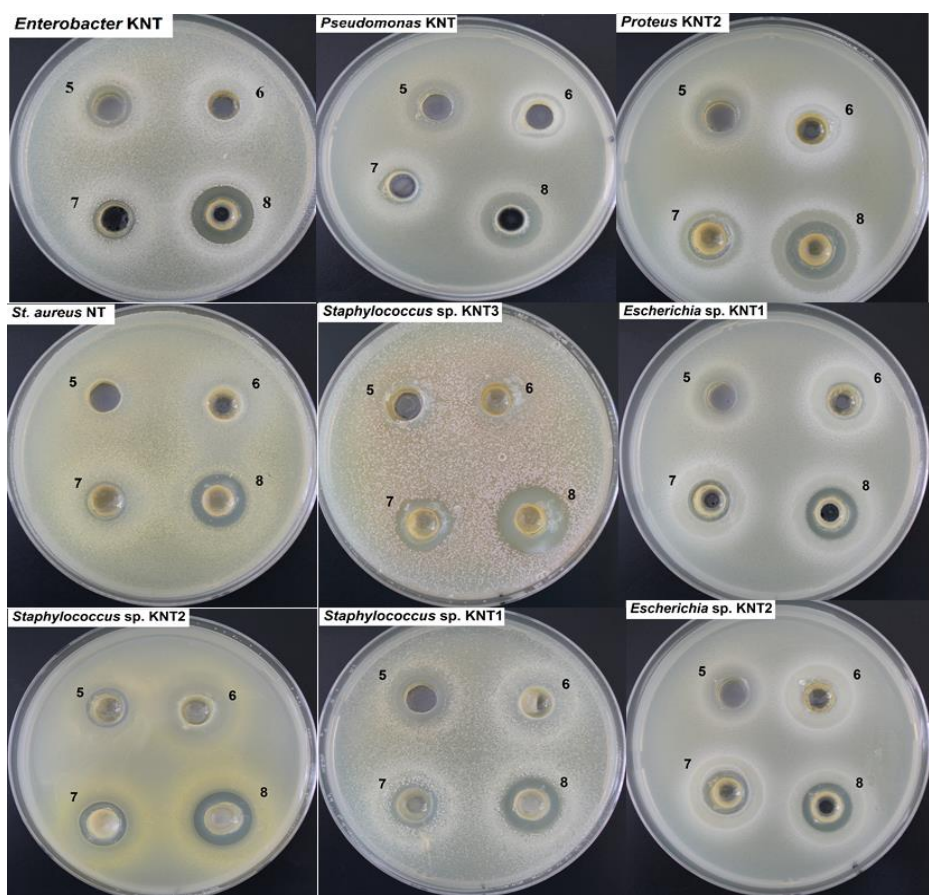
Сурет 10 - Сыыр сүті мен сүт сарысуындағы қымыз үлгілерінде және қымыз ассоциацияларында 0,1% - дан астам мөлшерде кездесетін туыстардың салыстырмалы саны.

Acetobacter туысы *Lactobacillus* туысына жататын жекелеген ASV-мен қатар, шартты-патогенді ашытқыларға қатысты, саңырауқұлақтарға қарсы белсенділігі жоғары қымыз үлгілерінде байланысты екендігін көруге болады (Сурет 9). *Lactococcus* және *Streptococcus* сүтқышқылды кокктар, керісінше, антагонизмі төмен үлгілерде ең көп кездесті. Сондай-ақ, *Candida*-ға қарсы белсенділіктің теріс корреляциясы және бірқатар ішек бактерияларының (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *E. coli*) болуы анықталды.

10-суретте сиыр сүті мен сүт сарысуындағы қымыз және қымыз ассоциацияларының әртүрлі үлгілеріндегі жеке бактериялық түрлердің салыстырмалы түрде көптігі көрсетілген. Сірке қышқылды бактериялар қымыз микрофлорасының міндетті компоненттері болып табылатынын көруге болады, алайда әртүрлі үлгілерде әртүрлі дәрежеде ұсынылған. Сиыр сүті мен сарысудағы қымыз ассоциацияларын бірнеше рет отырғызғаннан кейін, іс жүзінде тек сүтқышқылды мен сірке қышқылы бактериялары болады (сурет 10, 6kul, 6M, 4 Kul, 4M үлгілері).

3.2 *Candida* туысы ашытқыларының өсуін тежейтін KG консорциумының микрофлорасын зерттеу

Шартты-патогенді ашытқыларға қатысты антагонистік белсенділігі бар, шұбат пен қымыз микроорганизмдерін біріктіру арқылы алынған және "Микробиология және вирусология ҒӨО" ЖШС-нің Тағамдық микробиология зертханасының коллекциясының KG консорциумы зерттелді. Консорциумның құрамы анықталды. Оны егу кезінде грам-теріс бактериялар да табылды. Барлық микроорганизмдер кейіннен анықталды және сірке қышқылы бактерияларының болуы және олардың консорциумның саңырауқұлақтарға қарсы белсенділігімен байланысы расталды. Қымыз және шұбаттан алынған сүтқышқылды бактериялармен ішек инфекцияларының қоздырғыштарын басу нәтижесі 11 суретте көрсетілген.



Ескерту: 5-MRS ортасындағы 4-2а-1қымыз изоляты; 6-сүттегі 4-2а-1 қымыз изоляты; 7-сүттегі КГ консорциумының № 3 бактериясы; сүттегі КГ консорциумының № 1 бактериясы

Сурет 11 - Қымыз және шұбаттан алынған сүтқышқылды бактериялармен ішек инфекцияларының қоздырғыштарын тежеу

Сонымен қатар, консорциумның сүтқышқылды бактерияларының бір түрі натрий ацетаты жоқ MRS ортасында екі қабатты агар әдісімен зерттеу кезінде *Candida*-ға қатысты кейбір антагонизмге ие болды. Консорциумның басқа сүт қышқылды бактериялар жоғары бактерияға қарсы белсенділікпен ерекшеленді.

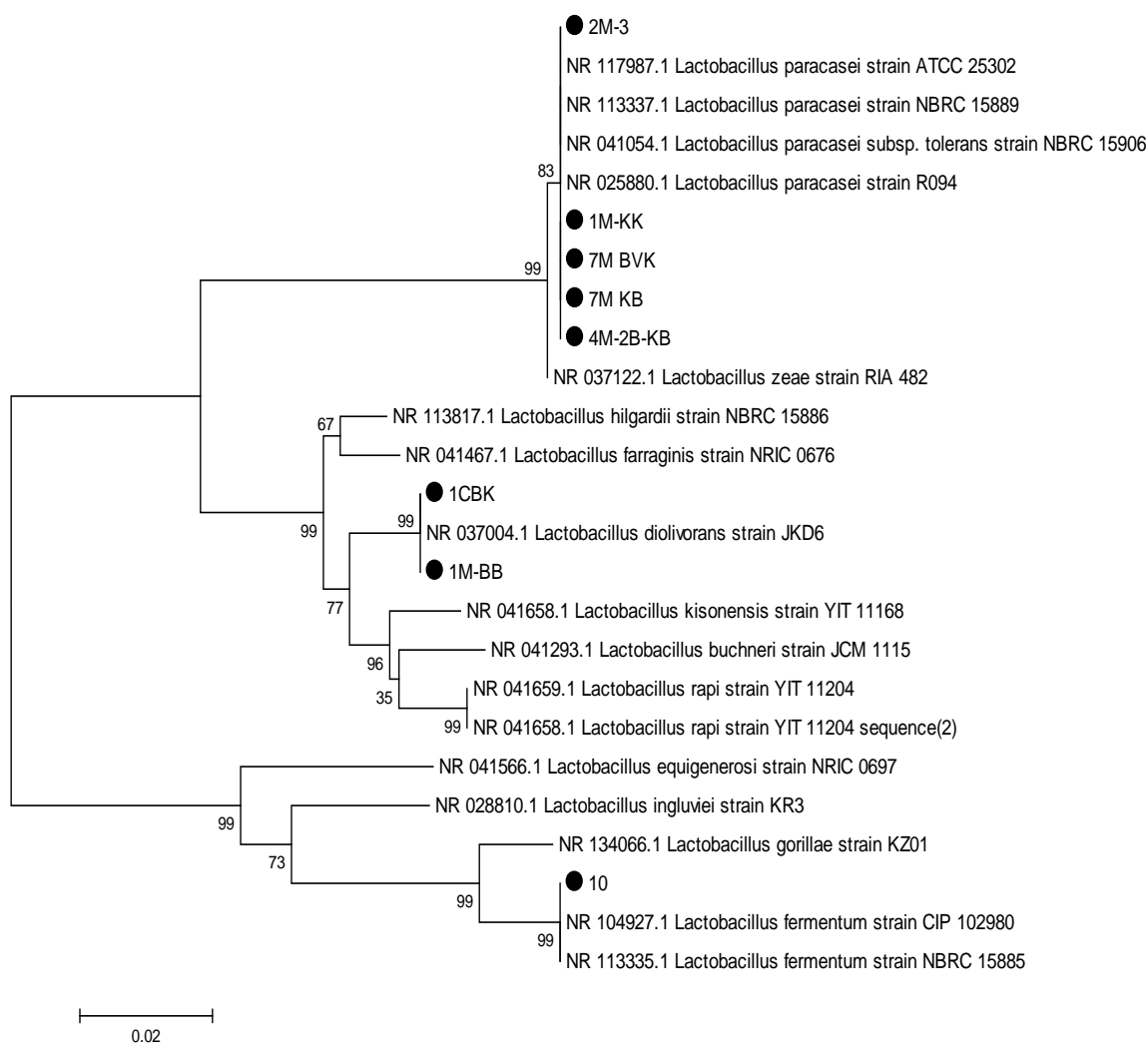
Бұл микроорганизмдерді молекулалық-генетикалық сәйкестендіру жүргізілген жоқ, сондықтан олар сәйкестендіріліп, жоғары антагонистік белсенділігі бар ассоциациялар құруда қолданылды.

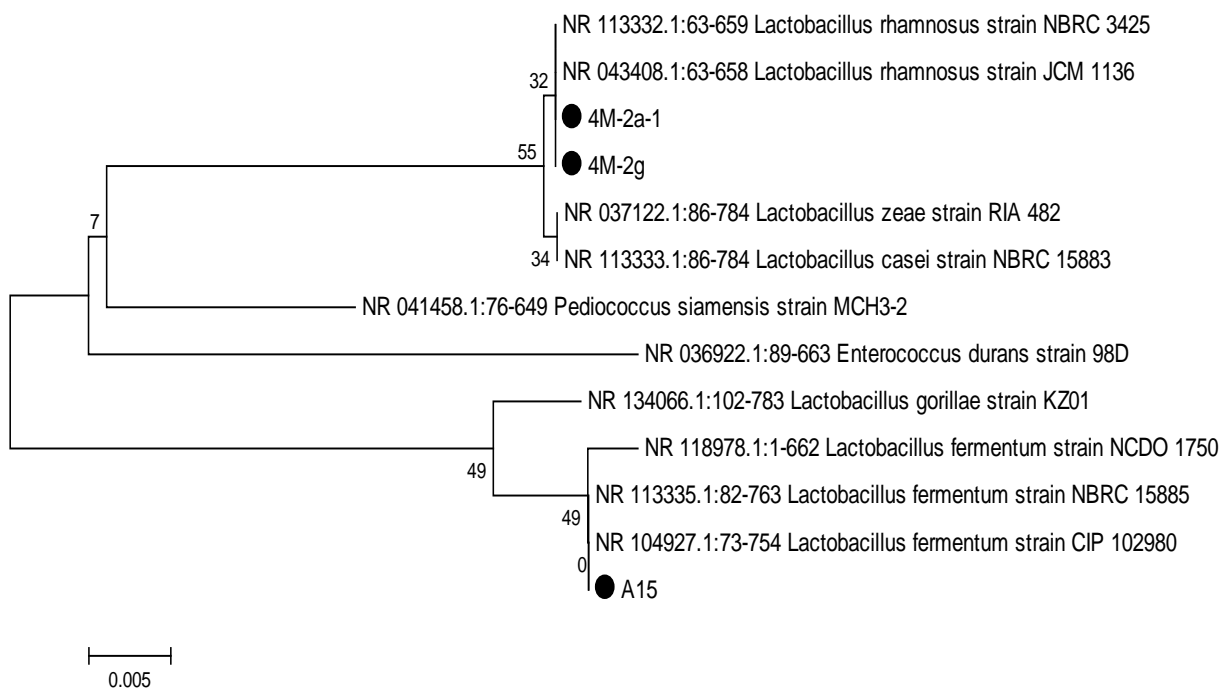
Осылайша, біздің зерттеулерімізде алғаш рет қымыздағы сірке қышқылды бактериялардың көптігі мен оның *Candida*-ға белсенділігі арасындағы өзара байланыс анықталды. Бактерияға қарсы және саңырауқұлақтарға қарсы белсенділігі жоғары сүтқышқылды және сірке қышқылды бактериялар іріктелді.

3.2.1 Іріктеліп алынған сүтқышқылды микроорганизмдердің молекулалық идентификациясы

Сиыр сүті мен сарысудағы қымыз ассоциацияларынан бөліп алынған антагонистік белсенді сүтқышқылды бактериялар *Lactobacillus paracasei* (қымыз ассоциациясы № 1, 2, 4, 7), *L. fermentum* (№6), *L. rhamnosus* (№4) және *L. diolivorans* (№1) ретінде анықталды. Ең жақын штамдармен гомология дәрежесі 99,54% - дан 100% - ға дейін болды. Қымыздан іріктелген сүтқышқылды бактериялардың филогенетикалық тармақтары 12 суретте көрсетілген.

Технологиялық тұрғыдан перспективті он екі изоляттың алтауы молекулалық-генетикалық талдау нәтижелері бойынша *L. paracasei* түріне жатқызылды (Кесте 5). Бұл түрдің бактериялары сиыр сүтінде бірнеше рет қайта егілген қымыз ассоциацияларының барлығынан дерлік бөлініп алынған. Сүт сарысуында сақталатын қымыз ассоциацияларынан сүтқышқылды бактериялардың бір ғана штаммы – *L. diolivorans* 1с-бк бөлініп алынды. Сарысудан MRS ортасына ассоциацияларды егу кезінде ашытқы мен сірке қышқылды бактерияларының көп мөлшері байқалды.





Сурет 12 - Қымыздан бөлініп алынған сүтқышқылды бактериялардың филогенетикалық тармақтары

Кесте 5 - Қымыздан бөлініп алынған микроорганизмдердің түрлік тиістілігі

№	Штамм	Түр
1	4M-2a-1	<i>L. rhamnosus</i>
2	4M-2g	
3	A15	<i>L. fermentum</i>
4	10	
5	1M-KK	
6	2M-3	
7	4M-2B-KB	<i>L. paracasei</i>
8	4M-6B	
9	7M BVK	
10	7M KB	
11	1M-BB	
12	1CBK	
		<i>L. diolivorans</i>

Қымыз үлгілерінде сүтқышқылды бактериялардың ерекше түрлерінің болуын қымыз микрофлорасын зерттейтін әртүрлі авторлар атап өтті. Соған қарамастан, түрлердің кездесу жиілігі аймақтар бойынша әртүрлі болып, өзгеріп отырады.

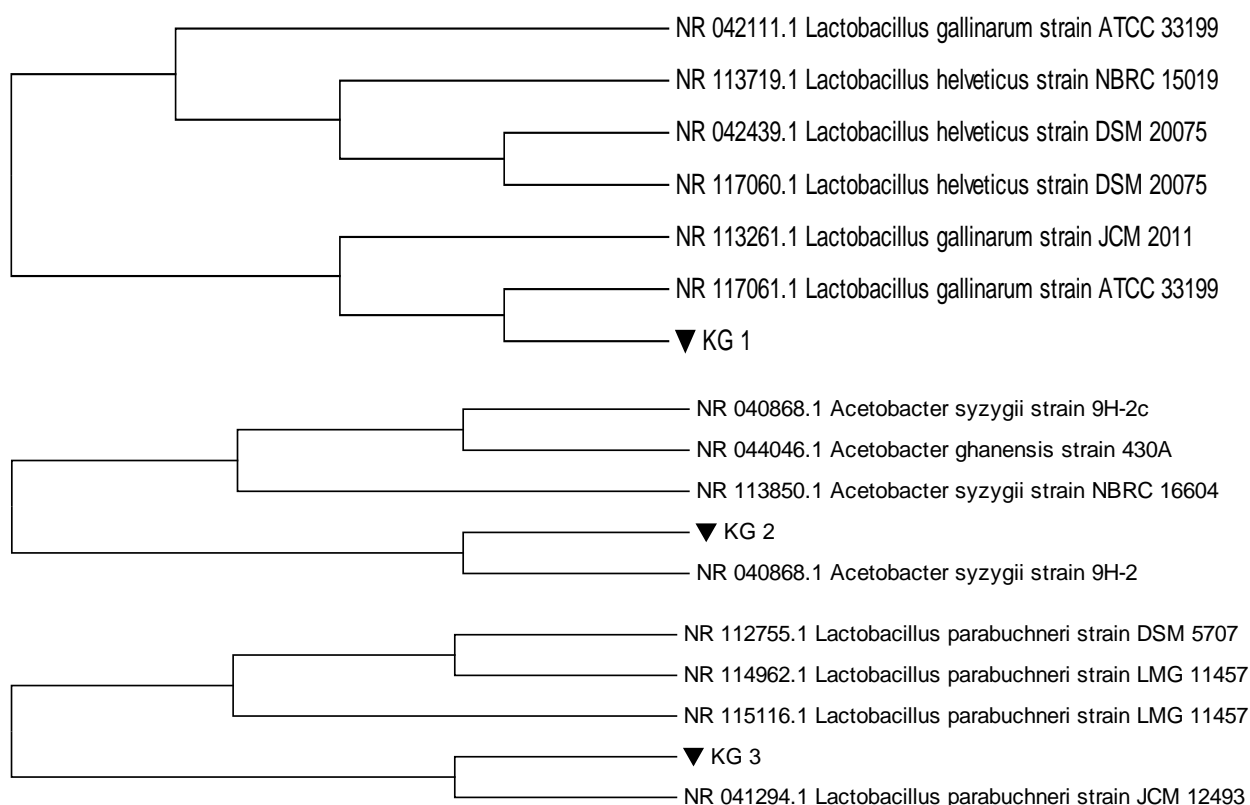
Қазақстандық және қытайлық қымыз үлгілерінде *L. paracasei* және *L.*

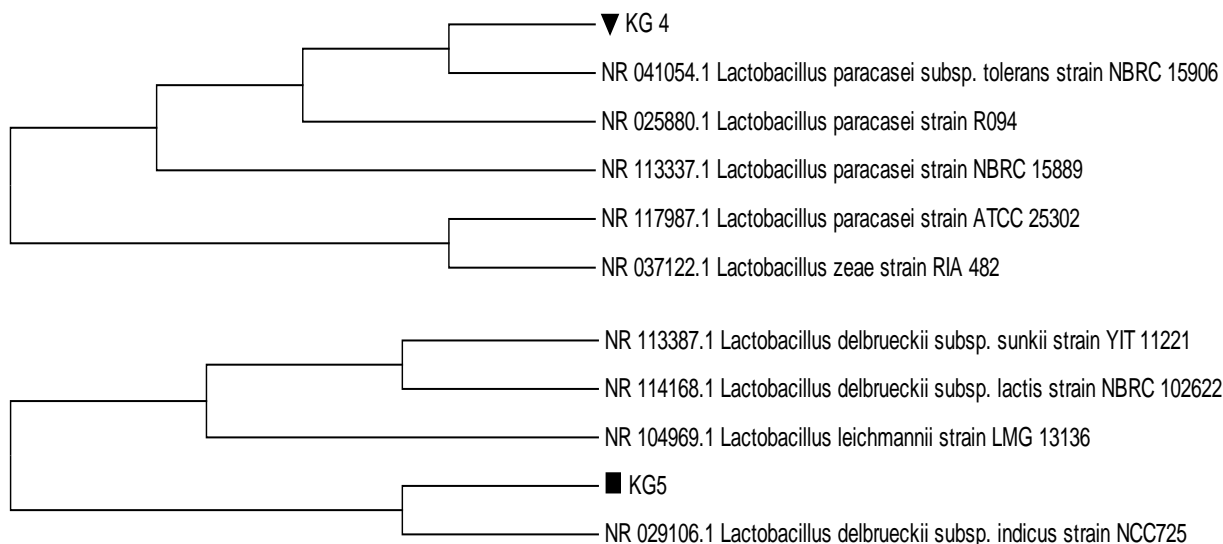
rhamnosus ең жиі кездесетіндер ретінде белгіленген. Ақмола облысының қымыз үлгілерін метагеномды зерттеуінің деректері *L. diolivorans* сүтқышқылды бактериялардың басым екендігін көрсетеді.

Сондай-ақ, КГ консорциумының сүтқышқылды бактерияларының жаңа штамдары және осы консорциумның сірке қышқылы бактериялары анықталды. № 1 Бактерия *L. gallinarum*, ал №3 бактерия - *L. parabuchneri* ретінде анықталған. Басқа сүт қышқылы бактериялары *L. delbrueckii* және *L. paracasei*, ал сірке қышқылы бактериялары *Acetobacter syzygii* ретінде анықталды (Сурет 13). Ең жақын штамдармен гомология дәрежесі 99-100 % болды.

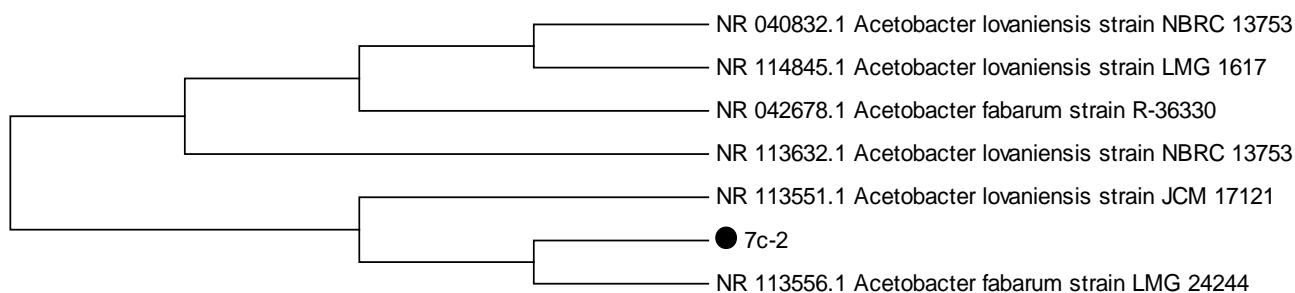
Сиыр сүті мен сарысудағы антагонистік белсенді қымыз ассоциацияларынан бөлініп алынған сірке қышқылы бактерияларының барлық изоляттары *A. fabarum* түріне жатады. Олардың филогенетикалық тармақтары 15-суретте көрсетілген.

Қымыздың лактоза ыдыратушы ашытқылары *Kluuveromyces marxianus* ретінде идентификацияланды (Сурет 16). Ашытқылардың басқа изоляттары *Pichia kudriavzevii* (*Issatchenkia orientalis* синонимі) және *Candida ethanolica* түрлеріне жатқызылды. Гомология дәрежесі 99,61-100 % болды.

