

А.А. Жұбанова , Г.Ж. Абдиева , П.С. Уалиева , А.М. Мәлік\* 

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

\*e-mail: [azhar.malickyzy@gmail.com](mailto:azhar.malickyzy@gmail.com)

## СҮТ САРЫСУЫНЫҢ МИКРОБТЫҚ ҚАУЫМДАСТЫҒЫНЫҢ МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІ ЖӘНЕ ТАКСОНОМИЯЛЫҚ ҚҰРАМЫН ЗЕРТТЕУ

Биоэтанолға деген қызығушылық соңғы онжылдықтарда айтарлықтай артты, ол тек еріткіш, антифриз немесе әртүрлі органикалық қосылыстардың кең спектрін өндіруге арналған шикізат ретінде ғана емес, сонымен қатар белгілі бір дәрежеде өтеуге болатын биоотын ретінде де қарастырылды. Биоэтанолдың бензинге қарағанда келесі артықшылықтары бар: ол атмосфераны аз ластайды, оңай ыдырайды, октан саны жоғары және оны өндіру үшін жаңартылатын шикізатты пайдалана алады. Биоэтанолға үнемі өсіп келе жатқан сұраныс астық немесе картопқа қарағанда арзан жаңа субстраттарды іздеуді талап етеді. Осындай субстраттардың бірі ретінде негізгі көмірсуы лактоза болып табылатын сүт сарысуын пайдалану ұсынылады.

Зерттеу жұмысының мақсаты: сүт сарысуының микробтық қауымдастығының микробиологиялық көрсеткіштері және таксономиялық құрамын зерттеу.

Зерттеу жұмысы барысында «Мерке ірімшік зауыты» ЖШС, «Амиран» (сүт сарысуы) ЖШС, «Стелла Альпина» ЖШС (ірімшік сарысуы) сүт сарысуларының микробтық қауымдастығының микробиологиялық көрсеткіштері және таксономиялық құрамы зерттелді. Сүт сарысу үлгілерінен ашытқылардың 3 штаммы және сүт қышқылды бактериялардың 1 штамы бөлініп алынды. Ашытқылар мен сүт қышқылы бактерияларының дақылдарын түрге дейін идентификациялау нәтижесінде ГБ және ГТ штамдары *Kluyveromyces marxianus* түріне, М1 штамы – *Lactococcus lactis*, А1 – *Candida inconspicua* түріне дейін идентификацияланды.

**Түйін сөздер:** сүт сарысуы, биоэтанол, ашытқы дақылдары, сүтқышқылды бактериялар, штамм.

A.A. Zhubanova, G.Zh. Abdieva, P.S. Ualieva, A.M. Malik\*

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

\*e-mail: [azhar.malickyzy@gmail.com](mailto:azhar.malickyzy@gmail.com)

### Study of microbiological indicators and taxonomical composition of microbial association of milk whey

Interest in bioethanol has grown significantly in recent decades, not only as a solvent, antifreeze or feedstock for the production of a wide range of different organic compounds, but also, to some extent, as a biofuel. Bioethanol has the following advantages over gasoline: it is less polluting, decomposes easily, has a high octane number, and can use renewable raw materials for its production. The ever-growing demand for bioethanol requires the search for new substrates that are cheaper than grain or potatoes. As one of these substrates, it is recommended to use whey, the main carbohydrate of which is lactose.

The purpose of the study: to study the microbiological indicators and taxonomic composition of the microbial community of whey.

In the course of the study, the microbiological indicators and taxonomic composition of the microbial community of whey of Merke Cheese Factory LLP, Amiran LLP (whey), Stella Alpina LLP (cheese whey) were studied. From the serum samples, 3 strains of yeast and 1 strain of lactic acid bacteria were isolated. As a result of prespecies identification of cultures of yeasts and lactic acid bacteria, strains of GB and GT were identified as *Kluyveromyces marxianus*, strain M1 – *Lactococcus lactis*, A1 – *Candida inconspicua*.

**Key words:** whey, bioethanol, yeast cultures, lactic acid bacteria, strain.

А.А. Жұбанова, Г.Ж. Абдиева, П.С. Уалиева, А.М. Мәлік\*  
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы  
\*e-mail: azhar.malikkyzy@gmail.com

### Изучение микробиологических показателей и таксономического состава микробной ассоциации молочной сыворотки

Интерес к биоэтанолю значительно вырос в последние десятилетия не только как к растворителю, антифризу или сырью для производства широкого спектра различных органических соединений, но и в некоторой степени как к биотопливу. Биоэтанол имеет следующие преимущества перед бензином: он меньше загрязняет атмосферу, легко разлагается, имеет высокое октановое число и может использоваться для своего производства как возобновляемое сырье. Постоянно растущий спрос на биоэтанол требует поиска новых субстратов, более дешевых, чем зерно или картофель. В качестве одного из таких субстратов рекомендуется использовать молочную сыворотку, основным углеводом которой является лактоза.

Цель исследования – изучить микробиологические показатели и таксономический состав микробного сообщества молочной сыворотки.

