

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES

ISSN 2224-526X

Volume 2, Number 38 (2017), 34 – 39

K. B. Perdebayeva, D. M. Khusainov, Kh. B. Abeuov

Kazakh agrarian national university, Almaty, Kazakhstan

## STUDY OF IMMOBILIZATION LACTIC ACID BACTERIA IN THE RICE HUSK

**Abstract.** The article presents data from a study of immobilization of lactic acid bacteria on rice husks.

**Keywords:** immobilization, adsorbents, activated coal, adsorption, carbonization, sorption, media.

ӘОЖ 637.12.6:579.264

Қ. Б. Пердебаева, Д. М. Хусаинов, Х. Б. Абеуов

Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан

## СҮТҚЫШҚЫЛ БАКТЕРИЯЛАРЫНЫҢ КАРБЕНИЗДЕЛГЕН КҮРІШ ҚАУЫЗЫНА ИММОБИЛИЗАЦИЯСЫН ЗЕРТТЕУ

**Аннотация.** Мақалада сүтқышқыл бактерияларының карбенизделген күріш қауызына иммобилизациясын зерттеу нәтижелері берілген.

**Түйін сөздер:** иммобилизация, сорбенттер, карбенизделген күріш қауызы, адсорбция, карбенизация, сорбция, бактерия штамдары.

**Кіріспе.** Қазіргі кезде микроорганизмдердің иммобилизденген клеткалары әр түрлі биотехнологиялық процестерді жүргізуде үлкенқолданысқа ие. Сол себепті иммобилизденген клеткаларды қолдану, әсіресе сүтқышқылды бактериялар клеткалары қатысында алынған биосорбенттерді қолдану арқылы жемдік белок алу мүмкіндіктері туындап отыр. Соңғы кездері күріш қауызынан алынатын көміртекті адсорбентке көп көңіл бөлінуде. Себебі бұл материал арзан, сорбциялау қабілеті жоғары сорбенттерге жатады. Бірақ дайын өнім шығуының жолдарын жоғарлату өзекті мәселе болып табылады.

Сүтқышқыл бактерияларын бір кең топқа біріктірудің өзі ашу барысында басты өнім ретінде сүт қышқылын түзетіндігіне негізделген. Сүт қышқылы бактериялары көмірсуларды негізгі өнім ретінде сүт қышқылына дейін ашытатын, қозғалмайтын, спора түзбейтін, грам оң, пигмент түзбейтін нитратты нитритке дейін тотықсыздандырмайтын микроаэрофильді микроорганизмдер тобы [1].

Сүт қышқылды бактериялары клетка формасы бойынша таяқшалар және коккалар. Әрбір жеке клеткалардың мөлшері әрқайсысында әртүрлі. *Lactobacillaceae* тұқымдасының *Lactobacillus* туысы мөлшері 1,0-10×0,5-1,2 мкм таяқша тәрізді бактериялардан тұрады. Түрлерінің көпшілігі қозғалмайды. Ауада өсіп-көбейе алады, алайда кейбіреулері қатаң анаэробты болып келеді; аэробты жағдайда қоректік орта құрамына тиогликолят және цистеин қосқанда олар өте жақсы өседі. Көмірсуларды ыдыратады, глюкозаны ашытқанда рН=1 немесе одан да төмен болады. Нитратты тотықтырмайды, казеинді ыдыратпайды, индол және H<sub>2</sub>S түзбейді. Бактериялардың қоректік орта құрамына талабы жоғары және оған қоса амин қышқылы, витамин, май қышқылы, көмірсу және нуклеин қышқылын қажетсінеді.

Қанды ағарда сұрғылт түсті S-шоғырларын түзеді. Оптимум өсу температурасы 30-40°C; рН оптимумы 5,5-5,8. Түрлері биохимиялық қасиеттері мен әртүрлі температурада өсу қабілеттілігіне байланысты анықталады. *Lactobacillus* туысының өкілдері пішіні бойынша қысқа кокка тәрізділерден ұзын жіпше тәрізділерге дейінгі таяқша тәрізді сүт қышқылды бактериялар. Лактобациллалар сүт қышқылды өнімдерді, қатты сырларды дайындауда маңызды орын алады [7]. Солардың бірі *L. plantarium* ұштары дөңгеленген, тік таяқша тәрізді бактериялар. Ұзындықтары әртүрлі – 0,7-1,1- ден 3,0-8,0 мк- ге дейін, жеке немесе тізбектеліп орналасқан клеткалар.