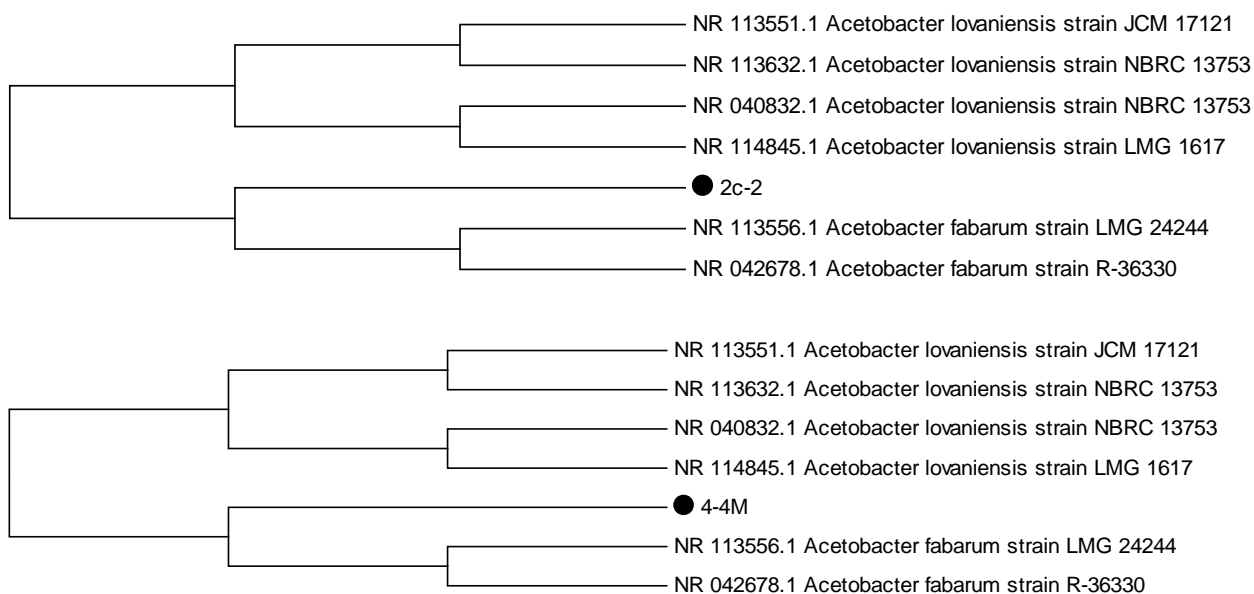




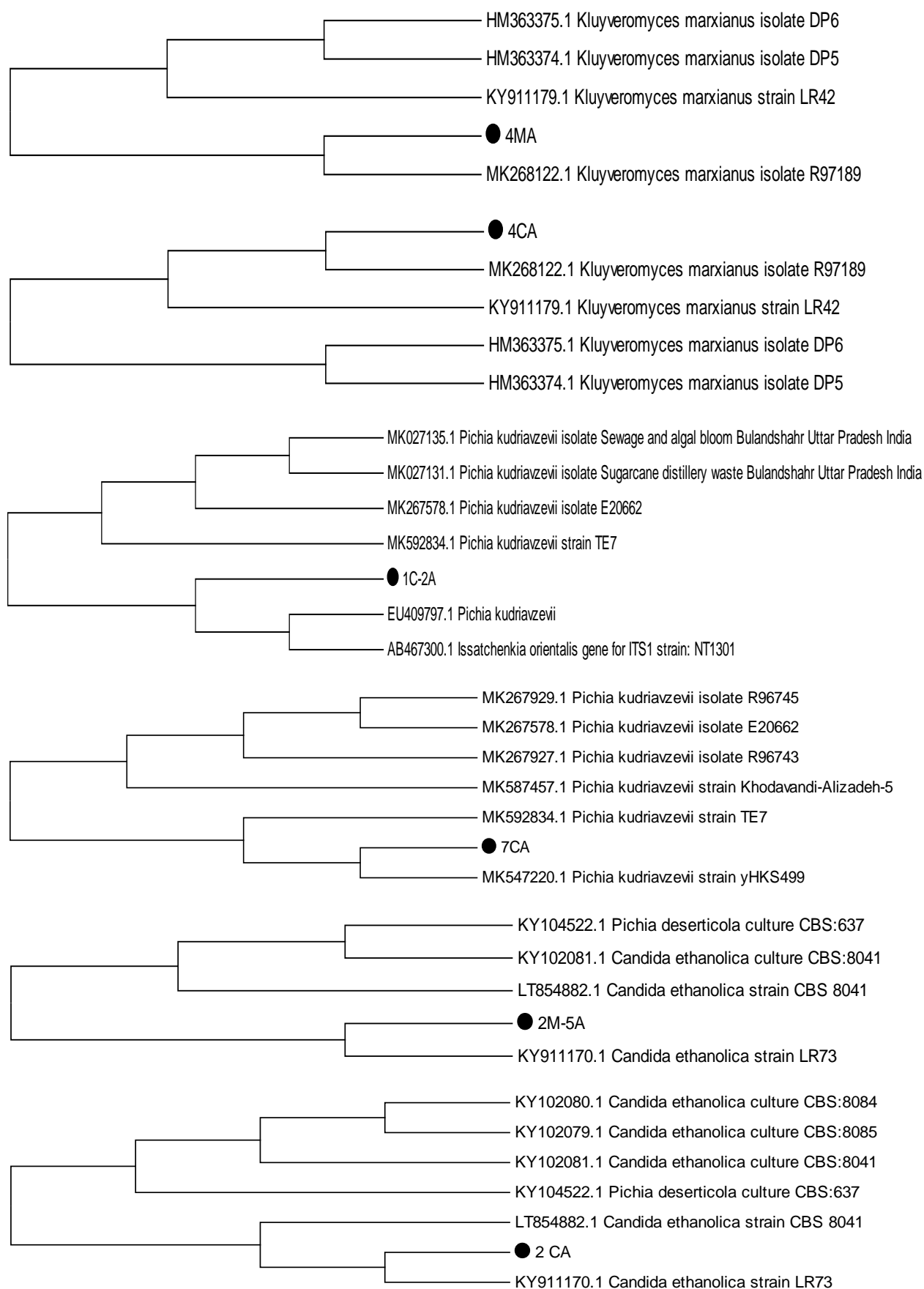
Сурет 13 - KG консорциумының бактериялық компоненттерінің филогенетикалық тармақтары



Сурет 14 - Қымыздың сірке қышқылы бактерияларының филогенетикалық тармақтары, парақ 1



Сурет 15 - Қымыздың сірке қышқылы бактерияларының филогенетикалық тармақтары, парақ 2



Сурет 16 - Қымыздан бөлініп алынған ашытқылардың филогенетикалық тармақтары

Осылайша, зерттеу нәтижесі көрсетілгендей іріктелініп алынған 12 түрлі микроорганизмдерге молекулярлы-генетикалық идентификация жүргізілді. Қымыздың антагонистік белсенді сүтқышқылды бактериялары *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. rhamnosus* және *L. diolivorans* болып табылады. Таңдалған штаммдар тағамдық және профилактикалық сусындарға және бағытталған әрекеті бар өнімдерге арналған ашытқылар жасау үшін қолданылады.

3.2.2 *Candida* туысының шартты-патогенді ашытқылардың өсуін тежеуде ең жоғары көрсеткіштерге ие ассоциацияларды әзірлеу

Біз қымыздан бөліп алған сүтқышқылды бактерияларының әртүрлі штаммдарының антагонистік белсенділік деңгейі штамм мен тест культурасына байланысты болды, бактериялық тесттердің өсуін тежеу аймақтары 10,5-тен 19,5 мм-ге дейін өзгерді. Алайда, *Salm. dublin* және *E. coli* грам-теріс бактерияларында өсуді тежеу аймағы *L. fermentum*, *L. rhamnosus* және *L. paracasei* мен салыстырғанда 21-34%-ға жоғары. Алынған мәліметтер Aryantini-дің авторлармен бірге алған зерттеу нәтижелеріне сәйкес келеді, олардың жұмысында ферменттелген бие сүтінен алынған *L. rhamnosus* FSNN15-тің *Salmonella typhimurium* LT-2, *Shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes* және *E.coli* O1571 грам-теріс бактерияларына антагонистік белсенділігі көрсетілген.

Бір түрге жататын сүтқышқылды бактериялардың әртүрлі штамдарының ішінен, сүтті ашыту жылдамдығы мен антагонистік белсенділігі ең жоғары көрсеткіштерімен сипатталатын культуралар таңдалды. Ашытылған сүт пен сарысудың *Candida*-ға қарсы белсенділігін қамтамасыз ететін сүтқышқылды мен сірке қышқылы бактерияларының үйлесімі таңдалды. Алайда, перпендикулярлы штрихтар әдісімен зерттеу кезінде ашытқының өсуінде ең үлкен тежеу аймақтарын көрсететін сүтқышқылды бактериялар сірке қышқылы бактерияларымен ассоциацияларында *Candida* өсуін тежейтін үлкен аймақтарды көрсететіні атап көрсетілді.

3.3 Әр түрлі микробтық топтардағы микроорганизмдер бірлестіктерінің антагонистік белсенділігі

Әр түрлі комбинациядағы микроорганизмдердің төрт микробтық тобынан (сүт қышқылды бактериялар, сірке қышқылы бактериялары, пропион қышқылы бактериялары және лактоза ашытатын ашытқылар) 26 ассоциация құрылды.

Алынған сарысуы бар сусындардың көп бөлігі ашытудан кейін 7 сағат ішінде жағымды сүтқышқылды сәл тәтті дәмге ие болды. Ашытқысы бар кейбір сусындардың өзіне тән ашытқы иісі болды. Бір қызығы, көптеген ассоциацияларда сірке қышқылы бактерияларының болуына қарамастан, алынған сусындар үйлесімді сүт қышқылды дәмге ие болды.

7 сағаттан кейін сусындардың рН көрсеткіші 4,29-4,58 аралығында аздап өзгерді (Кесте 6).

Кесте 6 - Іріктелген микроорганизмдердің әртүрлі ассоциацияларымен ферменттелген сарысудың рН көрсеткіштері, титрленетін қышқылдығы және антагонистік белсенділігі

№	Ассоциация компоненттері	Уақыты, сағ	рН	Қышқылдың титрленуі, Т°	Антагонисттік белсенділік			
					Г «+» бактериялар	Г «-» бактериялар	Саңырауқұлақтар	Ашытқылар
1	2	3	4	5	6	7	8	9
6	<i>L. delbrueckii</i> 5, <i>A. fabarum</i> 4М	7	4.41	50	±	-	+	-
		24	4.41	57	++	+++	-	++
7	<i>L. parabuchneri</i> 3, <i>A. fabarum</i> 4М	7	4.53	47	±	-	+	-
		24	4.93	41	±	+++	-	+
8	<i>L. paracasei</i> 4, <i>A. fabarum</i> 4М	7	4.54	44	±	-	±	-
		24	4.79	44	±	+++	±	++
A1	<i>L. rhamnosus</i> 4м-2а-1, <i>A. fabarum</i> 4-4М, <i>K. marxianus</i> 4МА	7	4.55	57	+++	+++	++	+
		24	4.37	57	+	+	+	+
A2	<i>L. rhamnosus</i> 4м-2а-1 <i>L. fermentum</i> A15, <i>A. fabarum</i> 4-4М, <i>K. marxianus</i> 4МА	7	4.58	59	++	++	++	+
		24	4.54	55	+	++	±	+
A3	<i>L. rhamnosus</i> 4м-2а-1, <i>L. paracasei</i> 4м-2b, <i>A. fabarum</i> 4-4М, <i>K. marxianus</i> 4МА	7	4.52	57	++	++	+	++
		24	4.33	56	+	++	+	+
A4	<i>L. rhamnosus</i> 4м-2а-1, <i>L. diolivorans</i> 1м-bb, <i>A. fabarum</i> 4-4М, <i>K. marxianus</i> 4МА	7	4.29	99	++	+++	+	+
		24	4.55	49	++	+	++	++
A5	<i>L. fermentum</i> A15, <i>A. fabarum</i> 4-4М, <i>K. marxianus</i> 4МА	7	4.57	60	+	+	±	++
		24	4.52	54	+	+	+++	+
A6	<i>L. fermentum</i> A15, <i>L. paracasei</i> 4м-2b, <i>A. fabarum</i> 4-4М, <i>K. marxianus</i> 4МА	7	4.26	88	+	+	-	++
		24	4.58	50	+++	+++	+	+++
A7	<i>L. fermentum</i> A15, <i>L. diolivorans</i> 1м-bb, <i>A. fabarum</i> 4-4М, <i>K. marxianus</i> 4М	7	4.55	68	++	+	±	+++
		24	4.67	50	++	++	+	++
A8	<i>L. paracasei</i> 4м-2b, <i>A. fabarum</i> 4-4М, <i>K. marxianus</i> 4МА	7	4.48	70	+++	+	++	++
		24	4.63	52	+	+	++	++
A9	<i>L. diolivorans</i> 1м-bb, <i>A. fabarum</i> 4-4М, <i>K. marxianus</i> 4МА	7	4.57	62	++	+	±	+
		24	4.39	55	++	++	+	+
A10	<i>L. diolivorans</i> 1м-bb, <i>L. paracasei</i> 4м-2b, <i>A. fabarum</i> 4-4М, <i>K. marxianus</i> 4МА	7	4.58	60	+	++	++	++
		24	4.53	55	+++	++	++	+
1	<i>L. delbrueckii</i> 5, <i>P. freudenreichii</i> PL, <i>K. marxianus</i> 19	7	4.35	51	+	-	-	-
		24	4.10	87	+++	+	-	-
2	<i>L. fermentum</i> A15 <i>P. freudenreichii</i> PL, <i>K. marxianus</i> 19	7	4.45	50	+	-	-	-
		24	4.15	79	+++	±	-	-
3	<i>L. rhamnosus</i> 4м-2а-1 <i>P. freudenreichii</i> PL, <i>K. marxianus</i> 19	7	4.44	51	+	-	-	-
		24	4.17	76	+++	++	-	-

6 кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8	9
4	<i>L. paracasei</i> 4 <i>P. freudenreichii</i> PL, <i>K. marxianus</i> 19	7	4.39	54	+	-	-	-
		24	4.06	82	+++	++	-	-
5	<i>L. parabuchneri</i> 3 <i>P. freudenreichii</i> PL, <i>K. marxianus</i> 19	7	4.39	53	+	-	-	-
		24	4.09	75	+++	±	-	-
9	<i>L. delbrueckii</i> 5 <i>P. freudenreichii</i> PL, <i>A. fabarum</i> 4M	7	4.47	53	±	-	+	-
		24	4.34	65	+	+++	-	++
10	<i>L. parabuchneri</i> 3 <i>P. freudenreichii</i> PL <i>A. fabarum</i> 4M	7	4.41	49	±	±	+	-
		24	4.42	57	+	++	-	++
11	<i>L. fermentum</i> A15 <i>P. freudenreichii</i> PL, <i>A. fabarum</i> 4M	7	4.46	49	+	±	+	-
		24	4.51	58	++	±	++	++
12	<i>L. rhamnosus</i> 4m-2a-1, <i>P. freudenreichii</i> PL, <i>A. fabarum</i> 4M	7	4.45	50	+	±	-	-
		24	4.50	55	++	+	++	++
13	<i>L. paracasei</i> 33-4 <i>P. freudenreichii</i> PL, <i>A. fabarum</i> 4M	7	4.45	49	+	±	+	-
		24	4.42	62	++	+	++	+++
14	<i>L. delbrueckii</i> 5, <i>L. paracasei</i> 4 <i>P. freudenreichii</i> PL, <i>A. fabarum</i> 4M <i>K. marxianus</i> 19	7	4.36	54	+	±	-	-
		24	4.23	85	++	+	++	+++
15	<i>L. delbrueckii</i> 5, <i>L. gallinarum</i> 1, <i>L. parabuchneri</i> 3, <i>L. paracasei</i> 33-4, <i>A. fabarum</i> 4M, <i>K. marxianus</i> 19	7	4.43	55	+	±	-	-
		24	4.30	83	++	+	++	+++
16	<i>L. delbrueckii</i> 5, <i>L. gallinarum</i> 1, <i>L. parabuchneri</i> 3, <i>L. paracasei</i> 33-4, <i>A. syzygii</i> 2, <i>K. marxianus</i> 19	7	4.41	55	+	±	-	-
		24	4.28	84	++	+	++	+++

Ескерту: титрленетін қышқылдықты екі рет өлшеді, екі өлшем де бірдей мәндерді көрсетті.

Титрленетін қышқылдықтың мәні көптеген ассоциациялар үшін 44-тен 59 бірлікке дейін болды (26-дан 18-і), бес бірлестік 60-70 бірлік ішінде титрленетін қышқылдықты көрсетті, ал екі ассоциация, атап айтқанда А6 (*L. fermentum* A15, *L. paracasei* 4m-2b, *A. fabarum* 4-4M, *K. marxianus* 4MA) және А4 (*L. rhamnosus* 4M-2A-1, *L. diolivorans* 1m-bb, *A. fabarum* 4-4M, *K. marxianus* 4ma) ең жоғары титрленетін қышқылдықты көрсетті - сәйкесінше 88 және 99.

7 сағаттан кейін жоғары немесе жақсы антагонистік белсенділік 10 ассоциацияда (A1-A10) табылды, олардың әрқайсысы *A. fabarum* 4-4M сірке қышқылы бактерияларынан, *K. marxianus* 4MA лактозаны ыдыраушы ашытқылардан және *L. rhamnosus* 4m - 2A-1, *L. fermentum* A15, *L. paracasei* 4m-2b және *L. diolivorans* 1m- bb сүтқышқылды бактерияларының бір немесе екі түрінен тұрды. Ең айқын бактерияға қарсы белсенділікті *L. rhamnosus* 4m-2A-1 (грам-оң және грам-теріс бактерияларға қарсы) және *L. paracasei* 4m-2b

(грам-оң бактерияларға қарсы) бар А1 және А4 ассоциациялары көрсетті. Саңырауқұлақ микроорганизмдерін сәйкесінше *L. fermentum* А15, *L. diolivorans* 1m-bb және *L. paracasei* 4m-2B бар А7 және А8 ассоциациялары жақсы тежеді. Ал ашытқыға қарсы антагонизмге келетін болсақ, тек *L. rhamnosus* 4m-2A-1, *L. fermentum* А15 және *L. diolivorans* 1m-bb және *L. paracasei* 4m-2b кіретін ассоциациялар ингибиторлық белсенділікті көрсетті.

24 сағаттан кейін рН көрсеткіші 4,06-дан 4,93-ке дейін ауытқып тұрды. Көптеген (16) ассоциациялардағы титрленетін қышқылдық 41 - ден 58 бірлікке дейін, ал 2 және 8 басқа ассоциациялар үшін сәйкесінше 62-ден 65-ке дейін және 75-тен 87 бірлікке дейін болды. Ең жоғары титрленетін қышқылдықты және ең төменгі рН мәнін (4.06 – 4.17) құрамында сірке қышқылды бактериялары жоқ №№1-5 ассоциациялар, сондай-ақ әртүрлі микробтық топтары бар №14 және №15 ассоциациялар және сүтқышқылды бактерияларының кемінде үш штаммы көрсетті.

Ашыту кезінде сарысуды қышқылдандырудың антагонистік белсенділікке әсері рН айтарлықтай төмендегенде ғана байқалды (шамамен 4,0-4,1). Бұл, әсіресе грам-оң бактерияларға қарсы жоғары антагонистік белсенділігі бар №1-5 ассоциациялар үшін байқалды. Басқа нысандар үшін, яғни, грам-теріс бактериялар мен саңырауқұлақтар, оның ішінде ашытқы мен саңырауқұлақтар үшін мұндай әсер байқалмады. *L. rhamnosus* 4m-2A-1 кіретін А1-А3 ассоциацияларының антагонистік белсенділігі 29-56%-ға ($p < 0,05$) төмендеді, ал 24 сағаттан кейінгі титрленетін қышқылдық 7 сағаттан кейінгі көрсеткішпен бірдей деңгейде қалды. 24 сағаттан кейін сірке қышқылы бактериялары бар барлық ассоциациялар шартты патогенді ашытқыларға қарсы антагонистік белсенділікті арттырды.

Сірке қышқылы бактериялары жоқ, пропион қышқылы бактериялары бар ассоциациялар ашытқыға да, саңырауқұлақтарда да антагонизм көрсеткен жоқ, бірақ олар грам-оң микроорганизмдерге қарсы өте белсенді болды.

3.4 Аралас дақылдарда сірке қышқылы бактерияларының *Candida albicans* өсуін тежеуі

Қымыздан бөлініп алынған *A. syzygii* 2 сүттің сірке қышқылы бактериялары мен MRS үшін ұсынылған ортадағы монокультурада өте әлсіз өсуімен сипатталды. Олар монокультурадағы ашытқының өсуін тежегенімен, өсудің тежелуі толық болмады және бірнеше күн бойы бөлме температурасында табакшаларды қосымша ұстау кезінде аймақтар айқындала түсті. *A. fabarum* 4M штамы 1 мл/л сүтқышқылы немесе 1 мл/л сірке қышқылы және 50 мл/л этанол қосылған GYC-де өсірген кезде *C. albicans* өсуін сәл ғана тежейтін аймақтарды құрды, ал MRS-те 48 сағаттық өсіруден кейін біршама айқын аймақтар пайда болды (суреттер 17-18).

Сүт қышқылды бактериялармен ассоциацияда сірке қышқылы бактериялары MRS-те де өсіру кезінде де, сүтте де өсіру кезінде *C. albicans* өсуін тежеді. 1 суретте көрсетілгендей, сүт қышқылды бактерияларының жеке штамдары *L. rhamnosus* 4 m-2a-1, *L. paracasei* 2 m-3, *L. paracasei* 4 m-6b, *L.*

paracasei 33-4 және *L. delbrueckii* 5, *C. albicans*-тың тежеген жоқ, сонымен қатар оның өсуін MRS ортасында өсіргенде де, сүтте өсіргенде де ынталандырды.

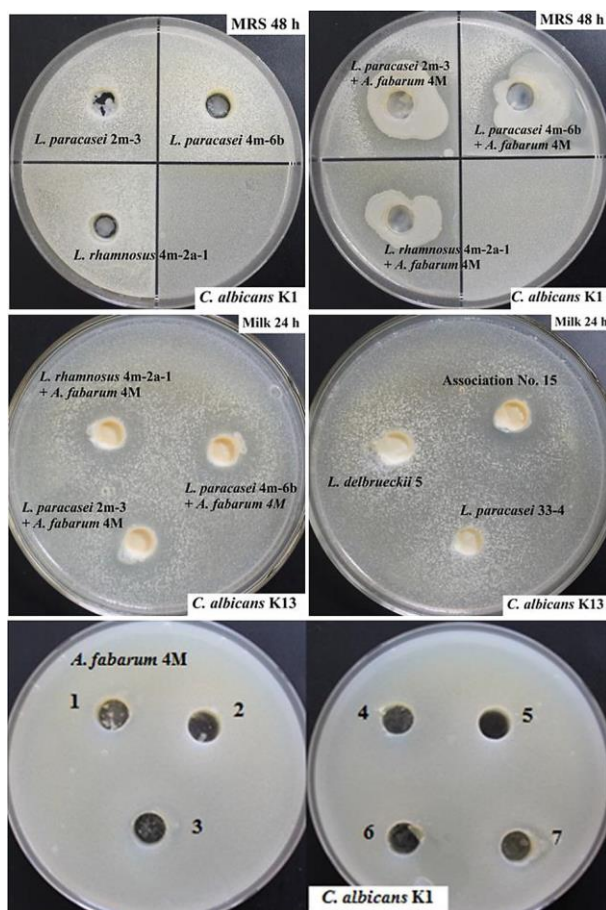
Керісінше, сүт қышқылды мен сірке қышқылы бактерияларының аралас культуралары *C. albicans*-тің өсуін жүйелі түрде тежеді. Сірке қышқылы бактериялары MRS-те сүт қышқылымен бірге өсірілгенде, *C. albicans*-ті тежеу аймақтарымен бірге ұяшықтардан тыс агар бетінде сірке қышқылды бактерияларының едәуір өсуі анықталды. Сүтте осы ассоциацияларды өсірген кезде мұндай өсу байқалмады. Алайда, мұндай жағдайларда да *C. albicans*-тің өсуі тежелді.

A. fabarum 4 M сүт қышқылды бактериялармен барлық комбинацияларда антагонизм көрсетті. *A. suzygii* 2 шұбаттан, яғни *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3 және *L. paracasei* 33-4, LAB-пен байланыста жақсы нәтиже берді, бірақ бұл культураның қымыздан бөлінген *L. rhamnosus* 4 m-2a-1, *L. paracasei* 2 m-3, *L. paracasei* 4 m-6b және *L. fermentum* A15 комбинациясында тежелу аймақтары табылмады.

Супернатанттар мен клетка массасының немесе клетка суспензиясының антагонизмін зерттеу антифункционалды белсенділіктің клетка фракциясымен байланысын (сурет 17), сондай-ақ, супернатантта антифункционалды белсенділіктің ішінара болуын көрсетті (сурет 18, б). Клеткаларды концентрациялай отырып, 5000 айн/мин кезінде центрифугалау кезінде (сурет 18, а), физиологиялық ерітіндінің тиісті көлемінде жуылған тұнбаны қалпына келтіре отырып, 1000 айн/мин кезінде седиментациялауға карағанда анағұрлым жоғары белсенділікті анықтады (сурет 18, д).

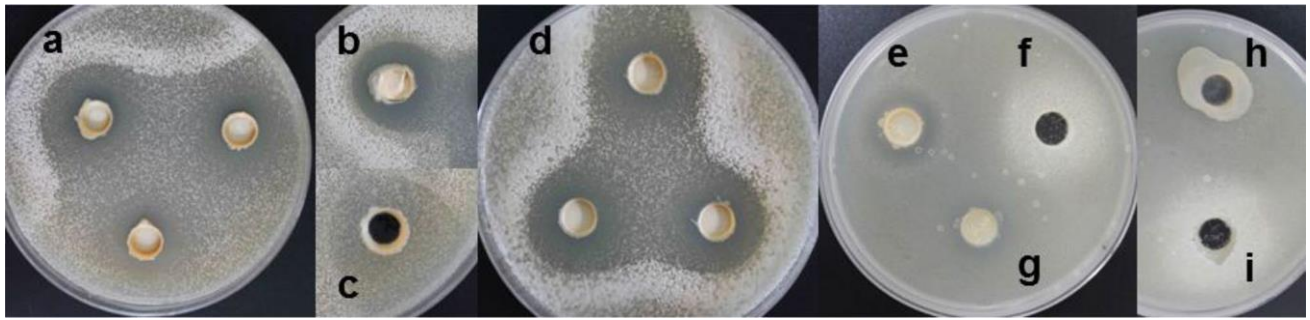
Мүмкін, бұл жағдайда антагонизм басқа метаболиттерді стимуляциялау әсерімен жасырылған болар.

Бір қызығы, қоректік ортасы 1N КОН бейтараптандыру, белсенділіктің тек 40%-ын жоғалтуға әкелді, бұл ұяшықтардың айналасындағы *C. albicans*-тің өсуін тежеу тек органикалық қышқыл өндірумен ғана байланысты емес болды.



Сурет 17 - *A. fabarum* 4 М және сүт қышқылы бактерияларының жеке культураларымен мен ассоциацияларының *C. albicans*-тің өсуін тежеуі. 15 ассоциациясына *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3, *L. paracasei* 33-4, *A. fabarum* 4 М және *K. marxianus* 19 кіреді. Сірке қышқылы бактерияларына арналған орталар: 1 - GYC + 1 мл / л сүт қышқылы; 2 - GYC + 5 мл / л сүт қышқылы; 3 - GYC + 1 мл / л сірке қышқылы + этанол 50 мл / л; 4 - US; 5 - MYP; 6 - GYC. 7 - MRS.

