

ӘОЖ 637.14
МРНТИ 65.63.33

ӨЗДІГІНЕН АШУ ПРОЦЕСІ НӘТИЖЕСІНДЕ ТҮЙЕ СҮТІНЕН ЖАСАЛЫНҒАН ШҰБАТТЫҢ ТАБИҒИ БАСЫМДЫ МИКРОФЛОРАСЫНЫҢ СИПАТТАМАСЫ

А.Ж. ОРАЗОВ¹, К.К. БОЗЫМОВ², Т.А. БАЙБАТЫРОВ²

(¹ИТМО Университеті, Санкт-Петербург, Ресей

²Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті, Орал қ., Қазақстан)

E-mail: orazov_ayan@mail.ru

Бұл мақалада қазақ бактриан тұқымды түйе сүтінен өздігінен ашыту процесі нәтижесінде алынған шұбаттың басымды микрофлорасын зерттеуге және сипаттауға бағытталған. Шұбат сынамалары құрамында микроағзалардың ішінде сүтқышқылды бактериялар және ашытқылар саны басым болды. The NovaSeq 6000 Sequencing System құрылғысын қолдану арқылы сүтқышқылды бактериялардың келесідей изоляттары анықталды: Lactobacillus sakei, Enterococcus faecium, Lactobacillus helveticus, Leuconostoc lactis, Enterococcus faecalis, Lactobacillus brevis және Weissella hellenica және де мынадай ашытқы изоляттары: Kluyveromyces marxianus, Kazahstan uiosporus және Candida kefir. Нәтижесінде Lactobacillus пен Enterococcus, Kluyveromyces басымды микроорганизмдер тобы болды. Ең көп оқшауланған түрлері Lactobacillus sakei, Enterococcus faecium және Kluyveromyces marxianus.

Негізгі сөздер: түйе сүті, шұбат, сүтқышқылды бактериялар, ашытқылар, сүт микрофлорасы.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАТИВНОЙ МИКРОФЛОРЫ ШУБАТА НА ОСНОВЕ ВЕРБЛЮЖЬЕГО МОЛОКА, ПОЛУЧЕННОГО ПУТЕМ СПОНТАННОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ

А.Ж. ОРАЗОВ¹, К.К. БОЗЫМОВ², Т.А. БАЙБАТЫРОВ²

(¹Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия)

²Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана, г. Уральск, Казахстан)

E-mail: orazov_ayan@mail.ru

В статье описываются результаты исследования нативной микрофлоры шубата, полученного из породы казахского бактриана путем спонтанной ферментации сырого молока. В исследуемых образцах шубата доминирующими микроорганизмами были молочнокислые бактерии и дрожжи. С помощью The NovaSeq 6000 Sequencing System были идентифицированы следующие изоляты МКБ: Lactobacillus sakei, Enterococcus faecium, Lactobacillus helveticus, Leuconostoc lactis, Enterococcus faecalis, Lactobacillus brevis и Weissella hellenica, а также такие виды дрожжей как Kluyveromyces marxianus, Kazahstan uiosporus и Candida kefir. В итоге Lactobacillus и Enterococcus, Kluyveromyces были доминирующей группой микроорганизмов. А самыми распространенными были виды Lactobacillus sakei, Enterococcus faecium и Kluyveromyces marxianus.

Ключевые слова: верблюжье молоко, шубат, молочнокислые бактерии, дрожжи, микрофлора молока.