Сүтте кең таралған бұл туыстың бір түрі *Lactobacillus casei* қысқа немесе салыстырмалы ұзын, жіңішке таяқша пішінді клеткалар. Кейде аздап иілген, қос-қостан жұптасып немесе тізбектеліп орналасқан [2,3].

*Lactobacillus bulgaricus* ұзын таяқшалар, гомоферментативті, *Str. Thermophilus*-пен бірігіп йогурт дайындауға қолданылады, сонымен қатар оны қатты сырларды дайындауға пайдаланады. Оптималды өсу температурасы 40-45°C.

*Lactobacillus lactis* ұзын жіпшелер түзеді, адам мен жылықанды жануарлардың қалыпты микрофлорасын құрайды. Оптималды даму температурасы 40°C. Температура әсеріне байланысты сүтқышқыл бактериялары мезофильді және термофильді болып бөлінеді. Мезофильдер үшін қолайлы температура 20-30°C, ал термофильдер үшін 30-40°C [4].

Көпшілік сүт қышқыл бактерияларына аргинин, цистеин, глутамин глутамин қышқылы, лейцин, фенилаланин, триптофан, тиронин, валин қажет. Сүт қышқылы бактерияларының қалыпты дамуы үшін витаминдер де керек. Лактобацилл мен стрептококктардың көпшілік түрі витамин В<sub>6</sub>-ның бос және байланысқан түрлері пиродоксин, пиродоксал, пиродоксамин, пиродоксальфосфат, пиродоксаминфосфаттарды қажетсінеді. Біреулері пиродоксал қатысында жақсы өссе, екінші біреулеріне қосымша пиродоксамин керек. Ал үшіншілері витамин В<sub>6</sub>-ның фосфорлы түзілістерін қажет етеді. *S. lactis*-тің өкілдеріне витамин В<sub>6</sub>-ның керегі жоқ. Керісінше, олардың дамуы үшін витаминдер де керек, ал кейбір витаминдер үшін, олардың ерекшеліктеріне байланысты никотин қышқыл және пантотен қышқылының маңызы зор. Лактобациллдер өсуі үшін пантотен қышқылы мен биотинді талап етеді. Айтылған витаминдер клеткада маңызды қызмет атқарады: рибофлавин – ФМН және ФАД негізін құрушы, тиамин - декарбоксилдеу транскетолаза, никотин қышқылы – КоА негізін құрушы тотығу-тотықсыздану реакциясындағы электрон тасымалдаушы, фолий қышқылы - бір көміртекті қосылыстың метаболизміне қатысады, метил тобын тасымалдаушы, пиродоксаль - амин және кетоқышқылдарды тасымалдаушы.

Сүт қышқылдарының витаминдерді қажетсінуі қоректік ортада белгілі бір аминқышқылдарының, май қышқылының болмауына байланысты. Мәселен, қоректік ортада дезоксирибозидтер болса, онда сүт қышқылы бактериялары В<sub>12</sub>-ні керек етпейді. Егер қоректік ортада аминқышқылдары, тимин, пурин негіздері болса, онда *L. casei* және *L. faecalis* фолий қышқылын қажетсінебейді [5].