Алынған нәтижелер *Candida*-ға қарсы белсенділік пен сүт ассоциацияларында сірке қышқылы бактерияларның болуы арасындағы байланысты көрсетті. Сірке қышқылы бактерияларының таза культураларының антагонизмін зерттеу *Candida*-ға қарсы белсенді әрекетті анықтаған жоқ. MRS ортасының сірке қышқылы бактерияланың антагонизміне әсері оның құрамындағы натрий ацетатының болуымен байланысты болуы мүмкін [212, 213].



a - консорциум 16 (*L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3, *L. paracasei* 33-4, *A. suzygii* 2 және *K. marxianus* 19) сүтте (24 сағат), бөлме температурасында 5 күн қосымша инкубациядан кейінгі табақшалар; b - (5000 айн/мин, 10 мин) центрифугалаудан кейін оқшауланған 16 консорциум жасушалары және 1 мл су тұзды ерітіндісінде қайтадан суспензияланған; c - 0,2 мкм фильтрациядан кейін 16 консорциумның супернатанты (5000 айн / мин, 10 мин); d - бөлме температурасында 5 күн бойы қосымша сақтаудан кейін сүттегі (24 сағ) *L. paracasei* 33-4 және *A. suzygii* 2 консорциумы; f - 16 консорциумының супернатанты (1000 айн / мин, 10 мин); g - (1000 айн / мин, 10 мин) центрифугалаудан кейін қалпына келген және 9 мл тұзды ерітіндіде қайтадан суспензияланған 16 консорциумының бактериялық жасушалары; h - сарысудағы 16 консорциумы (24 сағ); i - 0,2 мкм фильтрациядан кейін сарысудағы (24 сағ) 16 консорциумның супернатанты (1000 айн / мин, 10 мин).

Сурет 18 - Сірке қышқылы бактериялары бар K13 консорциумының *C. albicans-mi* тежеуі

Зерттелген сірке қышқылы бактериялары мен сүт қышқылды бактериялардың культураларының арасындағы метабиотикалық өзара әрекеттесулер біріккен культураларды байқалатын *Candida* өсуінің тежелуіне жауап беруі мүмкін, өйткені сірке қышқылы бактериялары мен сүт қышқылды бактериялардың жеке культуралары шартты ашытқыларға қарсы антагонизм көрсетпеген. *A. suzygii* 2 бар кейбір ассоциацияларда *Candida* өсуінің тежелу аймақтарының болмауы, сірке қышқылы бактерияларының нашар өсуімен немесе жоғарыда аталған сүт қышқылы бактериялары және сірке қышқылы бактерияларының штаммдары арасында метаболиттік байланыстардың болмауымен байланысты болуы мүмкін. Шынында да, қымыздан оқшауланған *A. suzygii* 2 мен сүт қышқылды бактериялар арасында антагонизмнің жоқтығына қарамастан, бұл жағдайларда *A. suzygii* 2 -нің ұңғымалардан тыс өсуі байқалмады.

3.5 *Candida albicans* -қа қарсы белсенді ашытылған сүттің ұшқыр қосылыстарын талдау

24, 72 және 120 сағаттан кейін ең белсенді ассоциация көмегімен алынған (құрамында *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3, *L. paracasei* 33-4, *A. suzygii* 2 және *K. marxianus* 19 бар консорциум 16) ашытылған сүт SPME-GC / MS (қатты фазалы микроэкстракция / масс-спектрометриялық анықтауға мүмкіндік беретін газды хроматография) көмегімен талданды. *C.*

albicans-қа қарсы, консорциумның қызметі сарысуға қарағанда майсыздандырылған сүтте айқынырақ болды; сүт оның ұшқыш бейінін зерттеу үшін субстрат ретінде қолданылды. 24 сағаттан кейін консорциум көмегімен ашыған сүттегі ұшқыш қосылыстардың талдауы, ацетоиннің (Кесте 7), ары қарай изомайлы қышқыл (2-метил-пропан қышқылы) басым екенін көрсетті.

Кесте 7 – Сүттегі *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3, *L. paracasei* 33-4, *A. syzygii* 2 және *K. marxianus* 19 консорциумының ұшқыр қосылыстарын талдау

Ашыту уақыты	№	Кешіктіру уақыты (мин)	Қосылыстар	Шыңның ауданы
				($\mu\text{e} \cdot 10^6$)
24 сағат	1	1.27	Көміртегі диоксиді	0.19 ± 0.02
	2	7.44	Ацетоин	6.03 ± 0.56
	3	9.71	Сірке қышқылы	0.81 ± 0.02
	4	11.20	Пропан қышқылы, 2-метил-	1.40 ± 0.35
	5	12.42	Бутан қышқылы, 3-метил-	0.74 ± 0.21
72 сағат	1	7.45	Ацетоин	16.36 ± 3.20
	2	9.62	Сірке қышқылы	69.04 ± 7.56
	3	11.20	Пропан қышқылы, 2-метил-	1.85 ± 0.32
	4	12.44	Бутан қышқылы, 3-метил-	1.66 ± 0.34
120 сағат	1	4.33	Додекан	3.25 ± 0.40
	2	5.26	Ацетоин	16.63 ± 2.81
	3	6.64	Сірке қышқылы	60.31 ± 5.33
	4	7.25	2-Нонанол	0.96 ± 0.20
	5	7.46	Пропан қышқылы	1.80 ± 0.35
	6	7.71	Пропан қышқылы, 2-метил-	1.89 ± 0.32
	7	8.01	2-Ундеканон	6.18 ± 0.45
	8	8.22	Бутан қышқылы	3.49 ± 0.42
	9	8.55	Бутан қышқылы, 3-метил-	3.59 ± 0.61
	10	9.32	Нафтален	1.42 ± 0.45
	11	9.67	2-Тридеканон	1.48 ± 0.32
	12	9.90	Гексан қышқылы	15.52 ± 2.47
	13	11.40	Октан қышқылы	17.13 ± 3.88
	14	12.77	n-Декан қышқылы	6.56 ± 1.32
	15	13.81	Бензой қышқылы	50.69 ± 5.67
	16	14.01	Додекан қышқылы	2.57 ± 0.32

Сірке және изовалериан (3-метилбутан) қышқылдары да айтарлықтай мөлшерде табылды. Диацетил культуралық сұйықтықтарда табылған жоқ. 72

сағаттан кейін ұшқыш қосылыстардың профилі өзгеріссіз қалды, бірақ сірке қышқылының өнімі $0,81 \times 10^6 \pm 0,02$ 106-дан $69,04 \times 10^6 \pm 7,56 \times 10^6$ шартты бірлікке дейін күрт өсті (ш.б.). 120 сағаттық инкубациядан кейін бензой қышқылының жоғары көрсеткіші ($50,69 \times 10^6 \pm 5,67 \times 10^6$ ш.б.), сондай-ақ салыстырмалы түрде бос май қышқылдарының бірнеше жоғары көрсеткіштері (гексан, октан, N-Декан және додекан қышқылы) байқалды. Сонымен қатар, пропион және май қышқылдары, кетондар (2-ундеканон және 2-тридеканон), додекан және 2-нонанол табылды.

Алайда, 72-120 сағаттан кейін ассоциацияның антагонизмін зерттеу оның жоғарылауын көрсеткен жоқ, ал *Candida*-ға қарсы максималды белсенділік сүтте өсірілгенде 24 сағаттан кейін анықталды. №16 (24 сағат) консорциуммен ашыған сүттегі сірке қышқылының сандық талдауы оның құрамын $16,6 \pm 0,64$ мг / мл көрсетті. Тежеу аймағының диаметрі $20,0 \pm 1,0$ мм болды.

Пропионды, май және бензой қышқылдарының саңырауқұлаққа қарсы белсенділігі мен әр түрлі май қышқылдарының синергетикалық әсерінің көрсеткіштеріне қарамастан [214, 215], ашытқыны тежеу аймақтарының диаметрі өзгеріссіз қалды немесе 72-120 сағат өсіру кезінде аздап төмендеді. Бұл әдісті қолдана отырып, саңырауқұлаққа қарсы белсенділігі белгілі бірнеше молекулалар табылды. Алайда, сірке қышқылын қоспағанда, бұл қосылыстардың барлығы консорциумды сүтте бірнеше күн өсіргеннен кейін ғана түзілді, ал *C. albicans* өсуін тежеудің максималды аймақтары 24 сағаттан кейін анықталды. Сірке, изомай және изовалер қышқылдарының синергетикалық әсері де болуы мүмкін, сондықтан олардың мөлшерін дәл анықтап, әлі анықталмаған және идентификацияланбаған, ұшқыш емес қосылыстардың да саңырауқұлаққа қарсы белсенділікке әсер етуін ескере отырып, бақыланатын саңырауқұлаққа қарсы белсенділікке қандай молекулалар жауап беретінін анықтау үшін осы молекулалардың азды-көпті күрделі комбинацияларын сынау қажет.

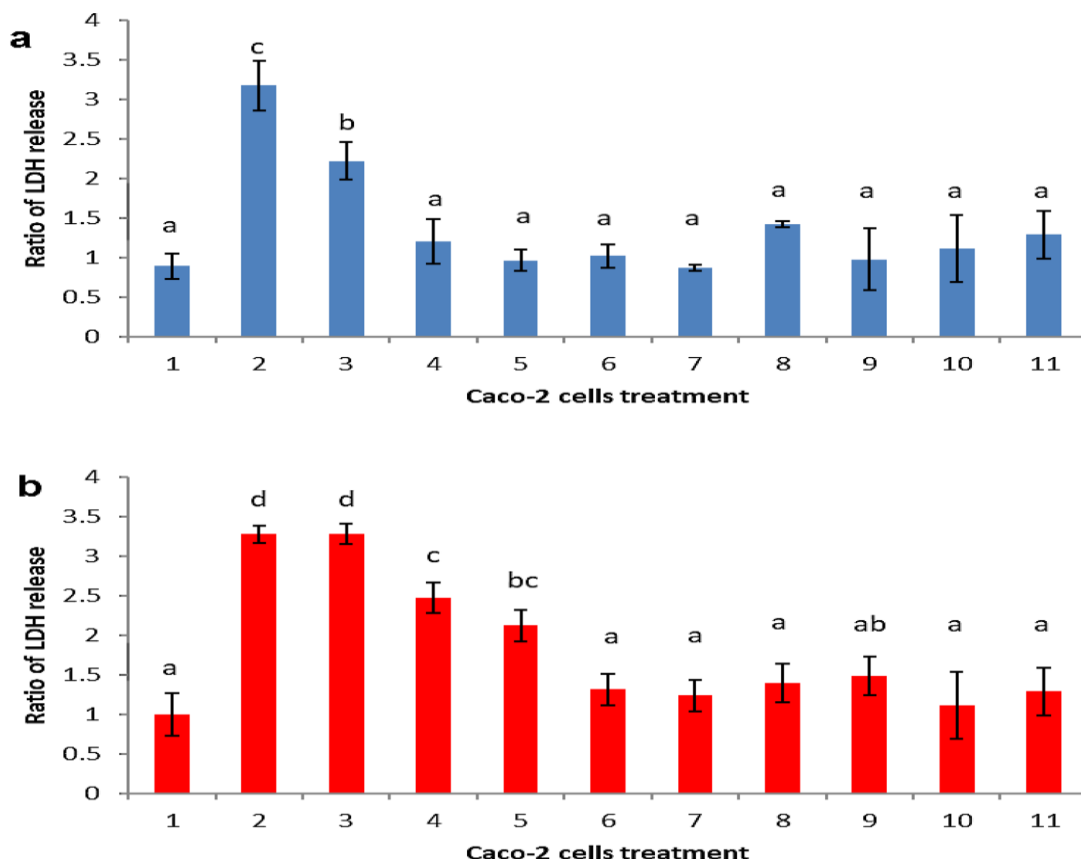
3.6 Сасо-2 клетка культураларында *Candida albicans* - қа қарсы ашытылған сүттің белсенділігі

Бірде-бір сыналған ашытылған сүт Сасо-2 клеткаларына цитотоксикалық әсер еткен жоқ. Айта кетерлігі, кейбір пробиотикалық зертханалық штамдар немесе клетка (бос) сығындысы оның ішінде *L. paracasei* штамдары апоптозды және Сасо-2 клеткаларының көбеюін индукциялайды, сол себепті тоқ ішектің қатерлі ісігіне қарсы қолдануға болады [216, 217]. Бірде-бір сыналған ашытылған сүт Сасо-2 клеткаларына цитотоксикалық әсер еткен жоқ

Бұл зерттеуде мұндай әсер байқалмады, бұл зерттеу жағдайында ашытылған сүт мұндай қасиеттерді көрсетпегенін көрсетеді. Сонымен қатар, 10^6 КТБ/мл *C. albicans* К13 концентрациясы таңдалды, өйткені бұл клеткалардың өміршендігін едәуір жоғалтуға әкелді.

Осы алдын-ала тәжірибелерден кейін *C. albicans*-қа қарсы алдын-алу әсері, Сасо-2 клеткаларын ашытылған сүтпен, жылумен өңделген немесе

өңделмеген және тек коммерциялық йогурт ашытқысын, А1 ассоциациясымен толықтырылған коммерциялық ашытқыларды (сүт өнімдерінің көгеруіне қарсы белсенді) және С1 және С2 консорциумдарын (*C. albicans*-қа қарсы антагонистік белсенділікті көрсететін) қолдана отырып, *C. albicans* инокуляциясынан кейін 6 және 24 сағаттан кейін зерттелді (Сурет 19).



Ескерту: 1 - тек Сасо -2 жасушалары (теріс бақылау); 2 - оң бақылау (лизистелген Сасо -2 жасушалары); 3 - Сасо-2 және *C. albicans* жасушалары; 4 - йогурттың коммерциялық культуралармен ашытылған сүтпен алдын ала инкубацияланған, содан кейін *C. albicans* егілген Сасо-2 жасушалары; 5 - йогурттың коммерциялық культуралармен ашытылған, термоөңделген сүтпен алдын ала инкубацияланған, содан кейін *C. albicans* егілген Сасо-2 жасушалары; 6 - С1 консорциумы (*L. rhamnosus* 4 *m-2a-1* және *A. fabarum* 4 *M*) көмегімен ашытылған сүтпен алдын ала инкубацияланған, содан кейін *C. Albicans* егілген, Сасо-2 жасушалары; 7 - С1 консорциумы (*L. rhamnosus* 4 *m-2a-1* және *A. fabarum* 4 *M*) көмегімен ашытылған термоөңделген сүтпен алдын ала инкубацияланған, содан кейін *C. albicans* егілген, Сасо-2 жасушалары; 8 - С2 консорциумы (*L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3, *L. paracasei* 33-4, *A. fabatum* 4 *M* және *K. marxianus* 19) көмегімен ашытылған сүтпен алдын ала инкубацияланған, содан кейін *C. albicans* егілген, Сасо-2 жасушалары; 9 - С2 консорциумы (*L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3, *L. paracasei* 33-4, *A. fabatum* 4 *M* және *K. marxianus* 19) көмегімен ашытылған термоөңделген сүтпен алдын ала инкубацияланған, содан кейін *C. albicans* егілген, Сасо-2 жасушалары; 10 - йогурттың коммерциялық ашытқы аралас культураларымен *L. plantarum* L244 және *S. harbinensis* L172 ашытылған сүтпен алдын ала инкубацияланған, содан кейін *C. albicans* егілген Сасо-2 жасушалары; 11 - С2 консорциумы (*L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3, *L. paracasei* 33-4, *A. fabatum* 4 *M* және *K. marxianus* 19) көмегімен ашытылған термоөңделген сүтпен алдын ала инкубацияланған, содан кейін *C. albicans* егілген, Сасо-2 жасушалары. Әр түрлі әріптері бар орташа мәндер HSD сынағына сәйкес айтарлықтай ерекшеленеді ($p < 0.05$).

Сурет 19 - *C. albicans*-ты инокуляциялаудан кейінгі Сасо-2 клетка культурасында 6 (а) және 24 сағаттан кейін (b) ашыған сүттің *Candida albicans*-қа қарсы белсенділігі (10^6 КТБ/мл концентрациясында)

C. albicans инокуляциясынан 6 сағат өткен соң, тек *C. albicans*-пен талдауда ЛДГ қатынасының айтарлықтай өсуі байқалды, ал ашытылған сүтпен алдын-ала инкубацияны қамтитын барлық талдаулар үшін ЛДГ арақатынасында бақылаумен салыстырғанда айтарлықтай айырмашылықтар байқалмады. Күтілгендей, лизис ерітіндісімен өңделген Сасо-2 клеткаларына ЛДГ қатынасы орташа есеппен 3,2 жоғары болды. Керісінше, коммерциялық ашытқы йогурт дақылдарын (термиялық өңделген немесе өңделмеген) қолдана отырып ашытылған сүтпен инкубацияланған кезде, 24 сағаттан кейін Сасо-2 клеткалары үшін ЛДГ қатынасы едәуір артты, ал басқа ал басқа тексерілген консорциумдар үшін ЛДГ коэффициенті бақылауға ұқсас болды, бұл осы ферменттелген сүтпен алдын-ала инкубациялау Сасо-2 жасушаларын *C. albicans*-дан қорғайтынын көрсетеді (Сурет 19).

Бір қызығы, термиялық өңдеуді ашытылған сүтке қолдану бұл қорғаныс әсеріне кедергі келтірмеді, тек С2 консорциумыны үшін аздап, бірақ айтарлықтай емес өсу байқалды. Сондай-ақ, диффузиялық анализде *L. plantarum* L244 және *L. harbinensis* L172 бар аралас культурамен толықтырылған коммерциялық йогурт культурасын қолдану арқылы алынған ашытылған сүт *C. albicans* -қа қатысты ешқандай ингибиторлық белсенділікті көрсетпегенін атап өткен жөн (деректер көрсетілмеген), ол Сасо-2 клеткалық культура моделінде қорғаныс әсерін көрсетеді.

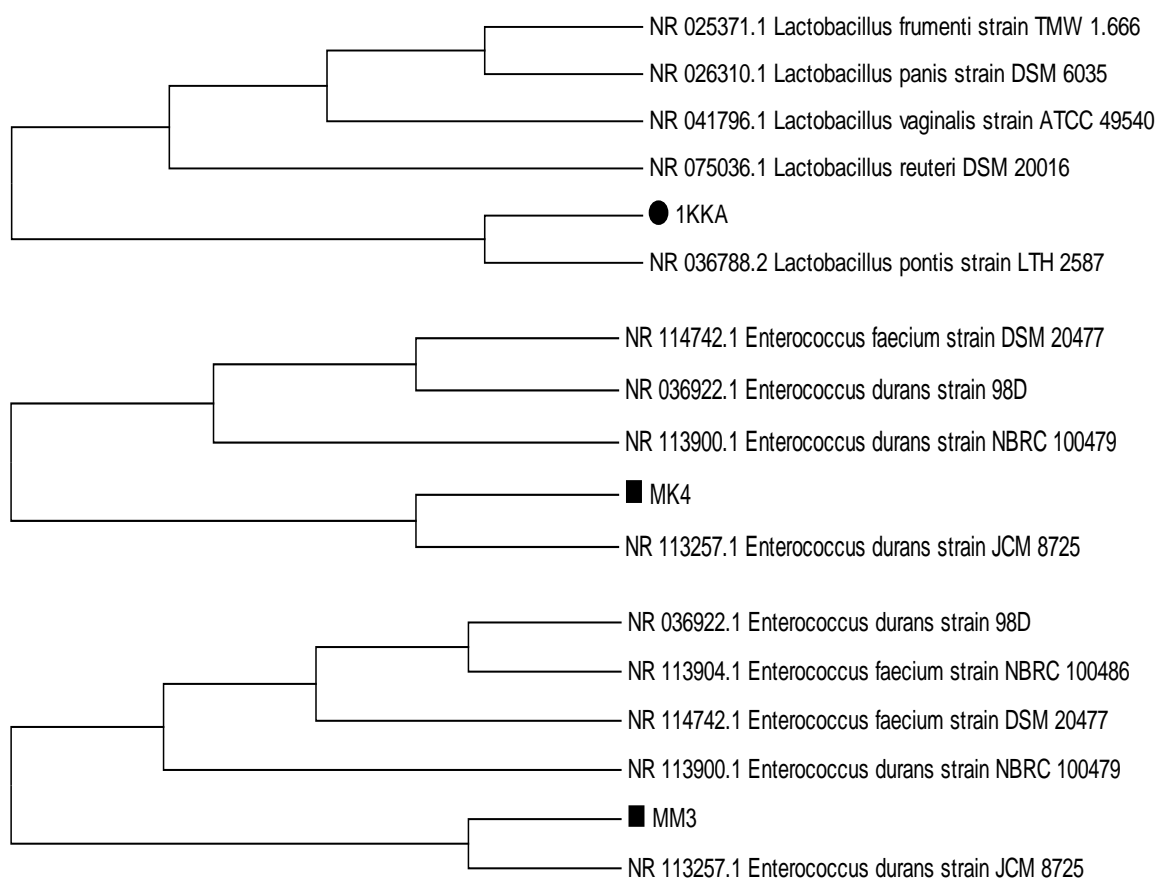
Біріншіден, ашытылған сүтпен алдын ала инкубациялау *C. albicans*-тың жасушалық мембраналық рецепторлар үшін бәсекелестікке байланысты Сасо-2 жасушаларына бекіну қабілетін төмендетуі мүмкін, бұл қоздырғыштың әсер ету механизмінің бірінші сатысы [218, 219, 220, 221]. Бұл әсер йогурттың коммерциялық культураларымен дайындалған ашытылған сүтті 6 сағат қолданнанған кейін де байқалды, бірақ бұл қорғаныш әсері 24 сағаттан кейін байқалмады, бұл басқа сыналған ашытылған сүт өнімдерінің әлдеқайда күшті әсер ететінін айқын көрсетеді. Тағы бір ықтимал түсініктеме-бұл ашыған сүтпен алдын ала инкубациялау басқа зерттеулерде бұрын байқалғандай, қожайынның қорғаныс механизмін ынталандырды [222]. Сондай-ақ, Сасо-2 жасушалары *C. albicans*-тан бұрын жуылғанына қарамастан, ашытылған сүттегі саңырауқұлақтарға қарсы қосылыстар әлі де болған және *C. albicans*-тің өсуін тежеген болуы мүмкін. Үлкен үміт күттіретін бұл алынған нәтижелердің ары қарай түсінуі үшін, *C. albicans*-тің сандық мөлшерін білу, сондай-ақ олардың Сасо-2 жасушаларына адгезиясын өлшеу және тәжірибе кезінде Сасо-2 жасушалары бөлетін интерлейкиндерді өлшеу қызықты болар еді.

3.7 Іріктелген микроорганизмдердің асқазан-ішек жолының индигендік микрофлорасына әсерін анықтау

Өндіріске енгізуге дайындалған KG-3V консорциумының адам ішегінің индигендік микрофлорасының негізгі өкілдеріне әсері зерттелді: сүт қышқылды бактериялар, бифидобактериялар, ішек таяқшалары. Ол үшін сау адамдардың нәжісі мен пробиотиктер препараттарының үлгілерінен адам ішегінің индигендік микрофлорасының өкілдері бөлініп алынды.

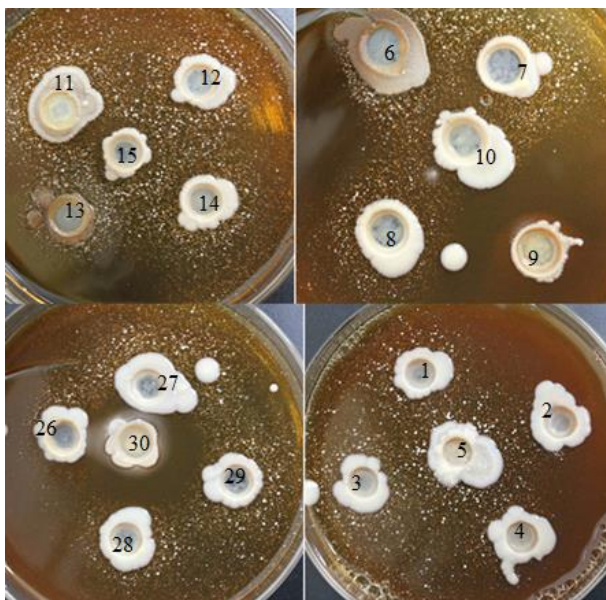
Нәжістен бөлініп алынған сүтқышқылды бактериялары *Enterococcus durans* (жақын штамымен гомология дәрежесі 100%) және *L. pontis* (жақын штамымен гомология дәрежесі 98,71%) ретінде сәйкестендірілді. Бактериялардың ішек изоляттарының филогенетикалық тармағы 20 -суретте берілген. Пробиотик препараттарынан *L. acidophilus* (Линекс), *L. acidophilus* (К), *L. acidophilus* (Макселин), *Enterococcus faecium* (Линекс), *Escherichia coli* (Колибактерин) алынды.