CHARACTERIZATION OF THE NATIVE SHUBATS' MICROFLORA BASED ON CAMEL MILK OBTAINED BY SPONTANEOUS FERMENTATION

A.Zh. ORAZOV¹, K.K. BOZYMОВ², T.A. BAIBATYROV²

(¹ITMO University, Saint Petersburg, Russia)

²West Kazakhstan agro-technical University named after Zhangir khan, Oral, Kazakhstan)

E-mail: orazov_ayan@mail.ru

The article describes the results of a study of native microflora of shubat obtained from the Kazakh Bactrian breed by spontaneous fermentation of raw milk. In the studied samples of shubat, lactic acid bacteria and yeast were the dominant microorganisms. Using the NovaSeq 6000 Sequencing System, the following isolates of LAB were identified: Lactobacillus sakei, Enterococcus faecium, Lactobacillus helveticus, Leuconostoc lactis, Enterococcus faecalis, Lactobacillus brevis and Weissella hellenica, as well as such yeast species as Kluyveromyces marxianus, Kazahstan uiosporus and Candida kefir. As a result, Lactobacillus and Enterococcus, Kluyveromyces were a dominant group of microorganisms. In addition, the most common were the species Lactobacillus sakei, Enterococcus faecium and Kluyveromyces marxianus.

Keywords: camel milk, shubat, lactic acid bacteria, yeasts, microflora of milk.

Kіpіcne

Сүтқышқылды бактериялардың организмдер тобы болып бөлініп шығуы 1900 жылдың аяғына тап болды, дәл осы XIX ғасырдың соңы ғылыми-техникалық дамудың алдыңғы кезеңі деп саналады. Сүтқышқылды бактериялардың азық-түлік өнімдерімен өзара әрекеттесуі ғалымдардың назарын ертеректен бері қызықтырып келген, және де Пастердің 1857 жылы сүтқышқылды ашытуға қосқан

қомақты үлесін тудырып, одан әрі 1873 жылы Листердің *Bacterium luctis* таза бактерия культурасының алғашқы оқшаулануына әкеп тұрғызды. 1890 жылы *Weigmann* Килде және *Starch* Копенгагенде ірімшік пен сүт өндіру үшін ашытқы қолдануды бір уақытта дерлік енгізді. Бұл тамағамтану өндірісінде ашыту әдісін қолдануды индустрияландыруға жол ашты [1]. Сүтқышқылды бактериялар әдетте азық-түлік өнімдерінің өздігінен ашуының кең тарал-

ған себебі болып табылады және олар адаммен, қоршаған ортамен тығыз байланыста [2].

Қазіргі уақытта аралас ашудың (спирттік пен сүт қышқылды ашу) өнімдері болып табылатын дәстүрлі сусындар ерекше қызығушылық тудырады. Олардың құрамындағы сүт қышқылды бактериялар мен ашытқылардың құрамында антибиотикалық заттар – таза түрінде оқшауланған диплококцин, нисин, лактолин және ашытқы антибиотигін концентрацияланған түрінде бөліп шығаратындығы анықталған. Бөлініп шығарылған заттар химиялық құрылымы мен бактерияға қарсы әсер ету спектрлерімен ерекшеленеді. Мысалы, егер сіз лактозаны ашытатын антибиотиктік затты қолдансаңыз, онда ол әртүрлі патогендік микроорганизмдерге бактериостатикалық немесе бактерицидтік әсер етеді: стафилококктар, ішек ауруларының қоздырғыштарын, дизентерияны, сонымен қатар туберкулез бацилласында да солай әсер етеді [3].

Шұбат – піскен немесе шикі түйе сүтінен өздігінен ашу процесі нәтижесінде жасалынған арнайы сүтқышқылды өнім. Органолептикалық көрсеткіштері жағынан ол айранға ұқсас болғанмен, бұл екі өнімнің айырмашылықтары бар, біріншіден шұбат айранға қарағанда сұйық, құрамындағы CO_2 көмірқышқыл газының бөлінуіне байланыста қышқылдылығы өте жоғары (рН 3,8 шамасында). Түркітілдес елдерде шұбатты халық медицинасында емдік қасиеттері үшін кеңінен қолданады, жергілікті халық шұбатты қауіпсіз, тіпті антидиабетикалық, рак пен туберкулезге қарсы дәрілік қасиеттері бар деп санаған [4].