Микроорганизм клеткаларының иммобилизациясы және терминологиясы мен жалпы түсінігі. «Иммобилизденген жасушалар» тіркесі ғылыми әдебиетте «иммобилизденген ферменттер» терминімен қатар пайда болған, бірақ кейінірек «иммобилизденген» және «иммобилизация» түсініктерін ферментативті жүйелерге қарағанда жасушаларға қатысты анағұрлым кең қолданылатын болды. Қазіргі таңда иммобилизденген жасушалар дегеніміз – қоршаған ортада қозғалысы жасанды жолмен шектелген жасушалар, ал бұл шектеулермен қамтамасыз ететін материалдық аражік тасымалдағыш болып табылады. Жалпы жасуша-тасымалдағыш жүйесі иммобилизденген биокатализатор деп аталады. Көп жағдайда тасымалдағыш ретінде. Ерімейтін материал қолданылады, оған нақты жағдайда жасушалар жабысады (мысалы, ағаш, топырақ, жүн, минералдар және т.б.), онда жасушаның тіршілік әрекеті иммобилизденген күйде ол үшін табиғи болып саналады, ол табиғи жағдайдан жасанды жолмен ұсталып тұратын биотехнологиялық үрдістегі сыртқы параметрлер (температура, қысым, ылғалдылық және т.б.) бойынша ерекшеленеді [6].

Микроорганизм жасушаларын иммобилиздеудің жалпы тәсілдері. Ғылыми әдебиетте белгілі принциптер құрастырылған, оларға сәйкес микроорганизмдер, өсімдіктер, жануарлар жасушаларын немесе қандай да бір органеллаларды (митохондрия, протопластар, хлоропласт, жасуша қабырғасы және т.б.) иммобилизациялау тәсілдерін жүйелеу іске асырылады. Бұл кітапта иммобилизденген микроорганизмдер туралы әңгіме қозғалғасын, төменде келтірілетін мәліметтер

микроб жасушаларына қатысты болады, дегенмен иммобилизация тәсілдерін жүйелеудің негізгі принциптері, әрине, өсімдік жасушаларына да, жануар ағзасының жасушалары мен ұлпаларына да қатысты. Мысалы, иммобилизация нұсқаларын көбіне тасымалдағыштың аумағында ұстап тұратын табиғат күші ретінде қарастырады. Онда иммобилизациялау әдістерін химиялық және физикалық деп бөледі. Бірінші жағдайда жасуша беті мен тасымалдаушы материалдың арасында ковалентті байланыстар орнайды, яғни жасуша химиялық тұрғыда тасымалдағышқа «тігіледі», ол өз кезегінде, сәйкес ерімейтін материалдың бетінде де, тасымалдағыштың көлемінде де жүзеге асуы мүмкін (егер иммобилизденген жасушалардың қатысында матрица құрастырылған кезде, бірігудің химиялық реакциялары жүреді, оған биополимер жасушаларының функционалдық топтары жұмсалады).

Екінші жағдайда тасымалдаушы арқылы жасушаны ұстап тұру физикалық факторлар есебінен болады: саңылаулары бар адсорбциондық полимерлік гель мембрана арқылы өтпейтін жасуша өлшемінен аз, электр тогымен және т.б. Иммобилизденген жасушалары бар биокатализаторларды алу әдістерін жүйелеудің екінші принципі мына сұраққа жауап беруден туындайды: «жасуша-тасымалдағыш» конъюгатының құрылуы қалайша іске асады – бір уақытта микроорганизмдердің қозғалысы тоқтауы және тасымалдаушы матрицасының түзілуімен қатар немесе алдын-ала дайындалған ерімейтін негізде белгілі-бір жолмен биологиялық әсер етуші бастама – жасушаны бекітеді. Дегенмен, жасушаларды иммобилизациялау әдістерін жүйелеудің келтірілген тәсілдері микроқоршау мәселелерін назардан тыс қалдырады, онда иммобилизациядан кейін микроорганизмдер қызмет атқаруы тиіс қой. Биокатализатор жұмысының нәтижелілігі жалпы көп жағдайда иммобилизденетін популяцияны қоректік заттармен немесе субстраттармен қамтамасыз ету тиімділігімен, сонымен қатар метаболиттерді шығару жеңілдігімен анықталады[7].

**Зерттеу материалдары мен әдістері.** Зерттеу нысандары ретінде 700°C температурада карбонизделген күріш қауызы қолданылды. Жану проблемалары Институтында алынған карбонизделген күріш қауызынан (ККК) жасалған сорбентте сүтқышқылды бактерияларды иммобилиздеу мүмкіндіктерін зерттеуге негіз болды.