Сүтқышқылды бактерияларының нәжістен және пробиотикалық препараттардан бөлінген индигендік сүтқышқылды бактерияларына әсерін зерттеу кезінде, *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. paracasei* 33-4, *L. parabuchneri* 3 секілді антагонистік белсенді бактериоцин түзетін лактобациллалар, индигендік лактобациллалар мен энтерококктардың өсуін тежейтіні анықталды. Алайда, сиыр сүтінде консорциум микроорганизмдерін өсіру кезінде *L. acidophilus* өсуінің тежелуі айқын болмады. Барлық антагонистік белсенді сүт қышқылы бактериялары *E. faecium* және *E. durans* энтерококктарының өсуін тежеді. Сүтқышқылды бактерияларының әр түрлі изоляттарының индигендік сүт қышқылы бактерияларына әсерін зерттеу кезінде, бактериоциндер түзбейтін сүт қышқылы бактерияларының изоляттары индигендік сүтқышқылды бактерияларына әсер етпейтіні анықталды.



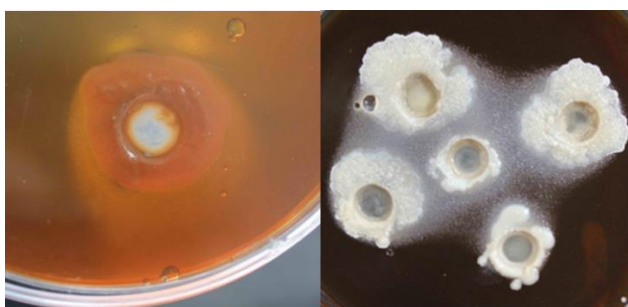
Сурет 20 - Индигендік микрофлораның өкілдері болып табылатын сүтқышқылды бактериялардың филогенетикалық тармақтары

Сүтқышқылды бактериялар мен лактоза ыдыратушы ашытқыларды бірлесіп өсірген кезде, сүтқышқылды индигенді микрофлораның өсуіне әсері, сүтқышқылды бактерияларында айқын антагонистік белсенділіктің болуына байланысты әртүрлі болды (Сурет 21). *L. pontis*-тің өсуін сүтқышқылды бактериялар тежеген жағдайда, ассоциациясының құрамында ашытқы микроорганизмдердің болуы *L. pontis*-тің ұяшық айналасында өмір сүруіне және өсуіне ықпал етті (Сурет 22, №9, №30 ассоциациялар).



Ескерту: 1-15, 26-30 - лактозаыдыратқыш ашытқысы әртүрлі изоляттарының *Kluyveromyces.marxianus* 19 лактоза ыдыратушы ашытқысы бар сүтқышқылды бактериялар изоляттарының ассоциациясы

Сурет 21 - Сүтқышқылды бактериялар мен лактоза ыдыратушы ашытқылар ассоциацияларының *Lactobacillus. pontis*-ке әсері



Ескерту - сол жақта: газон- *E. faecium*, ұяшық - *K. marxianus* 19; оң жақта: газон - *E. durans*, ұяшық - *K. marxianus* 19 айқын бактерияға қарсы белсенділігі жоқ сүтқышқылды бактерияларының әртүрлі изоляттары бар ассоциацияларда

Сурет 22 – *Kluyveromyces marxianus* 19 – дың энтерококкаларға әсері

Консорциум құрамындағы *K. marxianus* 19 лактозаны ыдыратушы

ашытқысы, барлық индигендік сүтқышқылды және анағұрлым айқын энтерококктардың өсуін ынталандырды (Сурет 21). Ұяшықтарға лактоза ыдыратушы ашытқылар мен бактериоциндер түзбейтін сүтқышқылды бактерияларын енгізген кезде, энтерококктар ұяшықтарға жақын қоректік орта бетінде және олардың арасында тығыз қабатта өсті, дегенмен бұл микроорганизмдер бақылауда агар бетінде өспеді.

Зерттеулер көрсеткендей, лактоза ыдыратушы ашытқылар барлық сүт қышқылды бактерияларының өсуін ынталандырады және антагонистік белсенді заттарға қатысында олардың тіршілігіне ықпал етеді, бірақ бифидобактериялар мен ішек таяқшаларының өсуіне әсер етпейді.

Сүтқышқылды бактерияларының *E. coli*-ге әсері екі жақты болды: ұяшыққа жақын жерде *E. coli*-нің өсуі ішінара басылды, осы аймақтан тыс жерлерде ынталандырылды. Пропион қышқылы бактериялары *E. coli* өсуін аздап тежеді, сонымен қатар тежеу аймағынан тыс жерлерде оны белгілі бір дәрежеде ынталандырады. *P. freudenreichii subsp. shermanii* пропион қышқылы бактериясы "Макселин" пробиотигінің *L. acidophilus*-қа және *S. boulardii* пробиотикалық ашытқысына ынталандыру әсерін көрсетті, бифидобактерияларға әсері болмады.

Сірке қышқылды бактериялар MRS ортасында бифидобактериялардың өсуін ынталандырды. Анаэробты агармен MRS ортасының қоспасы жағдайында зерттеу кезінде сүт қышқылды бактерияларының әртүрлі штамдары бифидобактериялардың өсуін ынталандыратыны анықталды. Бір қызығы, бифидобактериялар үшін қолайлы ортада (*Bifidobacterium* агар) тәжірибе жүргізу кезінде шартты патогенді микрофлораға қатысты антагонистік белсенді барлық сүтқышқылды бактериялар, *B. bifidum*-ның да өсуін тежеді.

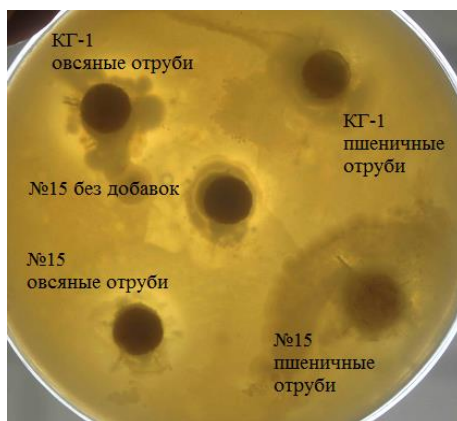
Осылайша, консорциумның жекелеген компоненттерінің әсері консорциум компоненттерінің де, индигендік микрофлора өкілдерінің де таксономиялық жағдайына, сондай-ақ тәжірибе жүргізу ортасына байланысты екені көрсетілді. Консорциум мен индигендік сүтқышқылды бактериялар мен бифидобактериялар арасында антагонизмнің көрінісі байқалды. Алайда, индигендік микрофлораның өкілдері үшін қолайсыз жағдайларда сүтқышқылды бактериялар олардың өсуін ынталандырды. Лактоза ыдыратушы ашытқы барлық сүтқышқылды бактериялардың өсуіне ықпал етті.

Алынған нәтижелер индигендік микрофлораға оң әсер ету үшін, әртүрлі таксономиялық жағдайдағы консорциумның микроорганизмдердің үйлестіру қажет екенін көрсетеді. Іріктелген микроорганизмдер консорциумының индигендік лакто - және бифидобактерияларға әсері, сүт қышқылды бактерияларының таза культураларының әсеріне қарағанда айқын емес болды, өсуді тежеу аймақтары түссіздеу болды және жиектері азырақ айқын болды.

Антагонизмді бейтараптандыру және сұлы және бидай кебегі түріндегі пребиотикалық қоспаларды өсіру ортасына енгізу арқылы іріктелген консорциумның қалыпты флорасын ынталандыру белсенділігін арттыру мүмкіндігі зерттелді. Бұл тәжірибені жүргізу ортасына байланысты болды. 1%

сұлы кебегі қосылған сүтте сүтқышқылды бактериялардың таза дақылдарының консорциум құраушыларын культивациялау және анаэробты MRS агар ортасында тәжірибе жүргізу кезінде бифидобактериялардың өсуіне оң әсер еткен жоқ. 1% бидай кебегі қосылған сүттегі консорциум микроорганизмдерін өсіру сүтқышқылды бактериялар мен *B. bifidum* жеке культураларының өзара байланысына әсер етпеді, бірақ консорциумның екі нұсқасының бифидофлорасын ынталандыратын белсенділігін 23-31% арттырды. *Bifidobacterium* – ге эксперимент жүргізу кезінде, 1% бидай кебегі қосылған сүтте өсіру *B. bifidum* өсу аймағын сүтқышқылды бактерияларының алты культурасының үшеуімен 10-25% - ға және №15 консорциуммен 15% - ға азайтты.

2% бидай кебегі қосылған сүтте өсіру КГ-1 консорциумының бифидобактериялардың өсуін тежеуін 12-20%-ға азайтты. №15 консорциумның бифидобактерияларды тежеуі ұяшықтарға жақын жерде *B. bifidum* өсуін ынталандыру аймақтары пайда болғанға дейін жоғалып кетті (сурет 23).



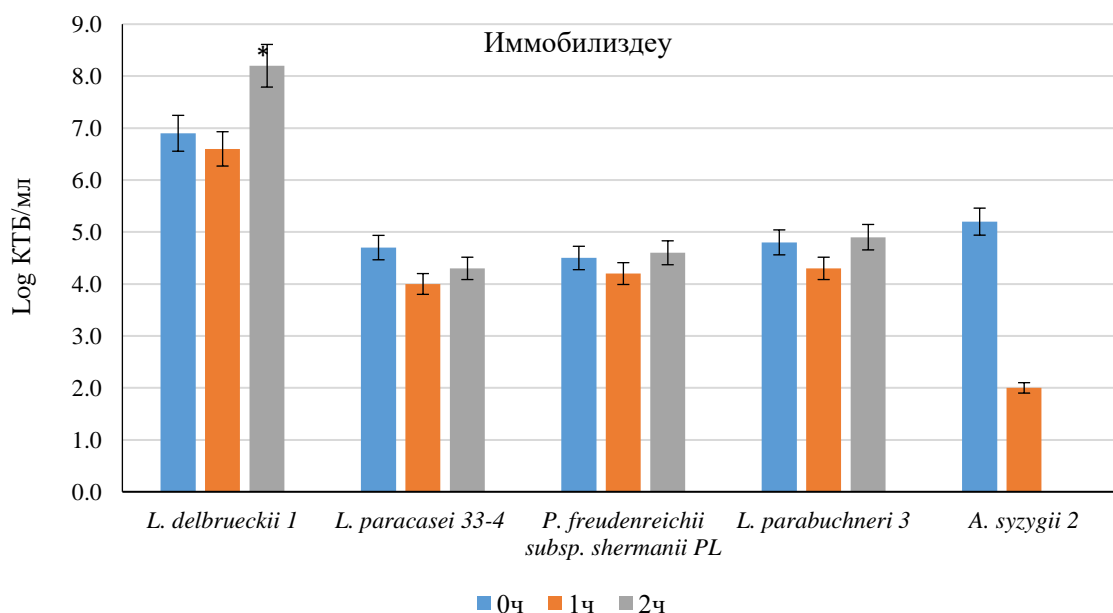
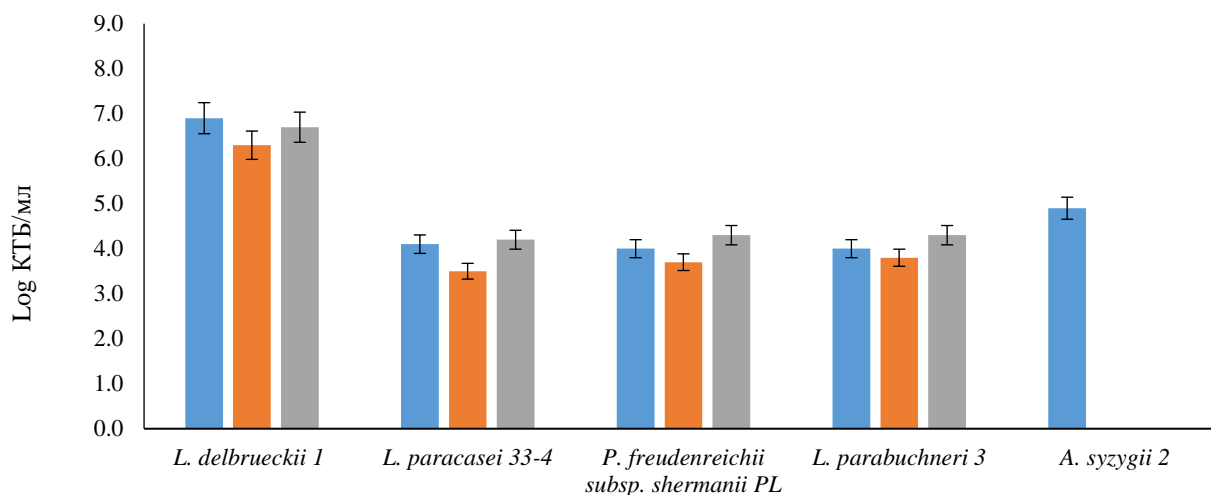
Сурет 23 - 2% сұлы немесе бидай кебегі қосылған сүтте өсіру кезінде КГ-3V (КГ-1) және № 15 консорциум нұсқаларының *Bifidobacterium. bifidum*-ға (*Bifidobacterium agar*) әсері

Бидай кебегі түрінде өсімдік талшықтарын қосымша енгізе отырып, сүт қышқылды бактериялар, лактоза ыдыратқыш ашытқылар, сірке қышқылды бактериялар және пропион қышқылды бактериялар консорциумының құрамындағы әр түрлі физиологиялық топтар мен таксономиялық тиістіліктегі микроорганизмдердің үйлесуі тоқ ішектің индигендік микрофлорасының негізгі өкілдері болып табылатын бифидобактериялардың өсуіне пайдалы әсер етеді.

Осылайша, жұмыстың осы бөлімін орындау нәтижесінде, жасалған консорциумның адамның асқазан-ішек жолдарының нормофлорасына әсері анықталды және нормофлораны ынталандыратын белсенділік артты. Ынталандырушы белсенділікті арттыруға микроорганизмдердің консорциум құрамында метаболизмнің әртүрлі түрлерімен біріктіру арқылы да, тазартылмаған диеталық талшықтар түрінде пребиотикалық қоспаларды

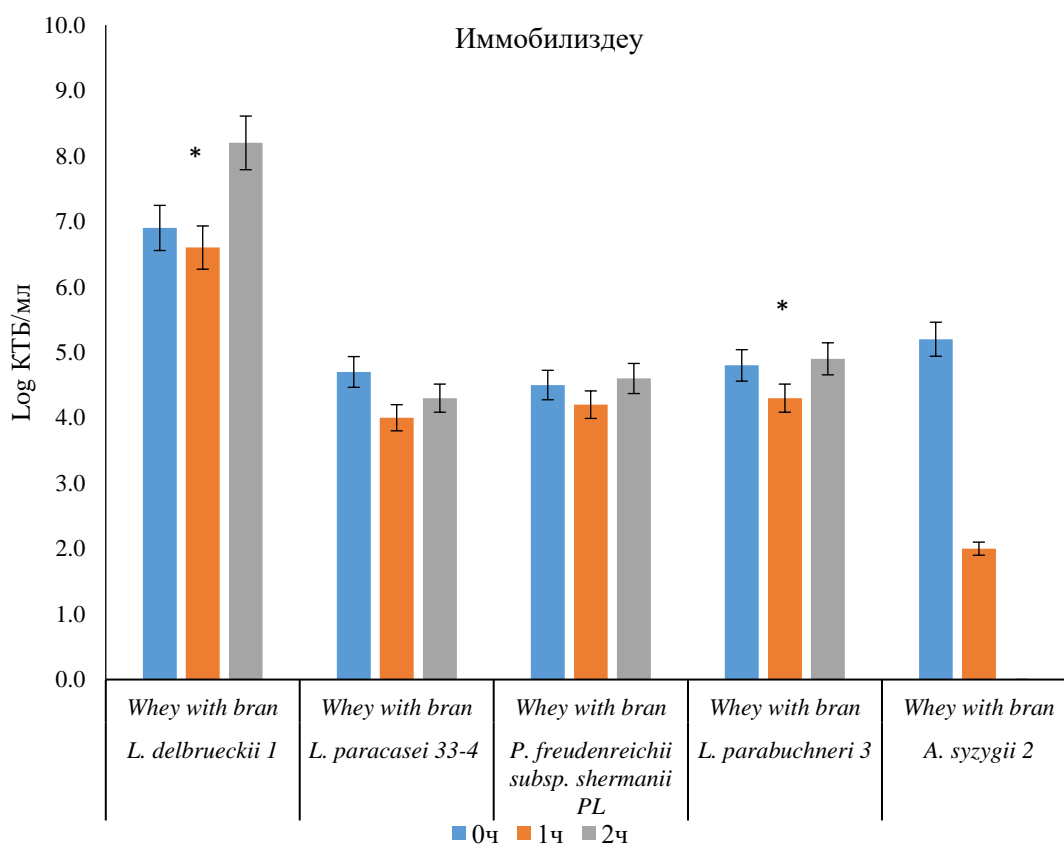
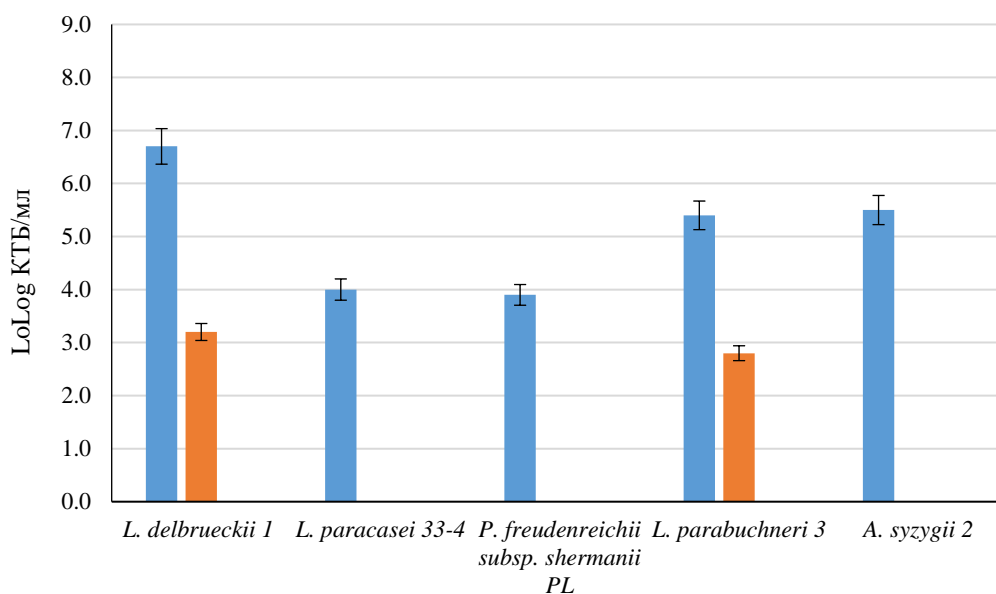
енгізу арқылы да қол жеткізіледі.

Таңдалған микроорганизмдердің адамның асқазан-ішек жолдарының агрессивті ішкі ортасына төзімділігін арттыру. Консорциум микроорганизмдерінің асқазан сөлінде және жоғары өт концентрациясында өміршеңдігін арттыру үшін бидай кебегіне физикалық иммобилизациялау жүргізілді. Консорциумды құрайтын культуралар ортаның төмен рН мәндеріне әр түрлі дәрежеде тұрақты екені анықталды (Сурет 24, 25).



Ескерту - бос және иммобилизацияланған клеткалардың статистикалық маңызды айырмашылықтары ($p \leq 0,05$).

Сурет 24 - рН 3,0 кезінде №15 консорциум культураларын өміршеңдігіне бидай кебегіне иммобилизациялаудың әсері



Консорциум микроорганизмдерін рН 3,0 жайдайында, 1-2 сағат бойы ұстаған кезде сүтқышқылды бактериялардың КТБ/мл саны бір қатардан аспайтындай төмендеді.

* Ескерту - бос және иммобилизацияланған клеткалардың статистикалық маңызды айырмашылықтары ($p \leq 0,05$).

Сурет 25 - рН 2,0 кезінде №15 консорциум культураларының өміршеңдігіне бидай кебегіне иммобилизациялаудың әсері

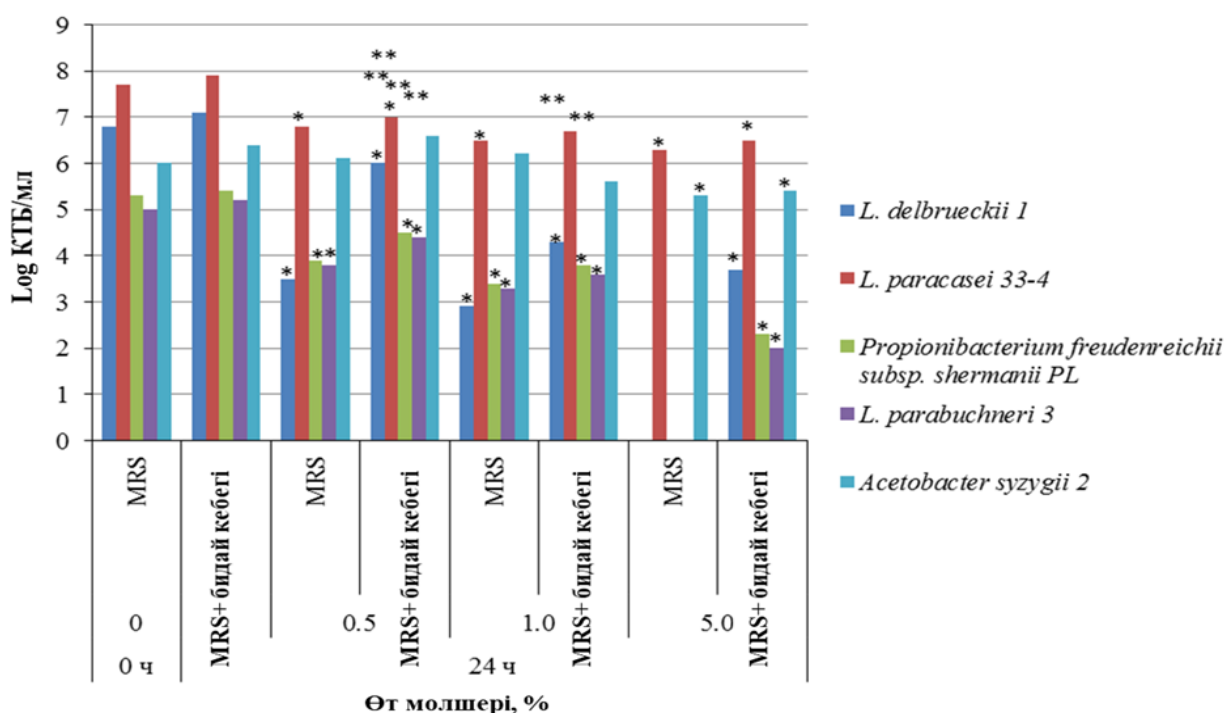
pH төмендеуіне ең төзімді *L. delbrueckii* 5 және *L. parabuchneri* 3, ең төзімділігі аз – *A. syzygii* 2. Бидай кебегін қосу, сарысуда өсіру кезінде консорциумның микробтық әртүрлілігін сақтауға да ықпал ететіні көрсетілген.

Бидай кебегіндегі иммобилизация pH 3,0 кезінде *L. delbrueckii* -нің өміршеңдігін 1 сағаттан кейін екі есе арттырды, ал 2 сағаттан кейін себу кезіндегі КТБ/мл мөлшеріне қатысты екі қатарға жоғары клетка өсуі байқалды. Бидай кебегін енгізу pH 3,0-де тәжірибе жүргізу кезінде бір сағаттан кейін сірке қышқылы бактерияларының ішінара өмір сүруіне ықпал етті. Бидай кебегі қосылған сарысуда өсіруде, pH 3,0 болған жағдайда консорциум микроорганизмдерінің өміршеңдігі кебек қоспаған микроорганизмдердің өміршеңдігімен салыстырғанда 2,2-3,6 есе артады.

Бидай кебегі бар ортада алдын-ала өсіру *L. delbrueckii*, *L. gallinarum* және *L. parabuchneri*-нің өміршеңдігін pH 2,0 кезде тәжірибе жүргізуден бір сағаттан кейін консорциум құрамындағы сірке қышқылды бактерияларын бақылау және сақтаумен салыстырғанда 3,5 есе арттырды.

Консорциум микроорганизмдерінің өт қатысында өміршеңдігін зерттеуде, ашытқы микроорганизмдері өтке жоғары төзімділік көрсетті.

Консорциумның бактериялық микроорганизмдерінің өміршеңдік деңгейі 5% өт қосылған MRS-те бір тәулік ішінде ұсталған кезде үш ретке төмендеді (сурет 26).



Ескерту – * P≤0,05, ** P≤0,01 мәндер арасындағы айырмашылық кезінде анық.

Сурет 26 – KG-3V консорциумының кебекке иммобилизациясының өттің жоғары концентрациясы кезінде өміршеңдігіне әсері

Ортаға бидай кебегінің 3% енгізілген кезде консорциум микроорганизмдерінің өмір сүру деңгейі жоғарылады. Сонымен, ортада өт мөлшері 0,5% болған жағдайда, консорциумның бактериялық микроорганизмдері екі деңгейге қысқарды, ал бидай кебегі қосылған ортада өзгеріссіз қалды. 1,0% және 5,0% өт қосылған ортада бактериялық микроорганизмдердің саны бақылауда екі деңгейге және бидай кебегі бар ортада өсіру кезінде бір ғана деңгейге азайды.