Дәстүрге сәйкес шұбатты ұрпақтан-ұрпаққа беріліп келе жатқан технология бойынша жартылай үздіксіз және толықтыру арқылы қамтамасыз етілетін ашыту процесін қолдана отырып жасайды. Егерде шұбат тұтынуға алынса, оның көлемін қалпына келтіру үшін ащы шұбатқа түйе сүтінің бір бөлігін қайта құяды, бұл толықтыру арқылы қамтамасыз етілетін ашыту процесі бірнеше айға дейін жалғасуы мүмкін. Өздігінен ашыту процесі кезінде шикі түйе сүтінің ашуында басымды түрде сүттің микрофлорасы мен қоршаған органы ластайтын табиғи микрофлораны пайдаланады [5]. Сондықтан көптеген дәстүрлі шұбат өнімдері туралы мақалаларда олардың микрофлоралары әртүрлі болатынын және жасау технологиясымен, сондай-ақ өндірілген аймақтың экологиясына байланысты ерекшеленетіні көрсетілген, ал

сүт өнімдерінің микрофлорасы дәл бүгінгі күнмен байланысты анықталатыны барлығымызға мәлім [6].

Қорыта келе, мақалада берілген мәліметтер шұбат жасау технологиясын жетілдіріп, жоғары сапалы өнім алуға ықпал ететін ашыту шарттарын жақсартуға септігін тигізеді. Осы зерттеу қолдан жасалынған шұбаттың басымды микрофлорасын фенотиптік және молекулалық әдістерді қолдана отырып бөліп алуға және анықтауға бағытталған, зерттеу нәтижелерін ары қарай түйе сүтін ашытуға арналған ашытқы жасауда қолдануға болады.

Зерттеу нысандары мен әдістері

Зерттеу нысаны ретінде Батыс Қазақстан облысы, Орал қаласынан 50 шақырым жерде орналасқан жеке шаруа қожалықтан алынған екі қазақ бактриан түйесінің сүті болды. Сүттің әр үлгісін 200 мл бұрандалы қақпағы бар стерильді пластмасс бөтелкеге асептикалық түрде жиналып, 4°C температурасында тоңазытқыш сөмкесінде дереу зертханаға жеткізілді.

Орал қаласының Республикалық ветеринарлық лабораториясында шикі түйе сүтінің органолептикалық, физико-химиялық және микробиологиялық көрсеткіштері ГОСТ стандарттарына сәйкес жүргізілді.

Биотехнология ғылыми-зерттеу орталығында түйе сүтін әрі қарай өздігінен ашу әдісімен сүтқышқылды өнім – шұбатты алу үшін үш түрлі сынама үлгілерін бір-бірден 30 және 42°C температураларда термостатқа екі тәулікке қойдық. Одан алынған сынама үлгілерін Орынбор қаласында орналасқан федералды мемлекеттік бюджеттік мекемесі Ресей ғылым академиясының Орал филиалының жасушалық және жасушаішілік симбиоз ғылыми институтының лабораториясына жеткізілді.

Сүт қышқылды бактериялар мен ашытқыларды оқшаулау және есептеу.

Асептикалық түрде алынған шұбаттың 10 мл үлгілерін 90 мл стерильденген физиологиялық ертіндімен (0,85% масса/көлем) араластырдық. Әрі қарай он есе сұйылтылған үлгілерді жүз микролитрден келесі ортаның әрқайсысына енгіздік: сүтқышқылды бактерияларды оқшаулау үшін MRS (De Man, Rogosa and Sharpe agar) ортасына 37°C температурада анаэробты түрде 48 сағатқа және ашытқылар үшін YGCA (extractglucose-chloramphenicol agar) ортасында 25°C температурада 72 сағат инкубацияладық. Оқшауланып алынған сүтқышқылды бактериялар мен

ашытқылар изоляттары ұзақ уақыт сақтау үшін оларды 20% глицеринде және 80% MRS және YPG сорпаларында -80 °C енгізілді.

Сүтқышқылды бактериялар мен ашытқылардың изоляттарын идентификациялау.