Жұмыс барысында объект ретінде биологиялық сәйкестігі жоғары штамдар, яғни сүтқышқылды өнімдерден бөлініп алынған сүтқышқылды бактериялар – *Lactococcus sp. A3*, *Lactobacillus sp. B5*, *Lactobacillus sp. Ш5* қолданылды. Жұмыс барысында сорбент ретінде 700°C температурада карбонизделген күріш қауызы қолданылды. Карбонизделген күріш қауызы жоғары температураға төзімді болып келеді. Көптеген әдебиеттерде карбонизделген күріш қауызының сорбциялау қабілетінің жоғары екендігі айтылған. Бұл сорбенттің сорбциялық қабілеті жоғары болып келеді (1-сурет).

Жұмыста *Lactococcus sp. A3*, *Lactobacillus sp. B5*, *Lactobacillus sp. Ш5* штамдарының морфологиялық, культуральдық қасиеттерін зерттеу және дақылдауда МРС қоректік ортасы қолданды.

*Тасушыларды дайындау.* Көміртектендірілген сорбенттерді (сары өрік дәнектері) өлшем, 2 г Эрленмейер колбаларына (көлемі 250 мл) салады.

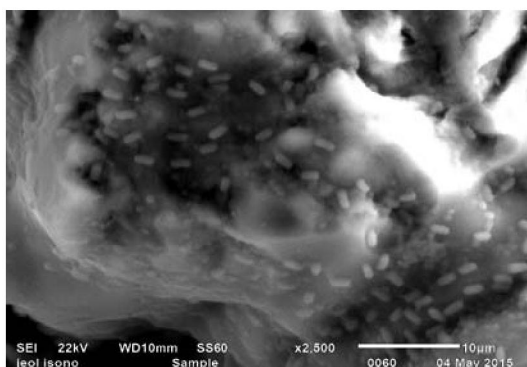


1-сурет – 700°C температурада карбонизделген күріш қауызы

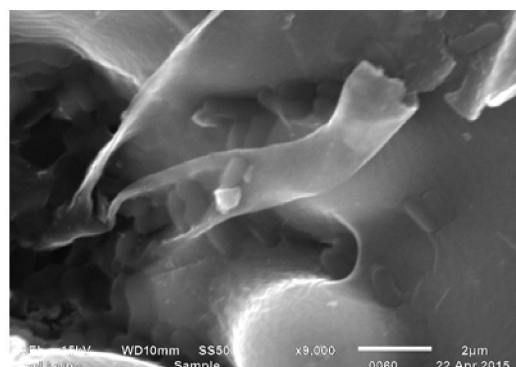
Үстіне 100 мл дистилденген су құйылады және 3 рет стерилизацияға (1 атмосфера 30 минут) жібереді. Стерилизациядан кейін сорбенттерді кептіргіш шкафта құрғақ массаға дейін кептіреді.

**Зерттеу нәтижелері және оларды талдау.** 700°C температурада карбонизделген күріш қауызы сорбентіне иммобилизденген сүт қышқылды бактериялардың сорбциялық белсенділігі жоғары болатыны анықталды. *Lactococcus sp. A3* клеткасының адсорбциялық белсенділігі 80% - ды құраса, *Lactobacillus sp. B5* клеткасының адсорбциялық белсенділігі 78% құраса, ал *Lactobacillus sp. Ш5* клеткасының адсорбциялық белсенділігі 88%-ды құрады. Яғни, зерттеу нәтижесі бойынша жоғары адсорбциялық белсенділікке *Lactobacillus sp. Ш5* штамның ие екендігі анықталды.

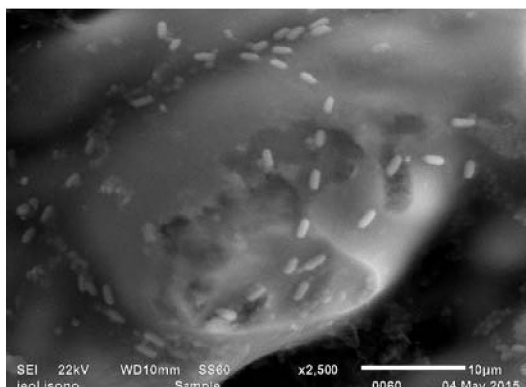
Зерттеу жұмысының барысында сүт қышқылды бактериялардың карбонизделген күріш қауызына иммобилизациясынан кейін биосорбенттердің электронды – микроскопиялық суреттері алынды. 2-, 3-, 4-ші суреттерде карбонизделген күріш қауызының бетіне және ішкі саңылауларына *Lactococcus sp. A3*, *Lactobacillus sp. B5*, *Lactobacillus sp. Ш5* клеткаларының иммобилизациясы көрсетілген.