Осылайша, өсімдік қоспалары мен диеталық талшықтарды таңдау, адамның асқазан-ішек жолдарының модельдік жағдайында консорциум микроорганизмдерінің өмір сүруін арттыруға мүмкіндік береді. Өттің құрамына байланысты микроорганизмдердің тіршілік етуі 3% мөлшерінде бидай кебегі бар сүт сарысуында бір-екі ретке артады. Бидай кебегін қосқандағы асқазан-ішек жолының модельдік жағдайларында консорциумның өмір сүру деңгейі рН 3,0 кезінде бақылаумен салыстырғанда 2,2-3,6 есе және рН 2,0 кезінде 3,5 есе артты. Бидай кебектерінде қымыздан бөлінген *L. paracasei* 4m-2b, *L. fermentum* A15, *K. marxianus* 4Ma, *A. fabarium* 4-4M антагонистік белсенді микроорганизмдердің иммобилизациясы олардың қышқыл және өт стресстері жағдайында да өмір сүруін арттыратыны көрсетілген.

Ағымдағы нәтижелер күйзеліс жағдайындағы стартерлік микроорганизмдердің өміршеңдігі және стартердің микробтық әртүрлілігін сақтау туралы деректерді одан әрі талдау үшін өте маңызды. Сонымен қатар, бұл нәтижелерді ішек микробиотасының метагеномикалық зерттеулерін қолдана отырып, дені сау адамдарда анықталған микробтық таксонға негізделген жаңа буын пробиотиктерін [223] дамытуда қолдануға болады.

3.8 Алынған өнімнің *Candida* туысының шартты патогенді ашытқыларына қатысты антагонистік белсенділігін арттыру және биологиялық белсенді заттармен байыту арқылы саңырауқұлаққа қарсы әсері бар сарысу негізінде жаңа функционалды сүтқышқылды сусындар алу

8 – кестеде келтірілген мәліметтерден көріп отырғанымыздай, А. 6, А. 7, 13-16 нұсқалары шартты-патогендік ашытқыларға қатысты ең жоғары антагонистік белсенділікті көрсетті. 2% және 3% бидай кебегі қосылған сарысудағы ассоциациялардың таңдалған нұсқаларын одан әрі өсіру, индигендік микрофлораға жағымды әсер етті. Қышқылды стресс пен өт қышқылдарының қатысында іріктелген микроорганизмдердің өміршеңдігін арттыруға ықпал етті, және ең жақсы органолептикалық көрсеткіштермен сипатталатын консорциумдардың нұсқаларын таңдауға мүмкіндік берді: КГ-3V (*L. delbrueckii* 5, *L. paracasei* 33-4, *P. freudenreichii* subsp. *shermanii* PL, *A. fabarium* 4-4M) және А6 (*L. paracasei* 4m-2b, *L. fermentum* A15, *K. marxianus* 4MA, *A. fabarium* 4-4M). Зерттеу нәтижелері бойынша 2 % бидай кебегінің органолептикалық көрсеткіштері үшін оңтайлы концентрациясы таңдалды.

Сусынның рецептін әзірлеудің бірінші кезеңінде сүтқышқылды микроорганизмдерінің *Candida*-ға қарсы белсенділігін арттыруға ықпал ететін өсімдік қоспалары 2% бидай кебегі бар сарысуға енгізілді: таңқурай, бидай, маш, кардамон, даршын, зімбір. Алынған сусындардың антагонистік белсенділігі мен органолептикалық көрсеткіштері 8 кестеде келтірілген.

Зерттеу нәтижелері 1% таңқурай, маш және кардамон енгізілген кезде сусындардың антагонистік белсенділігі жоғарылағанын көрсетті. Бидай тек *Candida* туысының дақылдарына қатысты антагонизмді арттырды. КГ-3V ассоциациясының антагонизмін таңқурай мен кардамон қоспалары арттырды. Алайда, синбиотикалық сусындардың органолептикалық көрсеткіштері таңқурай мен бидай қолданған кезде ғана жоғары болды. 1% мөлшерде татымды дәмдеуіштерді (зімбір, даршын, кардамон) қосу сусындарға тым көп болды.

Кесте 8 - Өсімдік қоспаларының *Candida* туысы ашытқыларына қатысты Аб ассоциациясының органолептикалық көрсеткіштеріне және саңырауқұлақтарға қарсы белсенділігіне әсері

№	Қоспа, 1%	Өсуді тежеу аймағының диаметрі, мм				Органолептикалық көрсеткіштер	
		<i>C. albicans</i>		<i>Candida</i> sp.		10 балдық шкала бойынша	сипаттамасы
		K13	514	KNT-2	KNT-3		
1	-	17,5±0,5	15,5±0,5	17,5±0,5	19,0±1,0	8	Қышқыл, жағымды иісі бар
1	Таңқурай	22,5±0,5	21,5±0,5	20,5±1,0	21,5±0,5	9	Таңқурайдың әлсіз дәмі, түсі өзгермейді
2	Маш	21,0±1,0	19,0±1,0	19,0±2,0	24,0±2,0	4	Дәмі ерекше, айқын иісі бар
3	Бидай	21,0±1,0	18,0±1,0	14,5±1,5	15,5±0,5	10	Жағымды, саны жеткілікті, тәтті емес
4	Кардамон	21,5±1,5	22,0±1,0	19,0±1,0	23,5±0,5	2	Өте өткір, аздап жағымсыз
5	Даршын	15,5±0,5	17,5±0,5	13,5±0,5	21,0±2,0	3	Сусынның қышқылдығын басады, бірақ дәмі өткір және жағымсыз
6	Зімбір	18,5±0,5	16,5±0,5	18,0±2,0	21,5±0,5	2	Қатты иісі бар өткір жағымсыз

Сондықтан, одан әрі тәжірибелер үшін тек кардамон таңдалды, ол ашытқының саңырауқұлақтарға белсенділігін едәуір арттырды және оның мөлшері 0,1% дейін азайды. Таңқурайдың мөлшері 5% және 7% дейін арттырылды. Сондай - ақ, сарысуға 2% мөлшерінде қант қосылды (таңқурай

мөлшері 3% болған нұсқада). Сондай-ақ, медицинада инфекцияға қарсы, оның ішінде саңырауқұлақтарға қарсы агент ретінде қолданылатын розмарин мен куркума қоспаларының сусынның дәмі мен антагонизміне әсері зерттелді. Алайда, олар антагонистік белсенділікке айтарлықтай әсер еткен жоқ. Сусындарды іріктеудің келесі кезеңінің нәтижелері 8-кестеде келтірілген.

Таңқурайдың 7% мөлшеріндегі құрамы сусындардың антагонизміне жағымды әсер еткені, *Candida*-ға қарсы белсенділікті 12-30% арттыратыны атап өтілді. Алайда, таңқурайдың төмен концентрациясы сусынның органолептикалық көрсеткіштері (дәмі, түсі, иісі) үшін оңтайлы болды. 5% таңқурай мен 1% тары қосылған сусындардың дәмі нәзік және жағымды болды. *Candida* туысының ашытқысының өсуін тежейтін аймақтар А6 ассоциациясын қолданған кезде кеңірек болды. Сондықтан, бұл ассоциация сусын формуласын одан әрі дамыту үшін таңдалды. Дегенмен, бірқатар сусындарда өткір ашытқы иісі мен дәмі байқалды. Сондықтан ашытқы мен ашытқы жоқ жағдайда А6 ассоциациясы негізінде ашытқыны қолданған кезде органолептикалық көрсеткіштер мен сусындардың әртүрлі нұсқаларының антагонизмі туралы салыстырмалы зерттеу жүргізілді. Сондай-ақ бие, түйе және сиыр сүті қоспаларының сусын көрсеткіштеріне әсері анықталды (кесте 9). *S. albicans* В514 қынап изолятының өсуінің тежелуі енгізілген қоспаларға байланысты ашытқысы бар сусындарда 29-79%-ға айқынырақ болды. Ұйытқы құрамындағы ашытқылардың *Candida* ішек изоляттарын тежеуге әсері аз болды, тек кейбір жағдайларда ұйытқы ашытқы болған кезде антагонизм төмен болды.

Зерттеу нәтижелері бойынша *L. paracasei* 4m-2b, *L. fermentum* А15, *K. marxianus* 4МА және *A. fabarium* 4-4М ассоциациясы негізінде шартты патогенді ашытқылардың өсуін тежейтін сусынның рецептурасы жасалды. Бұл жағдайда алынған сусынның жұмсақ және нәзік дәмі бар.

Сусынның рецепті: Сарысу – 650 мл, бие сүті 200 мл, ашытқы – 50 мл, таңқурай 50 г, қант – 20 г, бидай кебегі 20 г, тары 10 г. Барлық ингредиенттер араластырылып, 35-37°C температурада 16-20 сағат ішінде мезгіл-мезгіл қышқылдығы 70-90°Т болғанға дейін араластырылады, салқындатылады және бөтелкеге құйылады. Дайын сусынның сипаттамасы: дәмі-жағымды сүтқышқылды, таңқурай дәмі мен хош иісі бар, сергітетін. Консистенциясы - ұсақ қауыздары бар, аздаған тұнбасы және кебек, бидай және жидек түйіршіктері бар. Түсі бозғылт қызғылт. Сусынның қышқылдығы 70-90 ° Т. Сақтау температурасы 10° С аспайды. Сусынның антагонистік белсенділігі 11 кестеде келтірілген. Сусын бие сүтін қоспай-ақ жасалуы мүмкін. *Сусынды дайындауға арналған рецепт:* Сарысу – 900 мл, ашытқы – 50 мл, қант – 20 г, бидай кебегі 20 г, тары 10 г. Дайын сусынның сипаттамасы: дәмі – жағымды, квас дәмі бар, сүтқышқылды. Иісі жағымды, сүтқышқылды, әлсіз алкогольді. Ашытқысыз ұйытқыны қолданған кезде сусын жұмсақ дәммен сипатталады, алкоголь қоспасы жоқ. Консистенциясы - ұсақ үлпектері, аздап тұнбасы бар және кебек пен бидай түйіршіктері бар. Түсі сарғыш-ақ. Сусынның қышқылдығы 70-90°Т.

Кесте 9 - Бидай кебегі қосылған сарысу негізіндегі синбиотикалық сусындардың *Candida*-ға қарсы белсенділігі мен дәмдік көрсеткіштеріне әртүрлі өсімдік қоспаларының әсері

Қоспалар нұсқасы	Мөлшері, %	<i>Candida</i> туысының ашытқыларының өсуін тежейтін аймағы, мм							
		А6 ассоциация негізіндегі ұйытқы				КГ-3V ассоциация негізіндегі ұйытқы			
		Антагонисттік белсенділік, мм			Органолептикалық көрсеткіштер	Антагонисттік белсенділік, мм			Органолептикалық көрсеткіштер
		<i>C. albicans</i> K13	<i>C. albicans</i> B 514	<i>Candida</i> sp. KNT-2		<i>C. albicans</i> K13	<i>C. albicans</i> B 514	<i>Candida</i> sp. KNT-2	
Бақылау	-	15,5±0,5 (31,0±1,0)	16,5±0,5	21,5±0,5 (24,0±1,0)	Жағымды, қышқыл-тәтті, нәзік, сарысудың дәмі бар	13,0±0 (33,0±3,0)	15±0	17±0,5	Жағымды, қышқыл, біртекті
Бидай	1	20,0±0,5 (30,0±0,5)	17,5±0,5	32,5±2,5 (39,5±0,5)	Нәзік, жағымды, қышқыл-тәтті	12,0±0 (36,0±4,0)	13,5±0,5	20±1,0	Бақылауға қарағанда қышқылы аз, жағымды хош иісі бар
Розмарин	0,1	14,5±0,5 (33,±1,5)	16,0±1,0	24,5±0,5 (33,5±0,5)	Өткір ашытқы дәмі, жағымды емес, розмариннің артық дәмі бар	15±1,0 (35,0±2,0)	15±0	17,5±0,5	Белгілі бір иісі бар, айқын шөп дәмі
Кардамон	0,1	15,5±0,5 (30,5±0,5)	16,0±1,0	30,0±1,0 (29,0±1,0)	Қышқылдау, қышқыл-ашытқы иісі	15±0 (36,5±3,5)	15±0	21±1,0	Өткір иісі бар, дәмі қышқылдықты бұзады
Таңқурай	5	16,5±0,5 (39,0±1,0)	16,5±0,5	25,5±0,5 (25,5±0,5)	Өткір, қышқыл, бозғылт - қызғылт	16±0,5 (37,5±2,5)	18±1,0	19,5±0,5	Орташа қышқыл, түсі қызғылт
Таңқурай	7	17,5±0,5 (33,5±0,5)	18,5±0,5	28,0±1,0 (29,5±1,0)	Аздап өткір, тәтті, таңқурай артықтау	16±0,5 (37,5±2,5)	18±1,0	19,5±0,5	Бозғылт - қызғылт, тәтті

Ескерту: жақшада *C. albicans* өсуін ішінара тежеу аймақтары көрсетілген

Кесте 10 - Ашытқымен және ашытқыны қолданбай дайындалған синбиотикалық сусындардың антагонизміне әртүрлі сүт түрлерінің әсері

№	Қоспала р нұсқасы	Қоспа мөлше рі, %	Ұйытқ ыда ашытқ ының болуы	Тест-культураларының өсуін тежеу аймақтары, мм										Органолептикалық көрсеткіштер	
				<i>E. coli</i>	<i>M. citreum</i>	<i>Sar. flava</i>	<i>S. enterica</i> Serotype Dublin	<i>Candida albicans</i> K13	<i>Candida albicans</i> B514	<i>Candida</i> sp. KNT-2	<i>A. niger</i>	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp. 4	Дәмі мен иісі	Бағала у балы
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	Бақылау	-	ашытқысы жоқ	13,5±0,5	18,5±1,5	15,0±1,0	25,5±0,5	29,5±1,5	22,5±0,5	32,5±2,5	0	25,0±1,0	0	жағымды, тәтті, нәзік	5
			ашытқысы бар	15,5±0,5	19,5±1,0	20,5±0,5	19,5±0,5	29,0±1,0	31,0±1,0	34,0±1,0	15,5±0,5	23,5±0,5	23,5±0,5	5	қышқыл, өткір, ашытқы
2	бидай таңқура й бие сүті	1 5 20	ашытқысы жоқ	15,5±0,5	17,0±1,0	17,5±0,5	28,5±0,5	23,5±0,5	19,0±1,0	31,5±1,5	0	24,0±1,0	0	жағымды, қышқыл емес және дәмді емес, нәзік	5
			ашытқысы бар	12,5±0,5	23,0±1,0	21,5±0,5	20,0±1,0	23,5±1,5	29,0±1,0	25,5±0,5	12,5±0,5	19,0±1,0	19,0±1,0	0	Жағымды, ыдыратыл ған
3	бидай таңқура й түйе сүті	1 5 20	ашытқысы жоқ	17,5±0,5	16,5±0,5	17,5±0,5	29,5±0,5	22,5±0,5	16,5±0,5	23,0±2,0	0	22,5±0,5	0	Жағымды, жұмсақ қышқыл және тәтті нәзік	5
			ашытқысы бар	14,5±0,5	22,0±1,0	23,5±0,5	21,0±1,0	26,5±0,5	29,5±0,5	29,5±0,5	12,5±0,5	24,0±1,0	24,0±1,0	0	Бие сүтінен қышқылда у

10 кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
4	бидай таңқурай сиыр сүті	1 5 20	ашытқысы жоқ	15,5±0,5	19,0±1,0	16,5±1,5	26,5±0,5	21,0±1,0	21,0±1,0	34,0±1,0	0	21,5±1,5	0	жағымды, сүзбе дәмі, дәндері бар, сарысудың дәмі бар	5
			ашытқысы бар	17,5±0,5	21,5±1,5	19,5±0,5	17,5±0,5	19,0±1,0	21,0±1,0	32,5±0,5	13,0±2,0	21,5±3,5	21,5±3,5	биеге қарағанда қышқыл	2
5	бидай таңқурай	1 5	ашытқысы жоқ	12,5±0,5	18,5±0,5	15,5±0,5	30,5±0,5	21,0±1,0	19,0±1,0	34,5±0,5	0	22,5±0,5	13,5±0,5	жағымды, нәзік, тәтті	5
			ашытқысы бар	14,5±0,5	24,5±0,5	19,5±0,5	18,5±0,5	21,5±0,5	25,0±1,0	25,5±0,5	12,5±0,5	24,0±1,0	24,0±1,0	ашытқысыз қышқылдығы жоғары, өткір	1
6	Кардамон бидай	0,1 5	ашытқысы жоқ	14,5±0,5	19,5±0,5	16,5±0,5	32,5±0,5	19,5±0,5	19,0±1,0	26,0±1,0	0	19,5±0,5	12,5±0,5	тәтті, нәзік, сарысу дәмі	5
			ашытқысы бар	12,5±0,5	21,5±0,5	20,5±0,5	15,5±0,5	23,5±0,5	24,5±0,5	24,5±0,5	12,5±0,5	19,0±1,0	19,0±1,0	қышқыл, өткір, сарысудың дәмі бар	1
7	Кардамон таңқурай	0,1 5	ашытқысы жоқ	12,5±0,5	18,5±1,5	18,5±0,5	28,5±0,5	23,0±1,0	19,0±1,0	28,5±0,5	0	20,5±0,5	0	таңқурай қышқылдықты жоғарылатады	5
			ашытқысы бар	16,5±0,5	23,0±1,0	20,0±1,0	19,5±0,5	24,5±0,5	25,0±1,0	26,5±0,5	12,5±0,5	24,0±1,0	24,0±1,0	өткір, қышқыл	2
8	қуркума	0,1	ашытқысы жоқ	12,5±0,5	22,5±0,5	15,5±0,5	30,5±0,5	24,0±1,0	16,5±0,5	23,0±1,5	0	21,0±1,0	0	өткір, қышқыл	2
			ашытқысы бар	17,0±1,0	19,5±0,5	18,5±0,5	15,0±0,5	19,5±0,5	25,0±1,0	24,0±1,0	12,5±0,5	19,0±1,0	19,0±1,0	кардомонға қарағанда қышқылдығы жоғары	1

Ескерту: $P \leq 0,01$ орташа мәні үшін мәнділік деңгейі.

Сүт қоспалары негізінен сусындардың бактериялық-тесттеріне қатысты антагонизміне әсер етті, бұл бие сүтіндегі пептидтер мен ақуыздардың микробқа қарсы белсенділігінің жоғары болуының салдары болуы мүмкін [224]. Бұл әсер сүтке де, тест-культурасына да байланысты болды. Тек бие сүтінің қосылуы барлық бактериялық сынақтарға қарсы антагонистік белсенділікті 12-17%-ға арттырды. Бір қызығы, бие мен түйе сүті шартты-патогенді ашытқыға қарсы антагонизмді белгілі бір дәрежеде төмендетті. Бұл құбылыс қосымша зерттеулерді қажет етеді.

Тары, таңқурай мен бие сүті қосылған сусын ашытқыны қолданған кезде де, ашытқысыз да жақсы органолептикалық сипаттамаларды көрсетті. Осылайша, зерттеу нәтижелері бойынша 20% бие сүті, 5% таңқурай, 2% қант, 1% тары, 1% бидай кебегі қосылған сарысуды ашыту арқылы алынған сарысуға негізделген синбиотикалық сусын таңдалды.

3.9. Зең саңырауқұлақтарының өсуін тежеуге ықпал ететін сүтқышқылды сусынының рецептурасын алу

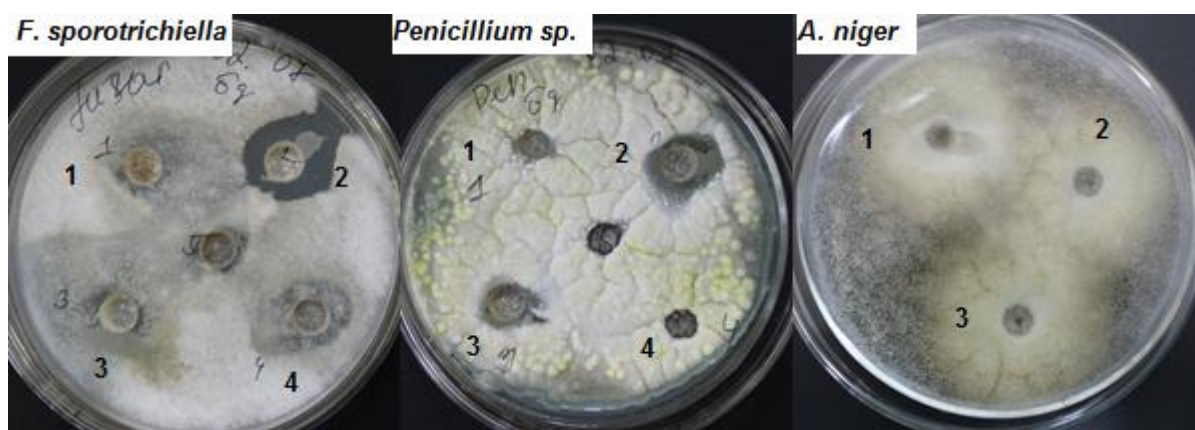
Бидай кебегі қосылған сарысуға негізделген сусындардың саңырауқұлақтарға қатысты белсенділігі мен органолептикалық көрсеткіштері анықталды. А6 ассоциациясы KG-3V-мен салыстырғанда антагонистік белсенділік бойынша жақсы нәтижелер көрсетті. *Kluyveromyces marxianus* 4MA ашытқысы бар ассоциацияны пайдалану кезінде зең саңырауқұлақтарының өсуін тежеу аймақтары олар болмаған кезде жоғары болды (Кесте 11).

Кесте 11 - Әртүрлі қоспалардың мицелиалды саңырауқұлақтарға қатысты А6 ассоциациясының саңырауқұлақтарға қарсы белсенділігіне әсері

Қоспа	Консорциум құрамы	Өсуді тежеу аймағының диаметрі, мм		
		<i>A. niger</i> *	<i>F. sporotrichiella</i>	<i>Penicillium sp.</i> 4*
Бақылау	<i>L. fermentum</i> A15, <i>L. paracasei</i> 4m-2b, <i>Kl. marxianus</i> 4MA, <i>A. fabarum</i> 4-4M	15,5±0,5	23,5±0,5	39,0±1,0
Бидай +таңқурай + бие сүті		12,5±0,5	19,0±1,0	36,5±1,5
Бидай +таңқурай + түйе сүті		12,5±0,5	24,0±1,0	42,5±2,5
Бидай +таңқурай + сиыр сүті		13,0±2,0	21,5±3,5	37,0±2,0
Бидай +таңқурай		12,5±0,5	24,0±1,0	35,5±2,5
Кардамон+бидай		12,5±0,5	19,0±1,0	37,5±2,5
Кардамон+таңқурай		12,5±0,5	24,0±1,0	40,0±0
Куркума		12,5±0,5	19,0±1,0	38,0±0
Бақылау		<i>L. fermentum</i> A15, <i>L. paracasei</i> 4m-2b, <i>A. fabarum</i> 4-4M	-	25,0±1,0
Бидай+таңқурай+ Бие сүті	-		24,0±1,0	-
Бидай +таңқурай+ түйе сүті	-		22,5±0,5	-

Бидай +таңқурай+ сиыр сүті		-	21,5±1,5	-
Бидай +таңқурай		-	22,5±0,5	13,5±0,5
Кардамон+пшено		-	19,5±0,5	12,5±0,5
Кардамон+таңқурай		-	20,5±0,5	-
Куркума		-	21,0±1,0	-
Ескерту: * спораның өсуінің кідіруі мен ауа мицелийі (5 күннен кейін өлшеу); мәнділік деңгейі P≤0,05.				

Бие сүті, бидай, таңқурай қосылған ашытылған сүт сусыны *A. niger*, *F. sporotrichiella*, *Penicillium sp*-ге қарсы жақсы белсенділік көрсетті (сурет 27).



Ескерту - Барлық сусындарда 2% бидай кебегі бар; 1 - бақылау, 2 – 20% бие сүті, 5% таңқурай, 1% бидай; 3 – 20% түйе сүті, 5% таңқурай, 1% бидай кебегі; 4 – 20% сиыр сүті, 5% таңқурай, 1% бидай.