Әр түрлі ортадағы қауымдастықтардағы прокариоттық ағзалардың таксономиялық құрамын және үлесін анықтауға арналған метагеномиялық секвенирлеу. Қазіргі уақытта кез-келген микробиоманы зерттеу үшін маркерлік гендердің метагеномды секвенирлеу қолданылады, онда барлық геном секвенерленбей, тек микроорганизмдердің туыстығы және түрлердің байланысын орнатуға болатын аудандар ғана қолданылады. Көбінесе амплификациялау үшін 16S рибосомалық РНҚ генінің (16S rRNA) аймақтары таңдалады, бір жағынан олардың бірізділігі жоғары сақталады, ал екінші жағынан әртүрлі микроорганизмдер жағдайында бір нуклеотидті алмастырулармен ерекшеленетін ауыспалы аймақтары болады. Барлық бөлініп алынған сүтқышқылды бактериялар мен ашытқыларды идентификациялау үшін The NovaSeq 6000 Sequencing System құрылғысын қолдандық.

Барлық зерттеулер үш рет қайталанып және нәтижелер орташа ± ауытқу түрінде көрсетілді. Барлық микробиологиялық көрсеткіштер бір миллилитрге (мл), шұбат үлгілеріне

(КОЕ/мл) 10 КОЕ негізінде логарифмге өзгертілді және олардан орташа мәндер мен олардың стандартты ауытқулары есептелді.

Нәтижелері және талқылау

Түйе сүтін тамақтануда қолдануға деген қызығушылық соңғы жылдары арта түсті, бұған түйе сүтінің тағамдық құндылығы мен денсаулыққа тигізетін пайдасы туралы жүргізілген көптеген зерттеу нәтижелері мен мақалалар дәлел [7,8].

Сүттің сапасын бағалау үшін оның органолептикалық, физико-химиялық және микробиологиялық көрсеткіштері (ГОСТ 10444.15-94, ГОСТ 31659-2012, МУК 4.2.026-95, СТ РК ГОСТ Р 51301-2005, ГОСТ 31628-2012, ГОСТ 26927-86, СТ РК 1483-2005, СТ РК 166-2015, ГОСТ 3624-92) анықталды. Зерттеу жүргізілген шарттары: температура 24 °C; ылғалдылық 60%. Түйе сүті орта есеппен 87% судан және 13% құрғақ қалдықтардан тұрады. Құрғақ қалдық ақуыздардан, майлардан, көмірсулардан, минералдардан, дәрумендерден, ферменттерден, микроэлементтерден, газдардан, иммундық денелерден, гормондардан, пигменттерден тұрады. Көп факторлардың әсерінен сүттің құрамдас бөліктері сандық өзгерістерге ұшырайды. Бұл тербелістердің шектері кестеде келтірілген.

Кесте 1 – Түйе сүтінің микробиологиялық, физико-химиялық, органолептикалық көрсеткіштері