2-сурет – Карбонизделген күріш қауызына *Lactobacillus sp. Ш5* клеткасының иммобилизденуі



3-сурет – Карбонизделген күріш қауызына *Lactococcus sp. A3* клеткасының иммобилизденуі

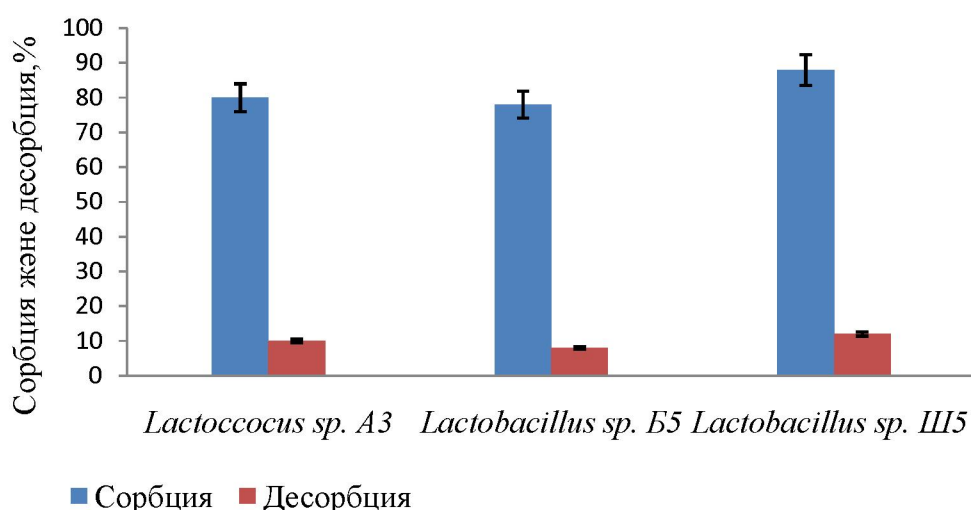


4-сурет – Карбонизделген күріш қауызына *Lactobacillus sp. B5* клеткасының иммобилизденуі

Жоғарыдағы 2–4-суреттерде көрініп тұрғандай, жұмыста қолданылған барлық сүт қышқылды бактериялардың карбонизделген күріш қауызы негізіндегі сорбенттердің беттеріне және олардың ішкі саңылауларына жақсы сорбцияланғаны байқалады.

Зерттеу жұмысының келесі сатысында *Lactococcus sp. A3*, *Lactobacillus sp. B5*, *Lactobacillus sp. Ш5* штамдарының карбонизделген күріш қауызы сорбентіне иммобилизациясы кезінде десорбциялық және сорбциялық мөлшері анықталды (5-сурет).

5-суретте көрініп тұрғандай, *Lactococcus sp. A3*, *Lactobacillus sp. B5*, *Lactobacillus sp. Ш5* штамдарының карбонизделген күріш қауызы сорбентіне иммобилизациясы кезінде сорбциялық көрсеткіші анықталды. *Lactococcus sp. A3* торшасының сорбциялық мөлшері 80%-ды құраса, десорбциялық мөлшері 10%-ты құрайды. *Lactobacillus sp. B5* штамның мөлшері 78%-ды құраса, десорбциялық мөлшері 8%-ды құрады. *Lactobacillus sp. Ш5* штамның сорбциялық мөлшері 88%-ды



5-сурет – *Lactococcus sp. A3*, *Lactobacillus sp. B5*, *Lactobacillus sp. III5* карбонизделген күріш қауызына иммобилизациясы кезіндегі сорбция және десорбция мөлшері

құраса десорбциялық көрсеткіші 12%-ды құрады. Зерттеу жұмысы бойынша, карбонизделген күріш қауызы сорбентіне иммобилизациясы кезінде *Lactobacillus sp. III5* штамның десорбциялық мөлшері сорбциялық мөлшеріне қарағанда төмен болатыны анықталды.