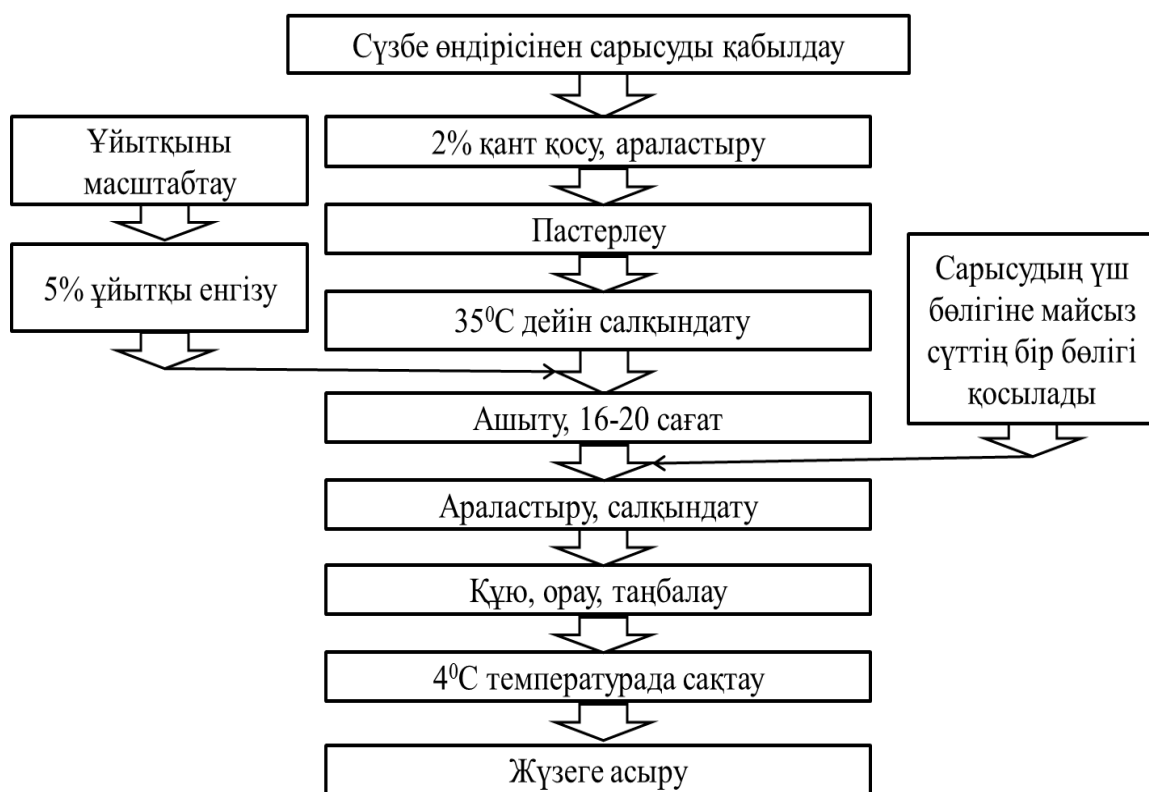
Сурет 27 - А6 ассоциациясын қолдана отырып дайындалған түрлі қоспалары бар сарысу негізіндегі сусындардың саңырауқұлақтардың өсуіне әсері

Сусынның рецепті: сарысу – 650 мл, бие сүті - 200 мл, ашытқы – 50 мл, таңқурай 50 г, қант – 20 г, бидай кебегі 20 г, бидай 10 г. Ингредиенттер араластырылып, 35-37°C температурада 16-20 сағат ішінде мезгіл-мезгіл қышқылдығы 70-90°Т болғанға дейін араластырылады, салқындатылады және бөтелкелерге құйылады. Дайын сусынның сипаттамасы: дәмі жағымды сүт қышқылды, айқын таңқурай дәмі мен иісі бар, сергітетін. Консистенциясы - ұсақ үлпектері, аздап тұнбасы және кебек, бидай, жидек түйіршіктері бар. Түсі бозғылт қызғылт. Сусынның қышқылдығы 70-90 ° Т, сақтау температурасы 10°C аспайды.

3.9.1 Сүт сарысуы негізіндегі ферменттелген сусынды дайындау технологиясын дамыту және өндіріске енгізу

КГ-3V консорциумын қолдана отырып, сүтқышқылды сусын алу рецептінің негізінде өндіріске енгізу үшін ферменттелген сусын алу әдісі жасалды.

Сүт сарысуы негізінде ферменттелген сусын дайындау әдісі KG-3V және *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. paracasei* 33-4, *L. parabuchneri* 3 сүт қышқылды бактериялардың, *A. syzygii* 2 сірке қышқылды бактериясының және *K. marxianus* 19 лактозаыдыратушы ашытқысының ассоциацияларының, сонымен қатар 2,0% қант негізінде жасалған 5% стартер ұйытқы қосуды қамтиды. Сарысуды мезгіл-мезгіл араластыра отырып, 35 °С температурада 16-20 сағат бойы ашытады, содан кейін ашытылған сарысудың үш бөлігіне майсыз сүттің бір бөлігі қосылады, араластырылады, салқындатылады және бөтелкелерге құйылады. Алынған сусын *Candida* туысының ашытқыларына және басқа шартты патогенді микроорганизмдердің кең спектріне қарсы айқын антагонизмге ие. Араластырып, салқындатып, көлемі 0,5 литрлік ПЭТ бөтелкелеріне құйылады. Төменде сүт сарысуы негізіндегі функционалды, ішуге жарамды сусын алудың технологиялық сызбасы келтірілген (Сурет 28).



Сурет 28 - Сүт сарысуы негізіндегі функционалды асханалық сусынын алудың технологиялық сызбасы

Сусынды өндіру технологиясы бес кезеңнен тұрады:

1. Зертханалық жағдайда стартер ұйытқы дақылын өндіру.

Сүт сарысуына негізделген сусын өндірісінің стартерлік (ұйытқы) дақылы *Lactobacillus delbrueckii* 5, *Lactobacillus gallinarum* 1, *Lactobacillus paracasei* 33-4, *Lactobacillus parabuchneri* 3, сүтқышқылды бактериялардың *Acetobacter syzygii* 2 сірке қышқылды бактериясының және *Kluuveromyces marxianus* 19 лактозаыдыратушы ашытқысының консорциумдарынан тұрады. Микроорганизмдер культураларын сақтау үшін майлылығы 1-1,5% болатын

сиыр сүті және құрамы келесідей болатын MRS қоректік ортасы қолданылады: г/л: декстроза 20,0; бактериологиялық пептон 10,0; ет сығындысы 8,0; натрий ацетаты 5,0; ашытқы сығындысы 4,0; K_2HPO_4 2,0; аммоний цитраты 2,0; 80 1,0 твин; магний сульфаты 0,2; марганец сульфаты 0,05; бактериологиялық агар 10,0; соңғы рН мәні $6,2 \pm 0,2$, 25 °С температурада. Ашытқылар жиналған күйде де, бөлек те сақталады. Лактозаыдыратушы ашытқылар мен сірке қышқылды бактериялар қиғаш агарда таза дақылдарда өсіріліп, сақталады.

Культуралар 1,5 айда бір рет зарарсыздандырылған сүтке және MRS ортасына қайта егіледі. жасалады. Егу жүргізу үшін орта көлемінің 10% мөлшерінде егілетін культура қолданылады. Культура 35 °С температурада 48 сағат бойы инкубацияланады. 3 айда бір рет ашытқы культуралары MRS ортасына бірқатар сұйылтулардан егіледі. 35° С температурада 3-5 күн дақылданады. Типтік морфологияның жеке колонияларынан сүтқышқылды бактериялардың жеке колония сұйық MRS ортасына егіледі, 35° С температурада 24 сағат өсіріледі, содан кейін жартылай сұйық MRS ортасына және зарарсыздандырылған сүтке егіледі. Культуралар бар шыны түтіктер тоңазытқышта 4° С температурада сақталады.

2. Өндіріс көлеміндегі масштабтау.

10 мл өндірістік ашытқы культурасы бар бір пробирканы майлылығы 1-1,5% болатын, 150 мл стерильді сүті бар колбаға егіп, 35 ° С температурада 24-48 сағат өсіреді.

Колбаның ішіндегісін (150 мл) майлылығы 1-1,5% болатын, 1,5 литр стерильді немесе пастерленген сүті бар, колбаға немесе бидонға ауыстырады. 30-35 ° С температурада ұйытқы пайда болғанға дейін 24-48 сағат ұсталады.

Алынған 1,5 л мөлшеріндегі ашытқы дақылын 150 литрлік технологиялық ыдысқа енгізіп, 24 - 48 сағат бойы 30-35 ° С температурада толық ашығанға дейін үнемі араластыра отырып, өсіреді.

3. Салқындату.

Өндіріс орындарынан бөлек алдын ала пастерленген сүт сарысуы мен қант шәрбатын араластырып, келесі кезеңге жүзеге асыру мақсатында 35 °С дейін салқындатады.

4. Сүт сарысуын ашыту

Пастерленген сарысу мен қант шәрбатының қоспасына ашытқы дақылын қосу. Ашыту процесі - бұл сүт сарысуы негізінде ферменттелген сүт сусынын дайындау.

Пастерленген және 35°С-қа дейін салқындатылған 2,0% қанты бар сүт сарысуына 5% ашытқы қосып, 28-35 °С температурада 16-20 сағат бойы араластыра отырып ашытылады, содан кейін ашытылған сарысудың үш бөлігіне майсыз сүттің бір бөлігі қосылады.

5. Араластырылады, салқындатылады және көлемі 0,5 литр ПЭТ бөтелкелеріне құйылады. Алынған сусын *Candida* туысының және басқа шартты патогенді микроорганизмдердің кең спектріне қарсы айқын антагонизмге ие болады.

Сусынның сапасын бақылау өндірістің барлық кезеңдерінде бақыланады: өндірістік ашытқы дақылының тазалығы, оның антагонистік белсенділігі, ашытқы дақылындағы тірі клеткалардың саны және алынған өнім бақыланып отырады.

Сүт сарысуы негізінде сүт қышқылды микроорганизмдер консорциумының көмегімен алынған жоғары тағамдық және биологиялық құндылығы бар отандық ашытылған сүт сусыны.

Қазақстан Республикасында ірімшік пен сүзбе өндіру кезінде жылына он мыңдаған тонна сүт сарысуы өңделмейді және толығымен дерлік ағынды суларға құйылады. Өңделмеген сарысуды тек бір ғана кәсіпорын сатады («ЗКАП Амиран» ЖШС) және дәмдік қасиеттеріне байланысты құнды тағамдық және биологиялық қасиеттеріне қарамастан халық арасында сұранысқа ие емес. Қазақстан нарығында сүт сарысуы негізінде функционалды ашытылған сүт өнімдері жоқ. Шартты патогенді және саңырауқұлақ микроорганизмдеріне қарсы антагонистикалық белсендікке ие сиыр сүтіне немесе оның екіншілік өнімдеріне негізделген ашытылған сүт өнімдері де жоқ.

Қазақстан Республикасында ірімшік пен сүзбе өндірісі қоршаған ортаны ластауына байланысты үшін ішінара айыппұлдармен шектеледі. Осы өнімдермен қамтамасыз ету Қазақстан Республикасы Ұлттық экономика министрлігі Статистика комитетінің мәліметтері бойынша шамамен 50% құрады. Energyprom.kz мониторинг агенттігінің хабарлауынша, өндіріс көлемінің ұлғаюына қарамастан, бұл саланы 40% -дан астам импорттаушылар құрайды және импортты алмастыруға мұқтаждық бар. Йогурттар мен сүт өнімдері нарығында қазақстандық өндірістің үлесі 86,7%, ірімшік пен сүзбе - 57,9% құрайды. Көптеген емдік қасиеттері бар ашытылған сүт өнімдері тұрғындар арасында үлкен сұранысқа ие. Rabobank (Нидерланды) сарапшыларының пікірінше, тұтыну олардың өзіндік құнына қарамастан табиғи, органикалық сүт өнімдеріне ауысып жатыр.

Қазіргі уақытта сүт өнімдерінің өзіндік құнының құрылымындағы шикізат үлесі 60%-дан асады, сүтті қайта өңдеу кәсіпорындарының кірісі 5% -дан аспайды. Қазақстандық сүт саласындағы осындай жағдайды ескере отырып, бұл Ресеймен салыстырғанда, Беларусьлық пен тіптен бәсекеге қабілетсіз екені анық.

Сүт сарысуы негізінде ферменттелген отандық сусын өндірудің әдісін енгізу сүт өңдеу кәсіпорындарының кірісін арттырады, сүт өнімдерінің жабық өндірістік циклын қамтамасыз етеді, сүт өңдеу өнеркәсібінің ағынды суларының көп болмауын қамтамасыз етеді және табиғи ресурстарды ұтымды пайдалануға үлесін қосады. Сонымен қатар, шартты патогенді саңырауқұлақ микроорганизмдеріне қарсы белсенділігі жоғары органолептикалық көрсеткіштері жоғары, сүт сарысуы негізінде функционалды ашытылған сусын алынады.

Өндірілетін өнімнің құрамында лактоза мен майдың төмен болуы, сиыр сүті негізінде сумен өндірілетін алмастырғыш өнімдерде құрғақ сүттің

болмауы, тұтынушылардың сұранысын арттырады және оның бәсекеге қабілеттілігін арттырады. Сүт сарысуы негізіндегі функционалды ашытылған сусын алғаш рет Қазақстан нарығына енгізіледі.

Сүт сарысуы республикада іс жүзінде сүт өндірісінің қалдықтары ретінде әрекет ететіндіктен, алынған өнім жоғары қосымша құнға ие болады. Процестің тұйықталуы және экологиялық мәселерді шешу, сүзбе мен ірімшік өндірісінің өсуіне, олармен Қазақстан Республикасының тұрғындарын қамтамасыз етілуінің артуына ықпал етеді және ірімшік-сүзбе өнімдерінің, сонымен қатар әзірленген сусынның орнын басатын өнімдердің импортпен алмастырылуы мәселесін едәуір шешеді.

ҚОРЫТЫНДЫ

Адамның микробиотасын қалыпқа келтіруге ықпал ететін функционалды өнімдерді құру адам организмін жақсарту мәселелерін шешудің жолдарын анықтауға мүмкіндік берді. Осыған байланысты сүт қышқылы бактерияларының тіршілік әрекеті нәтижесінде алынған, сондай-ақ индигендік микрофлораға қатысты антагонизм көрсетпейтін, бірақ шартты патогенді және патогенді микроорганизмдерді тіршілігін тежейтін, ферменттелген өнімді жасау қолайлы болып табылды. Соңғылардың ішінде, басты назар қазіргі кезде кандидомикоз қоздырғышының ең маңыздыларының бірі - *Candida albicans* ашытқысына аударылды. Кандидомикоздан туындайтын күрделі мәселелер, олардың симптомсыз жүруі, қиын емделуі және организмнің кез-келген әлсіреуінде жүруі. Оларды тудыратын ашытқы тек шешілмейтін жүйелік аурулардың дамуына ықпал етіп қана қоймайды, сонымен қатар патогенді бактериялық микроорганизмдермен симбиотикалық қатынастарға түсіп, дәрі-дәрмектердің көмегімен жойылмайтын, бірлескен қабықшалар түзеді. Бұл бір мезгілде әртүрлі таксономиялық байланыстағы қоздырғыштарға тежегіш әсер ететін ашытқы микроорганизмдердің консорциумдарын дамытуды қажет етеді.

Біз жасаған сусындар шартты патогенді және патогенді микроорганизмдердің тіршілік белсенділігін тежеу арқылы адамның микробиотасының қалыпқа келуіне ықпал етеді. Пробиотиктер түрінде де, ферменттелген тамақ өнімдері түрінде де адам организмне енетін микроорганизмдер асқазан-ішек жолдары жағдайының агрессивті әсеріне, сондай-ақ жергілікті микрофлора өкілдерінің ықтимал антагонистік әсеріне тап болатындығын ескере отырып, сусындар рецептурасына өсімдік қоспаларын енгізу олардың бәсекеге қабілеттілігін арттыру мүмкіндігі көрсетілген.

Мұндай сусындарды өндіру үшін шикізат ретінде сүт сарысуы пайдаланылды. Сүт сарысуы - биологиялық құндылығы жоғары болғанымен, қоршаған ортаны ластайтын, іс жүзінде пайдаланылмайтын екінші дәрежелі өнім. Бұл сүт сарысуында көрсетілген адам денсаулығын сақтауда жоғары мәні бар көрсеткіштерді сақтап қана қоймай, сонымен қатар арнайы іріктелген ашытқы микроорганизмдердің метаболизм өнімдерін қосу арқылы оларды едәуір арттыруға мүмкіндік берді. Ашытқы микроорганизмдерге қорғаныс әсері бар және олардың тіршілік етуінің өсуін қамтамасыз ететін өсімдік қоспалары, біздің зерттеулеріміз көрсеткендей, зиянды микрофлора өкілдеріне антагонистік әсер ету спектрінің кеңеюіне де ықпал етеді. Бұл соңғы жылдары тұжырымдалған жаңа тамақтану философиясына толық сәйкес келеді, ол дәстүрлі табиғи өнімдерді, оның ішінде модификацияланған, нақтыланған композицияны, тазартылған өнімдерді немесе олардың алмастырғыштарын қолдана отырып, ақылға қонымды және ұтымды тұтынуды қамтамасыз етеді. Сонымен қатар, сарысуды ұтымды пайдалану тамақ және сүт өнеркәсібінің табысын едәуір арттырады, сонымен қатар қоршаған ортаны қорғауға мүмкіндік береді.

Тұжырым

1 Әр түрлі жануарлардың сүтінен сүтқышқылды бактериялардың 28 изоляты бөлініп алынды: бие сүтінен – 11, ешкі сүтінен - 9, түйе сүтінен – 8 изолят. Бие сүтінен алынған сүтқышқылды бактерияларының изоляттары сүттің басқа түрлерінің микроорганизмдерімен салыстырғанда орташа алғанда жоғары антагонистік белсенділікке ие.

2 Қазақ ұлттық сусындары қымыз және шұбат үлгілерінің *Candida* туысының шартты-патогенді ашытқыларының өсуін тежеуі көрсетілген. Сиыр сүтінде және сүт сарысуында қымыз ассоциацияларын бірнеше рет қайта егу кезінде *Candida*-ға қарсы белсенділіктің сақталуы көрсетілген. Қымыз ассоциациясынан 28 сүтқышқылды бактерия, 34 ашытқы, 13 сірке қышқылы бактериялары бөлініп алынды.

3 Шартты-патогенді бактериаларды және саңырауқұлақ микроорганизмдеріне қатысты антагонистік белсенділігі жоғары және сиыр сүтінің ашыту жылдамдығы бойынша сүтқышқылды бактериялардың 12 изоляты іріктелді. Олардың молекулалық-генетикалық сәйкестендірілуі жүргізілді, олар *Lactobacillus paracasei*, *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. diolivorans* түрлеріне жатады. *Candida* туысының шартты-патогенді ашытқыларына қатысты антагонистік белсенді КГ коллекциялық ассоциациясының микроорганизмдерінің компоненттік құрамы анықталды және сәйкестендірілді. Ассоциацияның бактериялық компоненттері *L. delbrueckii* 5, *L. retinde* анықталған. *gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3, *L. paracasei* 33-4, *A. syzigii* 2 ретінде сәйкестендірілді.

4 Сүтқышқылды бактерияларының *Candida* туысының шартты патогенді ашытқыларына қатысты антагонистік белсенділігі, анықтау әдісіне және тәжірибені жүргізу ортасына тәуелділігі көрсетілді. Сүтқышқылды бактерияларды өсіруге арналған MRS ортасында натрий ацетатының болуы перпендикуляр штрихтар мен екі қабатты агар әдістерін қолдану кезінде жалған оң нәтижелер береді.

5 Қымыз үлгілерін олардың *Candida*-ға белсенділігі контекстінде метагеномдық зерттеуде оның сірке қышқылды бактериялар санына тәуелділігі көрсетілген. Қымыздағы сүтқышқылды кокктардың (*Lactococcus*, *Streptococcus*) көп болуы оның *Candida albicans*-қа қатысты антагонизміне теріс әсер ететіні көрсетілді.

6 Культуралық ортадағы тәжірибелерде шартты патогенді ашытқыларға қатысты сүтқышқылы мен сірке қышқылы бактериялар ассоциацияларының антагонистік белсенділігі расталды. *Candida albicans*-тің өсуін тежейтін сүт қышқылды бактериялардың, сірке қышқылы бактерияларының және лактоз аыдыратушы ашытқылардың ассоциациялары жасалды. Антагонизм, органолептикалық көрсеткіштер және сүт сарысуында қышқыл түзілуі бойынша ең жоғары көрсеткіштер көрсеткен ассоциациялар таңдалды: *L. fermentum* A15, *L. paracasei* 4m-2b, *A. fabarum* 4-4M, *K. marxianus* 4MA-дан тұратын A6 ассоциациясы; *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. parabuchneri* 3,

L. paracasei 33-4, *A. syzigii* 2 және *K. marxianus* 19 тұратын №16 (KG-3V) ассоциациясы.

7 Антагонистік белсенділігі ең жоғары KG-3V ассоциациясының антифункционалды қосылыстары анықталды. 24 сағат дақылдаудан кейін, культуралық сұйықтықта $16,6 \pm 0,64$ мг/мл мөлшерінде сірке қышқылының болуы көрсетілген. 120 сағаттық инкубациядан кейін бензой қышқылының жоғары көрсеткіштері анықталды, алайда бұл ассоциацияның саңырауқұлақтарға белсенділігіне ықпал етпейді. KG-3V ассоциациясының *Candida*-ға қарсы белсенділігінің бір бөлігінің клеткалық фракциямен байланысы көрсетілген.

8 Ішек эпителиінің Caco-2 клетка культурасына сүтқышқылды бактериялары, сірке қышқылы бактериялары және лактоза ыдыратушы ашытқылар кіретін екі ассоциацияның уыттылығы жоқ, олардың Caco-2 клетка культурасындағы *Candida*-ға қарсы тиімділігі расталды.

9 Ашытқы құрамына сүтқышқылды бактериялармен қатар, лактоза ыдыратушы ашытқылар мен сірке қышқылы бактерияларын, ал дақылдау ортасына бидай кебегінің пребиотикалық қоспасын қосу, индигенді микрофлораны қорғайтын әсері бар екені анықталды.

10 Қышқылды және өт стресстері кезінде құрамдас микроорганизмдердің өміршеңдігіне бидай кебегіндегі ашытқы ассоциациясының физикалық иммобилизациясының қорғаныс әсері көрсетілді.

11 Өсімдік қоспаларын өсіру ортасына енгізу арқылы ашытқы ассоциацияларының антагонистік белсенділігін арттыру мүмкіндігі көрсетілді.

12 Шартты-патогенді *Candida albicans* ашытқысының, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* туысы саңырауқұлақтарының, сондай-ақ *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Sarcina*, *Mycobacterium* туысының шартты патогенді бактерияларының өсуін тежейтін сүт сарысуы, *L. paracasei* 4m-2b, *L. fermentum* A15, *K. marxianus* 4MA және *A. fabarium* 4-4M қамтитын A6 ассоциациясының негізінде синбиотикалық сусындардың рецептісі жасалды. Құрамына *L. delbrueckii* 5, *L. gallinarum* 1, *L. paracasei* 33-4, *L. parabuchneri* 3, *A. syzigii* 2 кіретін KG-3V консорциумын қолдана отырып, сүт сарысуы негізіндегі ферменттелген сусынды өндіріске енгізу басталды.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Храпцов А.Г., Брыкалов А.В., Пилипенко Н.Ю. Напитки из сыворотки с растительными компонентами // Молочная промышленность. - 2012. - № 7. - С. 64-66.
- 2 Zelante T., Costantini C., Romani L. Microbiome-mediated regulation of anti-fungal immunity // Current Opinion in Microbiology. – 2020. - № 58. – С. 8-14.
- 3 Brown G.D., Denning D.W., Gow N.A., Levitz S.M., Netea M.G., White T.C. Hidden killers: human fungal infections // Sci. Transl. Med. – 2012. - Vol. 4 (165): 165rv13.
- 4 Shankar J., Solis N.V., Mounaud S., Szpakowski S., Liu H., Losada L., Nierman W.C., Filler S.G. Using Bayesian modelling to investigate factors governing antibiotic-induced *Candida albicans* colonization of the GI tract // Sci. Rep. – 2015. – Vol. 5 (8131).
- 5 Pappas P.G., Lionakis M.S., Arendrup M.C., Ostrosky-Zeichner L., Kullberg B.J. Invasive candidiasis // Nat Rev Dis Primers 4. – 2018. pii: 18026.
- 6 Kumamoto C.A., Gresnigt M.S., Hube B. The gut, the bad and the harmless: *Candida albicans* as a commensal and opportunistic pathogen in the intestine // Current Opinion in Microbiology. – 2020. – Vol. 56. – P. 7-15.
- 7 Miranda L.N., van der Heijden I.M., Costa S.F., Sousa A.P.I., Sienr R.A., Gobara S., Santos C.R., Lobo R.D., Pessoa Jr V.P., Levin A.S. *Candida* colonisation as a source for candidaemia. Journal of Hospital Infection. – 2009. – Vol. 72(1). – P. 9-16.
- 8 Koh A.Y. Gastrointestinal Colonization of Fungi // Current Fungal Infection Reports. – 2013. – Vol. 7. – P. 144–151.
- 9 Maraki S., Hamilos G., Dimopoulou D., Andrianaki A.M., Karageorgiadis A.S., Kyvernitakis A., Lionakis S., Kofteridis D.P., Samonis G. Study on the comparative activity of echinocandins on murine gut colonization by *Candida albicans* // Medical Mycology. – 2015. – Vol. 53. – P.597–602.
- 10 Kobayashi-Sakamoto M., Tamai R., Isogai E., Kiyoura Y. Gastrointestinal colonisation and systemic spread of *Candida albicans* in mice treated with antibiotics and prednisolone // Microbial Pathogenesis. – 2018. – Vol. 117. – P. 191-199.
- 11 Бондаренко В.М. Роль условно-патогенных бактерий кишечника в полиорганной патологии человека // – М., 2007. – 63 с.
- 12 Кушугулова А.Р., Рахимова С.Е., Бекболатова Ж.Т., Оралбаева С.С., Садуакасова С.А., Перпекулова А.Ж. Дифференциация пробиотических микроорганизмов на основе молекулярных методов // Материалы научно-практич. Конф. молодых ученых Каз. гос. мед. Академии. – 2006. – С.38-39.
- 13 Никберг И.И. Функциональные продукты в структуре современного питания // Международный эндокринологический журнал. - 2011. - № 6(38). - С.64-69.