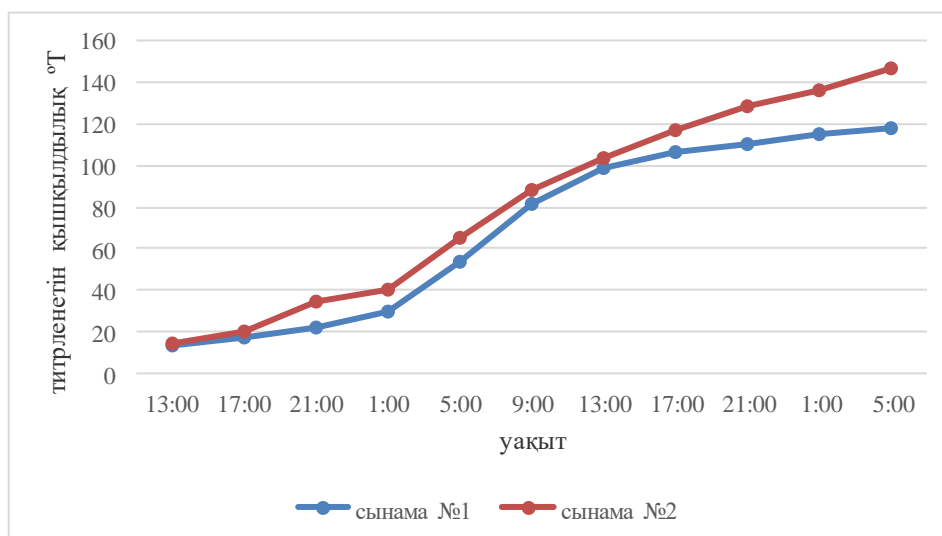
№	Зерттеулердің атауы, өлшем бірлігі	Зерттеу әдістемесіне НҚ	Көрсеткіштердің нормадағы мәні	Зерттеудің нәтижесі
1	2	3	4	5
1	Микробиологиялық көрсеткіштері:			
	КМАФАнМ, КОЕ/г, артық емес	ГОСТ 10444.15-94	1*10 ⁵	2*10 ⁴
	Патогендік, соның ішінде сальмонелла, гр. рұқсат етілмейді	ГОСТ 31659-2012	25	табылмады
2	Антибиотиктер:			
	Левомоцитин, мг/кг, рұқсат етілмейді	МУК 4.2.026-95	<0,01	табылмады
	Тетрациклинді топ, мг/кг, рұқсат етілмейді	МУК 4.2.026-95	<0,01	табылмады
	Стрептомицин, мг/кг, рұқсат етілмейді	МУК 4.2.026-95	<0,2	табылмады
	Пенициллин, мг/кг, рұқсат етілмейді	МУК 4.2.026-95	<0,004	табылмады
3	Токсинді элементтер:			
	Қорғасын, мг/кг, артық емес	СТ РК ГОСТ Р 51301-2005	0,1	<0,02
	Кадмий, мг/кг, артық емес	СТ РК ГОСТ Р 51301-2005	0,03	табылмады
	Мырыш, мг/кг, артық емес	ГОСТ 31628-2012	0,05	табылмады
	Сынап, мг/кг, артық емес	ГОСТ 26927-86	0,005	0,0012
4	Физико-химиялық көрсеткіштері:			
	Майлылығы, %; кем емес	СТ РК 1483-2005*	3	4,05

	Ақуызы, %, кем емес	СТ РК 1483-2005*	3,8	3,86
	СОМО, %, орта есеппен	СТ РК 1483-2005*	15	10,09
	Тығыздылығы, (кг/м ³) 20 °С температурада, кем емес	СТ РК 1483-2005*	1032	1034,98
5	Органолептикалық көрсеткіштері:			
	Дәмі және иісі	СТ РК 166-2015*	Дәмі және иісі таза, артық дәм мен иіссіз, түйе сүтіне гән	сәйкес келеді
	Консистенциясы	СТ РК 166-2015*	Тұнбасыз және ірімтіксіз біртекті сұйықтық	сәйкес келеді
	Түсі	СТ РК 166-2015*	Ашық крем түсті	сәйкес келеді
	Қышқылдылығы, °Т, артық емес	ГОСТ 3624-92	17,5	17

*Ескерту! Белгіленген әдістер бойынша зертхана аккредиттелмеген.

Сүт шикізатын ашыту барысында сүт-қышқылды бактериялардың әсері жоғары, атап айтқанда, өндірісте технологиялық про-

цестердің бақыланатын жағдайында олар дайын өнімнің қауіпсіздігін қамтамасыз етуге және сақтау мерзімін ұзартуға қабілетті [9].



Сурет 1 - Түйе сүтінің өздігінен ашу динамикасы

Суретте көрсетілгендей №1 сынаманың (t=30 °С) қышқылдылығының өсу жылдамдығы №2 сынамаға (t=42 °С) қарағанда баяу. Бұның себебі екі үлгінің екітүрлі температура-

лық режимде сақталуы болып табылады. Сүт-қышқылды мөлшерінің өсуі сүттің физика-химиялық құрамын өзгертіп, казеин ыдырайды да сүт ұйып қалады.