**Қорытынды.** *Lactococcus sp. A3*, *Lactobacillus sp. B5*, *Lactobacillus sp. III5* бактерия штамдарының карбонизделген күріш қауызына иммобилизденуі зерттелді. Карбонизделген күріш қауызы сорбентіне *Lactococcus sp. A3* клеткасының адсорбциялық белсенділігі 80% құраса, *Lactobacillus sp. B5* клеткасы 78% құраса, ал *Lactobacillus sp. III5* клеткасының адсорбциялық белсенділігі 88%-ды құрады. Карбонизделген күріш қауызы сорбентіне иммобилизациясы кезінде *Lactococcus sp. A3*, *Lactobacillus sp. B5*, *Lactobacillus sp. III5* штамдарының десорбциялық мөлшері сорбциялық мөлшеріне қарағанда төмен болатыны анықталды. Десорбциялық көрсеткіш 8-12% көрсетті. Жұмыс барысында карбонизделген күріш қауызы негізіндегі сорбенттерге сүтқышқыл бактерияларының иммобилизациясы зерттеліп, иммобилизденген микроорганизмдердің тіршілікке қабілеттілігі анықталды.

#### ӘДЕБИЕТ

- [1] Шыгаева М.Х., Қанаев Ә.Т. Микробиология және вирусология. – Алматы: Қазақ университеті, 2008.
- [2] Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Пробиотики и функциональное питание. – М.: Изд-во Грант, 2001.
- [3] Коровина Н.А., Захарова В.Н., Констадинова В.Н. Пробиотики и пребиотики при нарушениях кишечного микробиоценоза у детей. – М., 2004.
- [4] Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. – М., 1975.
- [5] Дигель И.Э., Жубанова А.А. Прикрепительная иммобилизация клеток микроорганизмов // Биотехнология. Теория и практика. – 1997. – № 4. – С. 3-9.
- [6] Волков М.Ю. Эффективные формы пробиотиков, иммобилизованных на природных адсорбентах // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. – 2007. – С. 48-51.
- [7] Курманбеков А. С. Биосорбенты на основа карбонизованных абрикосовых косточек и рисовой шелухи: Автореф. ... канд. хим. наук: 01.04.17. – Алматы, 2008. – 90 с.

#### REFERENCES

- [1] Shygaeva M.H., Kanaev A.T. Microbiology and virology. Almaty: Kazakh university, 2008.
- [2] Shenderov B.A. Meditsinskaya funktsionalnoe microbial ecology and food. Probiotics and funktsionalnoe food. M.: Iz-vo Grant, 2001.
- [3] Korovin N.A., Zakharov V.N., Konstadinova V.N. Probiotics and prebiotics for violations of intestinal microbiocenosis children. M., 2004.
- [4] Kvasnikov E.I., Necterenko O.A. Molochnokiclye bacteria and the use by them astray. M., 1975.

[5] Digel I.E., Zhybanova A.A. Attachment immobilization of microbial cells // Biotechnology. Theory and practice. 1997. N 4. P. 3-9.

[6] Volkov M.Y. Effective forms of probiotics, immobilized on natural adsorbents // Food ingredients. Raw materials and additives. 2007. P. 48-51.

[7] Курманбеков А.С. Биосорбенты на основе карбонизованных абрикосовых косточек и рисовой шелухи: Автореф. ... канд. хим. наук: 01.04.17. Алматы, 2008. 90 п.

**К. Б. Пердебаева, Д. М. Хусаннов, Х. Б. Абеуов**

Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ИММОБИЛИЗАЦИИ МОЛОЧНО-КИСЛЫХ БАКТЕРИЙ НА РИСОВУЮ ШЕЛУХУ**

**Аннотация.** В статье приведены данные исследования иммобилизации молочно-кислых бактерий на рисовую шелуху.

**Ключевые слова:** иммобилизация, сорбенты, карбонизованная рисовая шелуха, адсорбция, карбонизация, сорбция, штаммы бактерий.