- 14 Ардатская М.Д., Столярова Л.Г., Архипова Е.В., Филимонова О.Ю. Метабиотики как естественное развитие пробиотической концепции // Трудный пациент. - 2017. - Том 15. - № 6-7. - С. 35-39.
- 15 Алешкин А.В. Поликомпонентные пробиотические препараты - конструирование, производство и стратегия их продвижения на российском фармацевтическом рынке: 03.02.03 // ФГУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского». – М., 2011. - 348 с. – Инв. №4864456.
- 16 Soedamah-Muthu S.S., Masset G., Verberne L., Geleijnse J.M. Brunner E.J. Consumption of dairy products and associations with incident diabetes, CHD and mortality in the Whitehall II study // Br J Nutr. - 2013. - Vol. 109. – P. 718-726.
- 17 Tapsell L.C. Fermented dairy food and CVD risk // Br J Nutr. - 2015. - Vol. 113. – P. 131-135.
- 18 Tshikantwa T.S., Ullah M.W., He F., Yang G. Current trends and potential applications of microbial interactions for human welfare // Front Microbiol. – 2018. – Vol. 9. – P. 1156. Doi: 10.3389/fmicb.2018.01156.
- 19 Dennis M.J., Wilson L.A. Nitrates and nitrites // Encyclopedia of food sciences and nutrition (Second edition). - 2003. - P. 4136-4141.
- 20 Taylor L.S., Higley A.N., Bush K.R. Sulfites in foods: uses, analytical methods, residues, fate, exposure assessment, metabolism, toxicity, and hypersensitivity // Advances in Food Research. - 1986. - Vol. 30. - P. 1-76.
- 21 Lianou A., Koutsoumanis K.P., Sofos J.N. Organic acids and other chemical treatments for microbial decontamination of food // In: Microbial Decontamination in the Food Industry. - Cambridge : Woodhead Publishing. - 2012. - P. 592-664.
- 22 Chilton S.N., Burton J.P., Reid G. Inclusion of fermented foods in food guides around the world // Nutrients. - 2015. - Vol. 7(1). - P. 390-404.
- 23 Baschali A., Tsakalidou E., Kyriacou A., Karavasiloglou N. Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: a neglected food group. Nutrition Research Reviews. - 2017. - Vol. 30 (1). - P. 1-24. Doi: 10.1017/S0954422416000202
- 24 Marco M.L., Heeney D., Binda S., Cifelli C.J., Cotter P.D., Foligné B., Gänzle M., Kort R., Pasin G., Pihlanto A., Smid E.J. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. Current Opinion in Biotechnology. - 2017. - Vol. 44. - P. 94-102.
- 25 Gupta A., Tiwari S.K. Probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* LD1 isolated from batter of Dosa, a South Indian fermented food // Probiotics and Antimicrobial Proteins. - 2014. - Vol. 6. - P. 73-81.
- 26 Rabie M.A., Elsaidy S., el-Badawy A.A., Siliha H., Malcata F.X. Biogenic amine contents in selected Egyptian fermented foods as determined by ion-exchange chromatography // Journal of Food Protection. - 2011. - Vol. 74. - P. 681-685.
- 27 Fardet A., Rock E. In vitro and in vivo antioxidant potential of milks, yoghurts, fermented milks and cheeses: a narrative review of evidence // Nutrition Research Reviews. - 2018. - Vol. 31(1). - P. 52-70.

- 28 Elkhtab E., El-Alfy M., Shenana M., Mohamed A., Yousef A.E. New potentially antihypertensive peptides liberated in milk during fermentation with selected lactic acid bacteria and kombucha cultures // *Journal of Dairy Science*. - 2017. - Vol. 100(12). - P. 9508-9520.
- 29 Rutella G.S., Tagliazucchi D., Solieri L. Survival and bioactivities of selected probiotic lactobacilli in yogurt fermentation and cold storage: New insights for developing a bi-functional dairy food // *Food Microbiology*. - 2016. - Vol. 60. - P. 54-61.
- 30 Solieri L., Rutella G.S., Tagliazucchi D. Impact of non-starter lactobacilli on release of peptides with angiotensin-converting enzyme inhibitory and antioxidant activities during bovine milk fermentation // *Food Microbiology*. - 2015. - Vol. 51. - P. 108-116.
- 31 Nagyzbekkyzy E., Abitayeva G., Anuarbekova S., Shaikhina D., Li K., Shaikhin S., Almagambetov K., Abzhalelov A., Saduakhassova S., Kushugulova A., Marotta F. Investigation of acid and bile tolerance, antimicrobial activity and antibiotic resistance of *Lactobacillus* strains isolated from Kazakh dairy foods // *Asian Journal of Applied Sciences*. – 2016. - Vol. 9(4). - P.143-158.
- 32 Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G.R., Merestein D.J., Pot B., Morelli L., Canani R.B., Flint H.J., Salminen S., Calder P.C., Sanders M.E. Expert consensus document: the international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic // *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. - 2014. - Vol. 11. - P. 506-514.
- 33 Kechagia M., Basoulis D., Konstantopoulou S., Dimitriadi D., Gyftopoulou K., Skarmoutsou N., Fakiri E.M. Health benefits of probiotics // *ISRN Nutrition*. - 2013. – Art. 481651. URL: <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/481651/>
- 34 Lee Y.K. Quantitative approach in the study of adhesion of lactic acid bacteria to intestinal cells and their competition with enterobacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* - 2000. – Vol. 66(9). - P. 3692-3697.
- 35 O’Sullivan D.J. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria // *J. Ag. Food Chem.* - 2001. – Vol. 49. - P. 1751-1760.
- 36 Greene J.D. Factors involved in adherence of lactobacilli to human Caco-2 cells // *Appl. Environ. Microbiol.* - 1994. – Vol. 60. - P. 4487-4494.
- 37 Tannock G.W. Molecular assessment of intestinal microflora // *Am. J. Clin. Nutr.* - 2001. – Vol. 73. - P. 410-414.
- 38 Hunter J.O. A review of the role of the gut microflora in irritable bowel syndrome and the effects of probiotics // *Br. J. Nutr.* - 2002. – Vol. 88. - P. 67-72.
- 39 Kozhakhmetov S.S., Oralbayeva S.S., Kushugulova A.R., Almagambetov K. Kh., Abzhalelov A.B., Ramankulov E.M. Creation of the probiotic consortium on the base of strains of *Bifidobacterium* spp. // *Malaysian Journal of Microbiology*. – 2009. – Vol. 5(2). – P. 67-72.
- 40 Лесняк С.В., Увтухова Л.П., Шимчук Л.Ф. О свойствах препаратов из нормальной микрофлоры человека // *Антибиотики и микроэкология человека и животных*. – М.: - С. 136-140.

- 41 Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Том 3: Пробиотики и функциональное питание. – М., 2001. – 288 с.
- 42 Salminen S., Deighton M.A., Benno Y., Gorbach S.L. Lactic acid bacteria in health and disease // Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (2nd ed.) / Eds. S. Salminen, A. Von Wriglit. - New York: Marcel Dekker Inc., - 1998. - P. 211-253.
- 43 Mattila T., Sandholma P., Myllärinen R., Crittenden G., Mogensen R., Fondenc M., Saarelaa. Technological challenges for future probiotic foods. International Dairy Journal. – Vol. 12(2–3). – 2002. – P.173-182.
- 44 Yazdankhah S., Midtvedt T., Narvhus J., Berstad A., Lassen J., Halvorsen R. The use of probiotics for critically ill patients in hospitals // Micro-bial Ecology in Health and Disease. – 2009. – Vol. 21(3-4). – P. 114-121.
- 45 Barbieri F., Montanari C., Gardini F., Tabanelli G. Biogenic amine production by lactic acid bacteria: A Review // Foods. – 2019. – Vol. 8(1). – P. 17. DOI: 10.3390/foods8010017
- 46 Коршунов В.М., Смянов В.В., Ефимов Б.А. Рациональные подходы к проблеме коррекции микрофлоры кишечника // Вест. РАМН - 1996. - №2. - С. 60-65.
- 47 Глушанова Н. А. Экспериментальное обоснование новых подходов к коррекции микробиоценоза кишечника: 03.00.07 / ГОУ ДПО «Новокузнецкий федеральный институт усовершенствования врачей». Новокузнецк. - 2006. - 260с. – Инв. № 05.2006 01167.
- 48 Алешкин А.В. Поликомпонентные пробиотические препараты - конструирование, производство и стратегия их продвижения на российском фармацевтическом рынке: 03.02.03 / ФГУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского». - М., 2011. - 348 с. – Инв. №4864456.
- 49 Trowell H.C., Burkitt D.P. The development of the concept of dietary fibre // Mol Aspects Med. - 1987. – Vol. 9(1). – P.7-15.
- 50 Беркетова Л.В. Исследование качественного и количественного состава пищевых волокон в сухих завтраках и биологически активных добавках к пище, содержащих пищевые отруби // Вопросы питания. – 2006. – Т. 75, №2. – С. 30-32.
- 51 De Roos J., De Vuyst L. Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages // Curr Opin Biotechnol. - 2018. - Vol. 49. – P. 115-119.
- 52 Mamlouk D., Gullo M. Acetic Acid bacteria: physiology and carbon sources oxidation // Indian J Microbiol. - 2013. - Vol. 53(4). – P. 377-384.
- 53 Torija M.J., Mateo E., Guillamón J.M., Mas A. Identification and quantification of acetic acid bacteria in wine and vinegar by TaqMan-MGB probes // Food Microbiol. - 2010 Apr. - Vol. 27(2):257-65. Doi: 10.1016/j.fm.2009.10.001.
- 54 Колмакова Т.С., Белик С.Н., Чистяков В.А., Моргуль Е.В., Чистякова И.Б. Характеристика кефира как ценного пробиотического продукта и его биологических свойств // Медицинский вестник Юга России. - 2014. - № 3. – С. 35-42.

- 55 Raspor P., Goranovic D. Biotechnological applications of acetic acid bacteria // *Crit Rev Biotechnol.* - 2008. - Vol. 28(2). – P. 101-124.
- 56 Gomes R.J., Borges M.F., Rosa M.F., Castro-Gómez RJH., Spinosa W.A. Acetic acid bacteria in the food industry: systematics, characteristics and applications // *Food Technol Biotechnol.* - 2018. - Vol. 56(2). – P. 139-151.
- 57 De Vero L., Giudici P. Genus-specific profile of acetic acid bacteria by 16S rDNA PCR-DGGE // *Int J Food Microbiol.* - 2008. - Vol. 125(1). - P. 96-101.
- 58 Torija M.J., Mateo E., Guillamón J.M., Mas A. Identification and quantification of acetic acid bacteria in wine and vinegar by TaqMan-MGB probes // *Food Microbiol.* - 2010 Apr. - Vol. 27(2):257-65. DOI: 10.1016/j.fm.2009.10.001.
- 59 Ho C.W., Lazim AM., Fazry S., Zaki Ukhh., Lim S.J. Varieties, production, composition and health benefits of vinegars // *Food Chem.* - 2017. - Vol. 221. – P. 1621-1630.
- 60 Ishihara S., Inaoka T., Nakamura T., Kimura K., Sekiyama Y., Tomita S. Nuclear magnetic resonance- and gas chromatography/mass spectrometry-based metabolomic characterization of water-soluble and volatile compound profiles in cabbage vinegar // *J Biosci Bioeng.* - 2018. - Vol. 126(1). – P. 53-62.
- 61 Xie X., Zheng Y., Liu X., Cheng C., Zhang X., Xia T., Yu S., Wang M. Anti-oxidant activity of Chinese Shanxi aged vinegar and its correlation with polyphenols and flavonoids during the brewing process // *J Food Sci.* - 2017. - Vol. 82(10). – P. 2479-2486.
- 62 Xia T., Yao J., Zhang J., Duan W., Zhang B., Xie X., Xia M., Song J., Zheng Y., Wang M. Evaluation of nutritional compositions, bioactive compounds, and antioxidant activities of Shanxi aged vinegars during the aging process // *J Food Sci.* - 2018. - Vol. 83(10). – P. 2638-2644.
- 63 Haghshenas B., Nami Y., Norhafizah A., Dayang R., Rosli R., Yari khosroushahi A. Anticancer impacts of potentially probiotic acetic acid bacteria isolated from traditional dairy microbiota // *LWT- Food Science and Technology.* - 2015. - Vol. 60(2). – P. 690-697.
- 64 Kobyljak N., Falalyeyeva T., Virchenko O., Mykhalchyshyn G., Bodnar P., Spivak M., Yankovsky D., Beregova T., Ostapchenko L. Comparative experimental investigation on the efficacy of mono- and multi-probiotic strains in non-alcoholic fatty liver disease prevention // *BMC Gastroenterol.* - 2016. – Vol. 16. – P. 34. Doi: 10.1186/s12876-016-0451-2.
- 65 Ben Taheur F., Fedhila K., Chaieb K., Kouidhi B., Bakhrouf A., Abrunhosa L. Adsorption of aflatoxin B1, zearalenone and ochratoxin A by microorganisms isolated from Kefir grains // *International Journal of Food Microbiology.* - 2017. - Vol. 251. - P. 1-7.
- 66 Kim D.H., Kim H., Jeong D., Kang I.B., Chon J.W., Kim H.S., Song K.Y., Seo KH. Kefir alleviates obesity and hepatic steatosis in high-fat diet-fed mice by modulation of gut microbiota and mycobiota: targeted and untargeted community analysis with correlation of biomarkers // *J Nutr Biochem.* - 2017. – Vol. 44. – P. 35-43.

- 67 Bourrie B.C., Willing B.P., Cotter P.D. The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir // *Front Microbiol.* - 2016. - Vol. 7. – Art. 647. Doi: 10.3389/fmicb.2016.00647.
- 68 Marco M.L., Heeney D., Binda S., Cifelli C.J., Cotter P.D., Foligné B., Gänzle M., Kort R., Pasin G., Pihlanto A., Smid E.J. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology.* - 2017. - Vol. 44. - P. 94-102.
- 69 Gomes R.J., Borges M.F., Rosa M.F., Castro-Gómez Rjh., Spinosa W.A. Acetic acid bacteria in the food industry: systematics, characteristics and applications // *Food Technol Biotechnol.* - 2018. - Vol. 56(2). – P. 139-151.
- 70 Walsh A. M., Crispie F., Kilcawley K., O’Sullivan O., O’Sullivan M. G., Claesson M. J., Cotter P. D. Production in the fermented dairy beverage kefir // *mSystems.* – 2016. – Art. No. (5):e00052-16. DOI:10.1128/mSystems.00052-16.
- 71 De la Fuente G., Jones E., Jones S., Newbold Ch. J. Functional resilience and response to a dietary additive (kefir) in models of foregut and hindgut microbial fermentation in vitro // *Front Microbiol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 1194. Doi: 10.3389/fmicb.2017.01194
- 72 Gamba R.R., Caro C.A., Martínez O.L., Moretti A.F., Giannuzzi L., De An-toni G.L. León Peláez A Antifungal effect of kefir fermented milk and shelf life improvement of corn arepas // *Int J Food Microbiol.* – 2016. – Vol. 235. – P. 85-92.
- 73 Ahmed, Z., Wang, Y., Ahmad, A., Khan, S.T., Nisa, M., Ahmad, H., Afreen, A., Kefir and health: a contemporary perspective. *Crit. Rev // Food Sci.* - 2013. – Vol. 53(5). – P. 422-434.
- 74 De Oliveira Leite A.M., Miguel M.A., Peixoto R.S., Rosado A.S., Silva J.T., Paschoalin VM. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage // *Braz J Microbi-ol.* – 2013. – Vol. 44(2). – P. 341-349.
- 75 Londero A., Hamet M.F, De Antoni G.L, Garrote G.L, Abraham A.G. Kefir grains as a starter for whey fermentation at different temperatures: chemical and microbiological characterization // *J Dairy Res.* – 2012. – Vol. 79(3). – P. 262-271.
- 76 Murad H.M., Malik Z.J., Umayra A.N. Evaluation the skin regeneration by using Kefir production in local dogs // *J Pharm. Sci. & Res.* - 2018. - Vol. 10(10). - P. 2653-2658
- 77 Katz L., Baltz R.H. Natural product discovery: past, present, and future // *J Ind Microbiol Biotechnol.* - 2016. - Vol. 43. – P.155-176.
- 78 Prescott J.F. The resistance tsunami, antimicrobial stewardship, and the golden age of microbiology // *Vet Microbiol.* – 2014. - Vol.171. – P. 273-278.
- 79 Walsh C.T., Wenczewicz T.A. Prospects for new antibiotics: a molecule-centered perspective // *J Antibiot.* – 2014. - Vol. 67. – P. 7-22.
- 80 Neil J.O. Report on Antimicrobial Resistance. – 2016. <https://amr-review.org>
- 81 Payne D.J., Gwynn M.N., Holmes D.L. Pompliano. Drugs for bad bugs: confronting the challenges of antibacterial discovery // *Na D.J.t Rev Drug*

Discovery. – 2006. – P. 29-40.

82 Haas L.F. Papyrus of Ebers and Smith // J Neurol Neurosurg Psychiatr. - Vol. 67. – P. 572-578.

83 Nai C., Meyer V. From axenic to mixed cultures: technological advances accelerating a paradigm shift in microbiology // Trends Microbiol. – 2018. - Vol. 26. – P. 538-554.

84 De Boer W. Upscaling of fungal–bacterial interactions: from the lab to the field // Curr Opin Microbiol. – 2017. - Vol. 37. – P. 35-41.

85 Netzker T., Flak M., Krespach M.K., Stroe M.C., Weber J., Schroeckh V., Brakhage A.A. Microbial interactions trigger the production of antibiotics // Curr Opin Microbiol. - 2018. - Vol. 45. – P. 117-123.

86 Chevrette M.G., Currie C.R. Emerging evolutionary paradigms in antibiotic discovery // J Ind Microbiol Biotechnol. – 2019. - Vol. 46. – P. 257-271.

87 Ueda K., Beppu T. Antibiotics in microbial coculture // J Antibiot. – 2017. - Vol. 70. – P.361-365.

88 Dadar M., Tiwari R., Karthik K., Chakraborty S., Shahalia Y., Dhamae K. *Candida albicans* - Biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control – An update // Microbial Pathogenesis. – 2018. – Vol. 117. - P. 128–138.

89 Guglielme Truss C.O. The Missing Diagnosis. Birmingham // The Missing Diagnosis, Inc. - 1983. – P. 155.

90 Guglielmetti S., Taverniti V., Minuzzo M., Arioli S., Stuknyte M., Karp M., Mora D. Oral Bacteria as Potential Probiotics for Pharyngeal Mucosa // Apl. Env. Microb. – 2010. – Vol. 76(12). – P. 3948–3958.

91 Fidel P.L Jr. Immunity to *Candida* // Oral Dis. – 2002. – Vol. 8(2). – P. 69-75.

92 Coogan M.M., Fidel P.L., Komesu M.C., Maeda L.P. *Candida* and Mycotic Infections // Adv. Dent. Res. – 2006. – Vol. 19. – P. 130-138.

93 Clark T.A, et al. Genomewide analysis of mRNA processing in yeast using splicing-specific microarrays. Science. – 2002. – Vol. 296(5569). – P. 907-10.

94 Mayer F.L., Wilson D., Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Biology, Medicine Virulence. DOI:10.4161/viru.22913 Corpus ID: 6542292.

95 Satoh K. *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from the external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital // Microbiol. Immunol. – 2009. - Vol. 53. – P. 41–44.

96 Warris A. *Candida auris*, what do paediatricians need to know? // Arch Dis Child. – 2018. - pii: archdischild-2017-313960. DOI: 10.1136/archdischild-2017-313960.

97 Leyva Salas M., Mounier J., Maillard M-B., Valence F., Coton E., Thierry A. Identification and quantification of natural compounds produced by antifungal bioprotective cultures in dairy products // Food Chemis-try. - 2019. – Vol. 301. – 125260. Doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125260

98 Garnier L., M. Penland, A. Thierry, M.B. Maillard, J. Jardin, M. Coton,

M. Leyva Salas, Coton E., Valence F., J. Mounier. Antifungal activity of fermented dairy ingredients: Identification of antifungal compounds // International Journal of Food Microbiology. - 2020. - Vol. 322. - Art. No. 108574. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108574

99 Ермоленко Е.И., Ждан-Пушкина С.Х., Гефен Г.Е., Зарх Г.А., Тец В.В. Чувствительность грибов рода *Candida* к действию лактобацилл // Успехи медицинской микологии. - 2003. - Т.1. - С.13-14.

100 Хусмарк У.Т., Патент 1241376 Российская Федерация. *Lactobacillus fermentum* Ess-1, DSM17851, и его применение для лечения и профилактики кандидоза и инфекций мочевых путей // № 200132059/10; заявл. 24.07.05; опубл. 10.07.07, Бюл. № 59 (III ч.). - 4 с.

101 Тихомирова О.М., Иванова Е.А. Противогрибковая активность микроорганизмов природной ассоциации «Тибетский рис» // Проблемы медицинской микологии. - 2011. - № 4. - С. 39-42.

102 Florianowicz T. Antifungal activity of some microorganisms against *Penicillium expansum* // Europ. Food Res. Technol. - 2001. - Vol. 212(3). - P. 282-286.

103 Стоянова Л.Г., Федорова Г.Б, Егоров Н.С., Нетрусов А.И., Катруха Г.С. Сравнение свойств бактериоцинов некоторых штаммов *Lactococcus lactis subsp.lactis* // Прикладная биохимия и микробиология. - 2007. Т.43. №6. С. 677-684.

104 Но Р.Н., Luo J.B., Adams M.C. *Lactobacilli* and dairy propionibacterium with potential as bioconservatives against food fungi and yeast contamination // Prikl Biokhim Mikrobiol. - 2009. - Т. 45, № 4. - С. 460-464.

105 Обзор ЕЭС23 Обзор молочной отрасли государств-членов Евразийского экономического союза за 2012 – 2016 гг. – М., 2017. - 153 с.

106 Нуртаева А.Б., Машанова Н.С., Сатаева Ж.И., Мұрал Г. Современное состояние переработки молочной сыворотки и получение на ее основе молочного сахара в Казахстане // Материалы республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения –11: Молодежь и наука». – 2015. – Т.1, ч.1. – С. 159-163.

107 Ardatskaya M.D. Probiotics, prebiotics and methabiotics in the correction of microecological bowel disorders // Med Counc (in Rus) – 2015. – Vol. 3. – P. 94-99.

108 Храмов А.Г., Василисин С.В., Рябцева С.А, Воротникова Т.С. Технология продуктов из вторичного молочного сырья. - 2011. - 424 с.

109 Пилипенко Н.Ю. Разработка технологии сывороточно-соковых напитков с функциональными свойствами: 05.18.04. - 2013. - 24 с.

110 Храмов А.Г. Реализация инновационных технологий переработки молочной сыворотки // Переработка молока. - 2009. - №5. - С. 8-11.

111 Храмов А.Г. Инновационный приоритет промышленной переработки универсального сырья – молочной сыворотки - на принципах пищевой биотехнологии // Фундаментальные исследования в пищевой биотехнологии. - 2018. - С. 93-96.

112 Borisenko A.A. et al. Dispersion Medium on Functional Properties of the Proteins // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2018. - Vol. 9(1).- P. 296–300.

113 Gorlov I. F., Filatov A. S., Sivko A. N., Bolaev B.K., Kokhanov A. P., Rande-lin D.A., Ezergail K.V., Danilov Y.D., Zlobina E.Y. The effectiveness and advantages of spropel in feeding steers // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2018. - Vol. 9(1). – P. 583–585.

114 Султанбекова А.Б., Алимарданова М.К. Инновационный патент 27100 РК. Способ производства напитка из молочной сыворотки / опубл.: 14.06.2013.

115 Горбатовская Н. А., Мынбаева А. Б. Инновационный патент 21513 Республика Казахстан, МПК А23С 23/00 Способ производства напитка из творожной сыворотки и обезжиренного молока на зерновой основе // опубликовано: 14.08.2009.

116 Алимарданова М.К., Бузенус Н.Д., Кененбай Ш.Ы. Иннов.пат. 29882 Республика Казахстан, МПК А23С 21/00, А23С 21/08. Способ производства напитка на основе молочной сыворотки и инвертного сиропа с фитонаполнителями // АО «Алматинский технологический университет».- № 2014/0407.1; заявл. 31.03.2014; опубл. 15.05.2015, Бюл. № 5.

117 Пузыревская О.М., Саубенова М.Г., Нурумбетова Б.К. Инновационный патент 6821 С12N 1/16, А23С 9/12РК. Способ производства кисломолочного напитка/ опубликовано: 15.01.1999.

118 Жайлаубаев Ж.Д., Абимульдина С.Т., Смагулова З.Т., Искакова Б.Б., Сергазина М.А., Инновационный патент 22560 Республика Казахстан, МПК А23С 23/00. Композиция для приготовления кисломолочного коктейля (варианты) // опубл. 15.06.2010, Бюл. № 6.

119 Воронова Н.С., Овчаров Д.В. Разработка технологии функционального напитка на основе молочной сыворотки с овощными наполнителями // Научный журнал КубГАУ. - 2014. - №. 104.

120 Космодемьянский Ю.В., Юрин В.Н. Пат. 2197834 Российская Федерация, МПК А23J1/20, А23J3/08, А23С21/00. Способ переработки молочной сыворотки в основу для напитков с профилактическими свойствами // заявитель и патентообладатель Московский государственный университет прикладной биотехнологии. - №2001114418/13: заявл. 30.05.2001; опубл. 10.02.2003, Бюл. № 7.

121 Ярощук О.А., Овчарова Г.П., Донченко Л.В. Фруктовые десерты с пектином на основе молочной сыворотки // Переработка молока. - 2007. - №12. - С. 14-15.