Кесте 2 – Шұбат үлгілерінің рН және логарифм көрсеткіштері

Көрсеткіштер	№1 сынама	№2 сынама
рН	5,2±0,05	5,7±0,08
log (КОЕ/мл):		
Сүтқышқылды бактериялар (MRS ортасы)	6,8±0,55	7,6±0,49
Ашытқылар (YGCA ортасы)	4,7±0,14	4,3±0,09

Кестеде көрсетілгендей сүтқышқылды бактериялар мен ашытқылар шұбат микро-

флорасында басымды түрде кездеседі. №1 сынама MRS ортасында сүтқышқылды бакте-

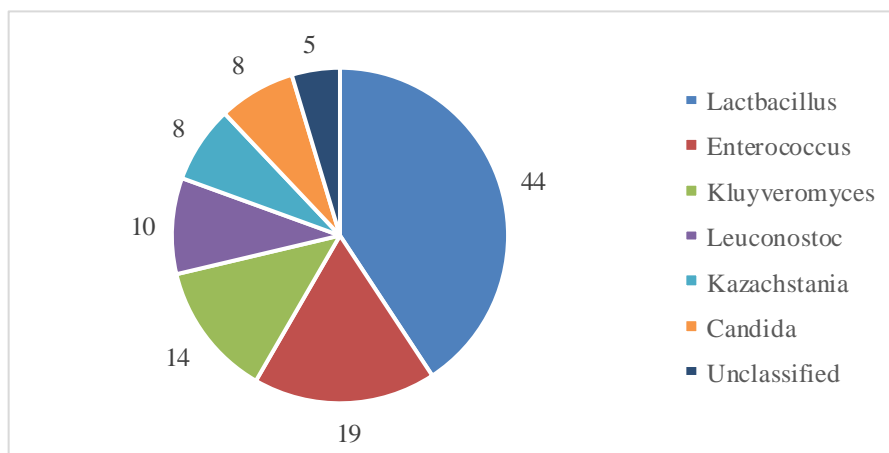
риялардың саны 6,8 КОЕ/мл болса, №2 сынамада одан сәл жоғары болды (7,6 КОЕ/мл). Ашытқылар екі сынамада да 4,3-тен 4,7 КОЕ/мл аралығында кездесті (кесте 2). №1 сынамада ашытқылар саны жоғары болды. Сонымен қатар шұбаттың екі сынамасында да зең мен колиформды бактериялар кездеспеді. Шұбат сынамаларындағы осындай рН-тың жоғары көрсеткіштері (5,2-5,7) оның қышқылдылығының жоғары екендігін сипаттайды.

Оқшауланып алынған сүтқышқылды бактериялардың изоляттары деп саналған изоляттардың арасында грамон және каталаза-теріс таяқшалар немесе кокктарыда кездесті.

Төмендегі келтірілген кестеге сәйкес шұбат микрофлорасының басымды түрде *Lactobacillus* басқа микроағзаларға қарағанда басым болды (барлық изоляттардың 44%), содан кейін *Enterococcus* (19%), *Kluyveromyces* (14%) және *Leuconostoc* (10%) және т.б. орналасты (сур.2).

Кесте 3 – Шұбаттан оқшауланған сүт қышқылды бактериялар мен ашытқылар

№	Түрі	Жиілігі (%) барлығы
1	<i>Lactbacillus sakei</i>	26
2	<i>Lactbacillus helveticus</i>	10
3	<i>Lactbacillus brevis</i>	8
4	<i>Enterococcus feacium</i>	9
5	<i>Enterococcus feacalis</i>	10
6	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	14
7	<i>Leuconostoc lactis</i>	10
8	<i>Kazachstania unispora</i>	8
10	<i>Candida kefir</i>	8
11	Unclassified (жіктелмеген)	5