122 Осипова Л.А. Научно-практическое обоснование и разработка технологии консервированных функциональных напитков: 05.18.13 / Одес. нац. акад. пищевых технологий. – Одесса, 2007. - 377 с.

123 Мельникова Е.И., Коренман Я.И., Нифталиев С.И., Боева С.Е. Пат. 2301531 РФ. Способ получения молочно-растительного экстракта из листьев

стевию // ГОУ ВПО Воронежская государственная технологическая академия. - № 2006102479/13; заявл. 27.01.2006; опубл. 27.06.2007, Бюл. №18.

124 Ладыгин А.Д., Храмцов А.Г., Барсуков В.А., Евдокимов И.А., Рябцева С.А., Лодыгин Д.Н., Володин Д.Н., Робиков Р.И. Бифидогенные концентраты на основе деминерализованной сыворотки // Молочная промышленность. - 2007. - № 4. - С. 56-59.

125 Щепочкина Ю.А. Пат. 2403795 Российская Федерация, МПК7 А23С 21/00. Способ производства напитка из молочной сыворотки // Щепочкина Ю.А.; заявитель и патентообладатель. - № 2009127428/10; заявл. 16.07.2009; опубл. 20.11.2010, Бюл. № 32.

126 Иркитова А.Н., Вечернина Н.А. Биотехнология пробиотического напитка на основе молочной (подсырной) сыворотки // Известия алтайского государственного университета. - 2010. - № 3-1. - С. 30-32.

127 Храмцов А.Г., Василисин С.В., Рябцева С.А., Воротникова Т.С. Технология продуктов из вторичного молочного сырья. - Спб.: Гиорд, - 2011. - 424 с.

128 Мельникова Е.И., Голубева Л.В. Пат. 2245665 Российская Федерация, МПК7А23L 2/00, А23L 2/52, А23L 2/38, А23С 21/00. Безалкогольный напиток «стевилакт» на основе творожной сыворотки // заявитель и патентообладатель Государственное образовательное учреждение Воронежская государственная технологическая академия. - №2003124310/13; заявл. 06.08.2003; опубл. 10.02.2005, Бюл. № 4.

129 Горлов И.Ф., Каренгина Т.В. Пат. 2251282 Российская Федерация, МПК7 А23С 21/00, А23С21/08. Способ получения напитка из сыворотки // заявитель и патентообладатель ГУ Волгоградский научно-исследовательский технологический институт мясо-молочного скотоводства и переработки продукции животноводства РАСХН. - № 2003126822/13; заявл. 01.09.2003; опубл. 10.05.2005, Бюл. № 13.

130 Рыженков Д.В. Разработка продуктов функционального назначения на основе молочной сыворотки и зерновых добавок: 05 18 04 // Кемерово - 2003. - 183 с.

131 Богданова Е.В. Получение и применение модифицированной творожной сыворотки в технологии молокосодержащих продуктов: 05.18.04, 05.18.07 // Гос. образоват. учр. высш. проф. обр. «Воронежская государственная технологическая академия». – Воронеж. - 2011. - 301 с. - Инв. № 04201159948

132 Контарева В.Ю. Разработка технологии кисломолочного напитка с бифидогенными свойствами и иммуностимулирующим действием: 05.18.04 // ФГОУ ВПО «Донской государственный аграрный университет». - пос. Персиановский. - 2011. - 170 с. - Инв. № 04201101663.

133 Герасимова Т.В. Разработка технологии кисломолочных напитков с использованием растительных экстрактов, обогащенных биологически активными веществами: 05.18.04 // Северо-Кавказский государственный технический университет. – Ставрополь, 2012. - 173с. - Инв. № 61 12-5/3424.

134 Храмцов А.Г., Брыкалов А.В., Пилипенко Н.Ю. Напитки из сыворотки с растительными компонентами // Молочная промышленность. - 2012. - № 7. - С. 64-66.

135 Менх Г.В. Исследование и разработка технологии продуктов на основе молочной сыворотки с использованием плодов мелкоплодных яблок: 05.18.04 / ФГБОУ ВПО КемТИПП. – Кемерово, 2012. – 141с. - Инв. № 61 12-5/1901.

136 Михнева В.А., Куликова И.К., Евдокимов И.А., Володин Д.Н. Пат. 2493718 Российская Федерация, МПК7 А23С 21/00. Способ производства продукта на основе молочной сыворотки /заявитель и патентообладатель ООО "МЕГА ПрофиЛайн". - № 2012112310/10; заявл. 29.03.12; опубл. 27.09.13, Бюл. № 27.

137 Пилипенко Н.Ю. Разработка технологии сывороточно-соковых напитков с функциональными свойствами: 05.18.04. – Ставрополь. 2013. - 24с.

138 Николаенко Е.В., Огнева О.А. Разработка функциональных напитков на основе молочной сыворотки, обогащенной топинамбуром. Инновационный конвент «Кузбасс: образование, наука, инновации» Сибирский государственный индустриальный университет // Новокузнецк. - 2014. - С. 156-157.

139 Брыкалов А.В., Пилипенко Н.Ю. Разработка технологии напитков на основе молочной сыворотки, обогащенных фитоконпонентами // Научн. журн. КубГАУ. -2014. - № 98(4). - С.1-12.

140 Yasmin A, Sadiq Butt M, ZiaShahid M. Supplementation of prebiotics to a whey-based beverage reduces the risk of hypercholesterolaemia in rats // International Dairy Journal. – 2015. - Vol. 48. - P. 80-84.

141 Shavan R.S., Shraddha R.C., Kumar A., Nalawade T. Whey based beverage: its functionality, formulations, health benefits and applications // J. Food Process. Technol. - 2015. - Vol. 6(10). - P. 495-503.

142 Geoffrey W. Whey-ing up the ontions - Yesterday, today and tomorrow // International Dairy Journal. - 2015. - Vol. 48. - P. 2-14.

143 Бейсенбаев А.Ю., Шингисов А.У., Шамбулова Г.Д. Разработать технологию приготовления сыворотки функционального назначения // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2016. - № 7. - С. 11-18.

144 Yu Y-J., Margues C. Effects of whey peptide extract on the growth of probiotics and gut microbiota // Journal of Functional Foods. - 2016. - Vol. 21.- P. 507-516.

145 Черевач Е.И., Теньковская Л.А. Разработка технологии функциональных напитков на молочной сыворотке с растительными экстрактами // Техника и технология пищевых производств. - 2015. - Т. 39, No. 4. – С. 99-105.

146 Павлюк Р.И., Погарская В.В., Абрамова Т.С., Берестовая А.А., Лосева С.М. Разработка функциональных оздоровительных нанопродуктов на

основе молочной сыворотки // Вост.-Европ. Журнал передовых технологий. - 2014. - Т. 6, № 10 (72). - С. 59-6462.

147 Меркулова Е.П., Кожухова М.А. Лактоферментированные напитки на основе молочной сыворотки // Известия ВУЗов. Пищевая технология. - 2009. - № 4. - С. 40-42.

148 Акиньшина В.А. Ролевое информационное моделирование в процессе обучения информатике студентов гуманитарных специальностей: 13.00.02// Кубанский государственный университет. – Краснодар. - 2007. -182 с. – Инв. № 61:07-13/1861.

149 Козлов С.Г., Вожаева Л.И. Многокомпонентные желированные продукты // Молочная промышленность. - 2007. - №3. - С. 22.

150 Просеков А.Ю., Разумникова И.С., Менх Г.В. Гелеобразные продукты с использованием сыворотки и растительного сырья // Молочная промышленность. - 2011. - №7. - С. 78.

151 Панасенко Н.А. Исследования и разработка технологии желе на основе молочной сыворотки с использованием черной смородины: 05.18.04 / Кемеров. Технол. Ин-т пищевой пром. - Кемерово. - 2007. - 135 с. - Инв. № 61:07-5/4136.

152 Chizhayeva A., Oleinikova Y., Saubenova M., Sadanov A., Amangeldi A., Aitzhanova A., Yelubaeva M., Alybaeva A. Impact of probiotics and their metabolites in enhancement the functional properties of whey-based beverages // AIMS Agriculture and Food. – 2020. – Vol. 5(3). – P.541-542. doi:10.3934/agrfood.2020.3.521

153 Харитонов Д.В., Харитонова И.В., Просеков А.Ю. Разработка концепции создания синбиотиков и синбиотических молочных продуктов // Техника и технология пищевых производств. - 2013. - № 4. - С. 91-94.

154 Di Santo R. Natural products as antifungal agents against clinically relevant pathogens // Nat Prod Rep. – 2010. – Vol. 27(7). – P. 1084-1098.

155 Girardot M., Imbert C. Natural sources as innovative solutions against fun-gal biofilms // Adv Exp Med Biol. – 2016. – Vol. 931. – P. 105-125.

156 Sardi J.C.O., Scorzoni L., Bernardi T., Fusco-Almeida A.M., Mendes Gian-nini M.J. Candida species: Current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options // J. Med. Microbiol. – 2016. – Vol. 62. – P. 10–24.

157 Liu N., Wang C., Su H., Zhang W., Sheng C. Strategies in the discovery of novel antifungal scaffolds // Future Med Chem. – 2016. – Vol. 8(12). - P. 1435-1454.

158 Crowley S., Mahony, J., van Sinderen D. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. Trends Food Sci. Technol. – 2013. - Vol. 33(27). P. 93–109.

159 Dalié D.K.D., Deschamps A.M., Richard-Forget F. Lactic acid bacteria - Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. Food Control. - 2010. – Vol. 21. – P. 370–380.

160 Schnürer J., Magnusson J. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives // Trends Food Sci. Technol. – 2005. – P. 16, 70–78.

161 Ayansina S. Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from yogurts against *Candida albicans* // International Journal of Microbiology and Application. - 2015. – Vol. 2(5). P. 84-87.

162 Банницына Т. Е., Канарский А. В., Щербачев А. В., Чеботарь В. К., Кипрушкина Е.И. Дрожжи в современной биотехнологии // Вестник Международной академии холода. - 2016. № 1. – С. 24-29.

163 Chaucheyras-Durand F. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future/ F. Chaucheyras-Durand, N.D. Walker, A. Bach // Animal Feed Science and Technology. – 2008. – Vol. 145. – N. 1– 4. – P. 5–26.

164 Vannette R. L. Nectar microbes can reduce secondary metabolites in nectar and alter effects on nectar consumption by pollinators // Ecology. – 2016. – Vol. 97(6). – P. 1410–1419.

165 Younis G., Awad A., Dawod R.E, Yousef N.E. Antimicrobial activity of yeasts against some pathogenic bacteria. Vet World. – 2017. - Vol. 10(8). P. 979-983. doi:10.14202/vetworld.2017.979-983.

166 Haefner S., Knietsch A., Scholten E., Braun J., Lohscheidt M., Zelder O. Biotechnological production and applications of phytases. Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2005. – Vol. 68. – P. 588–597.

167 Olstorpe M., Schnurer J., Passoth V. Screening of yeast strains for phytase activity. FEMS Yeast Res. – 2009. – Vol. 9. - P. 478–488.

168 Scott J., Rebeille F., Fletcher J. Folic acid and folates: the feasibility for nutritional enhancement in plant foods. J. Sci. Food Agric. – 2000. - Vol. 80. - P.795–824.

169 Cordero J.F., Do A., Berry R.J. Review of interventions for the prevention and control of folate and vitamin B-12 deficiencies. Food Nutr. Bull. - 2008. - Vol. 29. - P. S188–S195.

170 Antai S.P., Nkwelang G. Reduction of some toxicants in *Icacina mannii* by fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. Plant Foods Hum. Nutr. – 1999. Vol. 53. – P. 103–111.

171 Chaucheyras-Durand, F. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future //Animal Feed Science and Technology. – 2008. – Vol. 145(1– 4). – P. 5–26.

172 Ferreira I. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications // Trends in food science & technology. – 2010. – Vol. 21(2). – P. 77–84.

173 Navarrete Wallace., Paola Alejandra., Tobar Ramirez Davier. Use of yeasts as probiotics in fish aquaculture. – 2016. 12-27T21:50:02Z 2016-12-27T21:50:02Z 2014

174 Jahn H.U., Ullrich R., Schneider T., Liehr., R.M., Schieferdecker H.L., Holst H., Zeitz M. Immunological and trophical effects of *Saccharomyces boulardii*

on the small intestine in healthy human volunteers. *Digestion*. – 1996. – Vol. 57. – P. 95-104.

175 Lazo-Vélez M.A., Serna-Saldívar S.O., Rosales-Medina M.F., Tinoco-Alvear M., Briones-García M.J. *Appl Microbiol.* – 2018. – Vol. 125(4). – P. 943-951. doi: 10.1111/jam.14037.

176 Van der Aa Kühle A., Skovgaard K., Jespersen L. In vitro screening of probiotic properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* and food-borne *Saccharomyces cerevisiae* strains *Int // J Food Microbiol.* – 2005. – Vol. 101(1). – P. 29-39. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.10.039.

177 Guslandi M., Mezzi G., Sorghi M., Testoni P.A. *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease // *Dig. Dis. Sci.* – 2000. – Vol. 45. – P. 1462-1464.

178 Edwards-Ingram L., Gitsham P., Burton N., Warhurst G., Clarke I., Hoyle D., Oliver S.G., Stateva L. Genotypic and Physiological Characterization of *Saccharomyces boulardii*, the Probiotic Strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol.* – 2007. – Vol. 73(8). – P. 2458-67. doi: 10.1128/AEM.02201-06.

179 Moslehi-Jenabian S., Pedersen L.L., Jespersen L. Beneficial effects of probiotic and food borne yeasts on human health *Nutrients*. - 2010. – Vol. 2(4). – P. 449-73. doi:10.3390/nu2040449.

180 Li - Shui., Chen Ying., Ma Jean-Louis., Maubois Li-Jun., Chen Qiao-Hong., Liu Ji-Ping Guo. Identification of yeasts from raw milk and selection for some specific antioxidant properties *Dairy Technolgy*. - 2010. – Vol. 63(1). - P. 47-54.

181 Edwards-Ingram L., Gitsham P., Burton N., Warhurst G., Clarke I, Hoyle D, Stephen G.O. Lubomira Stateva Genotypic and Physiological Characterization of *Saccharomyces boulardii*, the Probiotic Strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol.* – 2007. – Vol. 73(8). – P. 2458-67. doi: 10.1128/AEM.02201-06.

182 Moslehi-Jenabian S., Pedersen L., Jespersen L. Beneficial effects of probiotic and food borne yeasts on human health *Nutrients*. – 2010. – Vol. 2(4). – P. 449-73. doi: 10.3390/nu2040449.

183 Li-Shui Chen., Ying Ma Jean-Louis., Maubois Li-Jun., Chen Qiao-Hong., Liu Ji-Ping Guo. Identification of yeasts from raw milk and selection for some specific antioxidant properties *Dairy Technolgy*. – 2010. – Vol. 63(1). - P. 47-54.

184 Crociani J., Grill P., Huppert M., Ballongue J. Adhesion of different bifidobacteria strains to human enterocyte-like Caco-2 cells and comparison with in vivo study. *Affiliations Expand* PMID: 7576496 Doi: 10.1111/j.1472-765x.1995.tb01027.x

185 Kourelis A., Kotzamanidis C.Z., Hellenic Agricultural Organization - Demeter, Evanthia Litopoulou-TzanetakiI, Zacharias G Scouras. Preliminary probiotic selection of dairy and human yeast strains. *Journal of Biological Research* – 2010. – Vol. 13(13). P. 93-104.

- 186 Kumura H., Tanoue Y., Tsukahara M., Tanaka T., Shimazaki K. Screening of dairy yeast strains for probiotic applications // J. Dairy Sci. – 2004. - Vol. 87. – P. 4050 – 4056.
- 187 Syal P., Vohra A. Probiotic potential of yeasts isolated from traditional indian fermented foods // International Journal of Microbiology Research. – 2013. – Vol.5. – P. 390-398.
- 188 Farnworth E.R., Mainville I. Kefir: a fermented milk product. In: Farnworth ER (ed) Handbook of fermented functional foods. CRC Press, Boca Raton. – 2003. – P. 77–112.
- 189 Erten H., Ağırman B., Pelin C., Gunduz B., Carsamba E. Importance of yeasts and lactic acid bacteria in food processing In book: Food Processing: Strategies for Quality Assessment. - P. 351-378.
- 190 Gadaga A.T.H., Mutukumira A.N., Narvhus J.A. The growth and interaction of yeasts and lactic acid bacteria isolated from Zimbabwean naturally fermented milk in UHT milk Int J Food Microbiol. – 2001. – Vol. 15.68(1-2). – P.21-32. doi: 10.1016/s0168-1605(01)00466-4.PMID: 11545217 Doi: 10.1016/s0168-1605(01)00466-4
- 191 Саубенова М.Г., Пузыревская О.М. Молочнокислые бактерии – антагонисты дрожжей рода *Candida*. Биологически активные добавки к пище и функциональные продукты питания – искоренение микронутриентной недостаточности. Матер. Межд. Науч-практ. конф. - 2005. - Алматы.
- 192 Лысак В.В. Микробиология. Практикум. – Минск: БГУ. - 2015. – С. 34.
- 193 Саубенова М.Г. Разработка новых столовых продуктов для профилактики дисбактериозов на основе молочнокислых микроорганизмов – антагонистов дрожжей рода *Candida* и плесневых грибов: отчет о НИР (заключительный) / РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК: рук. – Алматы, 2014. – 202 с. - №ГР 0112РК00192. – Инв. №0214РК01327
- 194 Glanc S. Медико-биологическая статистика . М.: Praktika. – 1998. – P. 459.
- 195 Vegas E.Z.S., Nieves B., Araque M., Velasco E., Ruiz J., Vila J. Outbreak of infection with *Acinetobacter* strain RUH 1139 in an intensive care unit // Infection Control and Hospital Epidemiology. - 2006. - Vol. 27. - P. 397-404.
- 196 Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D.J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A New Generation of Protein Database Search Programs. Nucleic Acids Research. - 1997. - Vol. 25. No. P. 3389-3402.
- 197 Kumar S., Tamura, and M. Nei. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. Briefings in bioinformatics. – 2004. - Vol. 5(2). – P. 150-163.
- 198 Leyva Salas M., Mounier J., Maillard M.B., Valence F., Coton E., Thierry, A. Identification and quantification of natural compounds produced by antifungal bioprotective cultures in dairy products. *Food Chemistry*. - 2019. – Vol. 301, 125260. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125260>

- 199 Стоянова Л.Г., Устюгова Е.А., Нетрусов А.И. Антимикробные метаболиты молочнокислых бактерий: разнообразие и свойства. Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48. №3. - С. 259-275.
- 200 Pottier I., Gente S., Vernoux J.P., Guéguen M. Safety assessment of dairy microorganisms: *Geotrichum candidum* // International Journal of Food Microbiology. – 2008. – Vol. 126 (3). – P. 327-332.
- 201 Kurtzman C.P., Fell J.W., Boekhout T. The Yeasts: A Taxonomic Study. 5th ed. - Burlington: Elsevier Science. - 2011. – P. 3352.
- 202 Grygier A., Myszkka K., Rudzińska M. Galactomyces geotrichum - moulds from dairy products with high biotechnological potential // Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria. – 2017. – Vol. 16(1). – P. 5-16.
- 203 Pottier I., Gente S., Vernoux J.P., Guéguen M. Safety assessment of dairy microorganisms: *Geotrichum candidum* // International Journal of Food Microbiology. – 2008. – Vol. 126(3). – P. 327-332.
- 204 Arendrup M.C., Boekhout T., Akova M., Meis J.F., Cornely O.A., Lortholary O. ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of rare invasive yeast infections // Clin Microbiol Infect. - 2014 - Vol. 20(3). – P. 76-98.
- 205 Duran Graeff L., Seidel D., Vehreschild M.J., Hamprecht A., Kindo A., Racil Z., Demeter J., De Hoog S., Aurbach U., Ziegler M., Wisplinghoff H., Cornely O.A. Invasive infections due to *Saprochaete* and *Geotrichum* species: Report of 23 cases from the FungiScope Registry // Mycoses. - 2017. – Vol. 60(4). – P. 273-279.
- 206 Айтжанова А.А., Саубенова М.Г., Мунье Д.Ж., Олейникова Е.А., Бержанова Р.Ж. Выделение микроорганизмов из казахских кисломолочных продуктов с антагонистической активностью в отношении дрожжей рода *Candida*. Вестник. Серия биологическая. - 2019. Том 2, №79. С. 54-63.
- 207 Stiles J., Penkar S., Plocková M., Chumchalová J., Bullerman L.B. Antifungal activity of sodium acetate and *Lactobacillus rhamnosus* // Journal of Food Protection. – 2002. – Vol. 65 (7). – P. 1188-1191.
- 208 Le Lay C., Mounier J., Vasseur V., Weill A., Le Blay G., Barbier G., Coton E. *In vitro* and *in situ* screening of lactic acid bacteria and propionibacteria antifungal activities against bakery product spoilage molds // Food Control. - 2016. – Vol. 60. – P. 247-255.
- 209 Biyari S., Fozouni L. The inhibitory effect of probiotic bacteria against drug-resistant *Candida* species isolated from the oral cavity of the elderly // Shiraz E-Med J. – 2018. – Vol. 19(6). – e62026. Doi:10.5812/semj.62026
- 210 Айтжанова А.А., Олейникова Е.А., Саубенова М.Г., Даугалиева С.Т., Бержанова Р.Ж. Отбор антагонистически активных штаммов молочнокислых бактерий из молока различных видов животных // Вестник. Серия биологическая. - 2020. Том 2. №83. - С. 72-81.
- 211 Alexandraki V., Kazou M., Angelopoulou A., Arena M.P., Capozzi V., Russo P., Fiocco D., Spano G., Papadimitriou K., Tsakalidou E. The microbiota of non-cow milk and products // In: Non-Bovine Milk and Milk Products. Academic Press. – 2016. - P. 117-159.

- 212 Stiles J., Penkar S., Plocková M., Chumchalová J., Bullerman L.B. Antifungal activity of sodium acetate and *Lactobacillus rhamnosus* // J Food Prot. – 2002. – Vol. 65 (7). – P. 1188–1191. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.7.1188>
- 213 Le Lay C., Mounier J., Vasseur V., Weill A., Le Blay G., Barbier G., Coton E. In vitro and in situ screening of lactic acid bacteria and propionibacteria antifungal activities against bakery product spoilage molds. Food Control. – 2016. – Vol. 60. – P. 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.034>
- 214 Schnürer J., Magnusson J. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives // Trends Food Sci Technol. – 2005. – Vol. 16 (1–3). – P. 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.014>
- 215 Crowley S., Mahony J., van Sinderen D. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives // Trends Food Sci Technol. – 2013. – Vol. 33(2). – P. 93–109. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.07.004>
- 216 Thirabunyanon M., Hongwittayakorn P. Potential probiotic lactic acid bacteria of human origin induce antiproliferation of colon cancer cells via synergic actions in adhesion to cancer cells and short-chain fatty acid bioproduction. Applied Biochemistry and Biotechnology, - 2013. - Vol. 169. – P. 511–525. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9995-y>
- 217 Nozari S., Faridvand Y., Etesami A., Ahmad Khan Beiki M., Ali Miresmaeili Mazrakhondi S., Abdolalizadeh J. Potential anticancer effects of cell wall protein fractions from *Lactobacillus paracasei* on human intestinal Caco-2 cell line. Letters in Applied Microbiology. - 2019. – Vol. 69(3). – P. 148-15
- 218 Stow J.L, Condon N.D. The cell surface environment for pathogen recognition and entry. Clin Transl Immunol. – 2016. <https://doi.org/10.1038/cti.2016.15>
- 219 Singh K.S., Kumar S., Mohanty A.K., Grover S., Kaushik J.K. Mechanistic insights into the host-microbe interaction and pathogen exclusion mediated by the Mucus-binding protein of *Lactobacillus plantarum* // Sci Rep. – 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32417-y>
- 220 Monteagudo-Mera A., Rastall R.A., Gibson G.R., Charalampopoulos D., Chatzifragkou A. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health // Appl Microbiol Biotechnol. – 2019. 103:6463–6472. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09978-7>
- 221 Pekmezovic M., Mogavero S., Naglik J.R., Hube B. Host–pathogen interactions during female genital tract infections // Trends Microbiol. – 2019. – Vol. 27(12). – P. 982–996. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2019.07.006>
- 222 Aida Aitzhanova., Yelena Oleinikova., Jérôme Mounier., Nolwenn Hymery., Marcia Leyva Salas., Alma Amangeldi., Margarita Saubenova., Mereke Alimzhanova., Kazhybek Ashimuly., Amankeldy Sadanov. Dairy associations for the targeted control of opportunistic *Candida* // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2021. – Vol. 37. – P. 143. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03096-1>
- 223 Oleinikova Y., Amangeldi A., Yelubaeva M., Alybaeva A., Sadanov A., Saubenova M., Chizhaeva A., Aitzhanova A., Berzhanova R. Immobilization of

dairy starter on wheat bran enhance viability under acid and bile stress // Applied Food Biotechnology. – 2020. – Vol.7 (4). <https://doi.org/10.22037/afb.v7i4.29723>

224 Айтжанова А.А., Саубенова М.Г., Олейникова Е.А., Чижаева А.В., Алыбаева А.Ж., Амангелды А.А., Бержанова Р.Ж. Разработка нового функционального синбиотического кисломолочного напитка на основе молочной сыворотки // Вестник Серия биологическая. – 2021. Том 1. №86. – С. 64-77.