Сурет 2 - Шұбаттан оқшауланған сүт қышқылды бактериялар мен ашытқылар

Барлық сүтқышқылды бактериялардың ішінде *Lactbacillus sakei* ең көп бөлініп алынды (изоляттардың 26% құрады, №3 кесте), ол барлық зерттелген сынамалардан кездесіп, басымды микрофлораны құрады. *Lactbacillus helveticus* пен *brevis* тек әр сынамада шамамен тең көлемде анықталды. *Enterococcus feacium* және *feacalis* шұбат сынамаларында анықталды, олардың болу себептері шикізаттың немесе шұбаттың төмен санитарлық-гигиеналық сапасының төмендігін айқындайды. Сонымен қатар *enterococcus* микроағзалары ірімшік жасау кезінде протеолиттік, липолитикалық

белсенділіктері үшін және де хош иісті қосылыстар бөлетіндіктен аса маңызды рөл атқарады. Шұбаттағы ашытқы микрофлорасының басымды түрі ретінде *Kluyveromyces marxianus*, *Kazachstania unispora* мен *Candida kefir* анықталды. Осылайша, ашытқының шұбатта көбеюіне сүтқышқылды бактериялардың метаболикалық белсенділігі оң әсер етуі мүмкін.

Қорытынды

Мақаладағы зерттеу нәтижесінің қорытындысы шұбат микрофлорасы сүтқышқылды бактериялар мен ашытқылар комбинацияларының жиынынан тұратынын көрсетті. Сүт-

қышқылды бактериялардың келесідей түрлері: *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* жиі кездесіп, көп оқшауланғандары *Lactobacillus sakei*, *Enterococcus faecium* and *Lactobacillus helveticus* болды. Ал ашытқының басымды түрі *Kluveromyces marxianus* екені анықталды. Шұбат құрамыдағы ашытқылардың рөлі мен адам ағзасына пайдасы алдағы уақытта қосымша зерттеулерді талап етеді.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Прунтова О.В., Сахно О.Н., Мазиров М.А. Курс лекций по общей микробиологии и основам вирусологии. В 2 ч. Ч. 1 // Владим. гос. ун-т. - Владимир : Изд-во Владим. гос. ун-та-2006. -192 с
2. Leroy F, De Vuyst L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. // *Trends Food Science Technology*, 2004.- №15. - PP. 67-78
3. Оразов А., Надточий Л.А., Ruixia G., Проскура А.В., Мурадова М.Б. Исследование процесса сквашивания коровьего молока под действием заквасочной микрофлоры верблюжьего молока, вызывающей спонтанную ферментацию // *Ползуновский вестник*, 2018. - №1. - С. 65-69
4. Nadtochii L., Orazov A., Kuznetsova L.I., Pinaev A.G., Weihong L., Garbuz S., Muradova M. Identification of yeast species involved in fermentation of the Kazakh camel dairy product-shubat // *Agronomy Research*, 2018. - Vol.16, №5. - PP. 2117-2129
5. Zamfir M, Vancanneyt M, Makras L, Vaningelgem F, Lefebvre K, Pot B, Swings J, De Vuyst L Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products // *System Applied Microbiology*, 2006. - №29. - PP. 487-495
6. Shori AB. Comparative study of chemical composition, isolation and identification of microflora in traditional fermented camel milk products: Gariss, Suusac, and Shubat. // *J Saudi Soc Agric Sci*, 2012. - №11. - PP. 79-88
7. Conesa C., Sanchez L., Rota C., et al. Isolation of lactoferrin from milk of different species: calorimetric and antimicrobial studies // *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, 2008. - №150. - PP. 131-139.
8. Agrawal RP., Dogra R., Mohta N., Tiwari R., Singhal S., Sultania S. Beneficial effect of camel milk in diabetic nephropathy // *Acta Biomed*, 2009. - №80. - PP. 131-134
9. Надточий Л.А., Оразов А. Изучение спонтанной ферментации верблюжьего молока, полученного в хозяйствах Казахстана // *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 2017. - № 2-3(356-357). - С. 43-46