В ходе исследования изучены микробиологические показатели и таксономический состав микробного сообщества молочной сыворотки ТОО «Сырзавод «Мерке», ТОО «Амиран» (сыворотка), ТОО «Стелла Альпина» (сырная сыворотка). Из образцов сыворотки выделено 3 штамма дрожжей и 1 штамм молочнокислых бактерий. В результате предвидовой идентификации культур дрожжей и молочнокислых бактерий штаммы ГБ и ГТ идентифицированы как *Kluuyveromyces marxianus*, штамм М1 – *Lactococcus lactis*, А1 – *Candida inconspicua*.

**Ключевые слова:** сыворотка, биоэтанол, дрожжевые культуры, молочнокислые бактерии, штамм.

#### Кіріспе

Соңғы бірнеше жылда мұнай мен газ бағасының күрт өсуіне, сондай-ақ бірқатар экологиялық проблемаларға байланысты биоөңделетін шикізатты пайдалануға негізделген биоэтанол өндірісін тұтынудың жылдам артуы дүние жүзінде атап өтілді [1-3]. Қазіргі таңда биоэтанолдың 90%-дан астамы, әдетте, катализаторлар ретінде ашытқы клеткаларын (көбінесе *Saccharomyces cerevisiae*) пайдалана отырып өндіріледі [4].

Крахмалды мақсатты өнімге – этанолға айналдыра отырып, амилолитикалық ферменттердің көмегімен крахмалды глюкозаға ферментативті түрлендіру арқылы биоэтанол алу үшін қолданылатын құрамында крахмалы бар шикізаттан басқа, биотехнологиялық өндірістің тағы бір перспективті көзі бар, ол – сүт сарысуы.

Тамақ өнеркәсібі және қайта өңдеу өнеркәсібі, халық шаруашылығының көптеген басқа салалары сияқты, қоршаған ортаны ластау көзі болып табылады. Сүт өнеркәсібі үшін сүт шикізаттың негізгі көзі болып табылады, бірақ оны қайта өңдеу кезінде сарысу, майсыздандырылған сүт, айран, сепаратор шламы және т.б. сияқты екіншілік шикізат пен қалдықтар пайда болады. Олар ағынды суларды ластаудың негізгі көзі болып табылады. Қалдық өндірістің барлық

дерлік кезеңдерінде түзілетіндіктен, барлық процестер әртүрлі ластаушы заттардың түзілуіне ықпал етеді [5]. Ластану құрамы бойынша сүт өнеркәсібінің ағынды сулары тұрмыстық сарқынды суларға қарағанда 10 есе көп ластанған және тазартылмай ағызылғанда қоршаған ортаға ерекше қауіп төндіреді. Су қоймаларына ағызылған кезде тазартылмаған ағынды сулар судың физика-химиялық қасиеттерін айтарлықтай нашарлатады, ондағы оттегінің құрамын төмендетеді. Белгілі бір концентрацияларда ағынды сулардың ашық суқоймаларына түсіуі судағы биологиялық ресурстарының тіршілігіне кері әсерін тигізеді. Тағам және басқа да өнеркәсіп орындарының көпшілігі елді мекендер аумағында орналасқандықтан, олардың сарқынды сулары тек канализация жүйесіне ғана емес, сонымен қатар су құбырларына да бітетіндігі проблеманы қиындатады.

Тазалау құрылыстарының құнын төмендетудің және су айдындарына сарысуды төгуден келетін зиянды жоюдың бірден-бір жолы – оны ұтымды пайдалану. Бұл өте қажет, өйткені сүттің құрғақ бөліктерінің жартысы сүт сарысуына өтеді, нәтижесінде сүтті өңдеу кезінде шамамен 15 тонна сарысуды қабылдап, оны ағынды суларға жіберетін зауыт 45 кг май, 120 кг ақуыз, 720 кг сүт қанты, сондай-ақ витаминдер мен минералдардың айтарлықтай

мөлшерін жоғалтады. Сүт сарысуын өңдеудің әртүрлі әдістері бар, олар одан ең құнды ингредиенттерді бөліп алумен немесе оның барлық компоненттерін пайдаланумен байланысты болуы мүмкін. Бұл микробтық синтез өнімдерін алу үшін ақуызды, сүт қантын алу, глюкоза-галактоза сиропын, әртүрлі сусындарды дайындау, микроорганизмдерді өсіру үшін орта ретінде пайдалану [6]. Дегенмен, барлық нұсқалардың ішінде спирт алу үшін сарысуды лактозаны ашытатын ашытқылардың әртүрлі культураларымен ашыту бүгінгі күні өте өзекті болып қала береді және зерттеушілер үшін үлкен қызығушылық тудырады.

Этил спирті (этанол) – көмірсуларды микроорганизмдердің ашыту процесінің кең таралған өнімдерінің бірі болып табылады. Этанол синтетикалық каучук өндіру үшін еріткіш және химиялық шикізат ретінде, медицинада, сонымен қатар бензинді ішінара алмастыра алатын отын ретінде (оны 10% және одан да көп концентрацияда бензинге қосуға болады) кеңінен қолданылатыны белгілі [7].

Спирт өндірісінің дәстүрлі шикізаты – құрамында жеткілікті ашытылатын қанттар немесе қанттандыруға болатын басқа көмірсулар бар әртүрлі өсімдік материалдары. Құрамында крахмал бар материалдардың ең көп қолданылатыны астық (қара бидай, бидай, жүгері, арпа, сұлы, тары) және картоп, құрамында қант бар материалдар – меласса (қант және крахмал өндірісінің қалдықтары), дефектті қант қызылшасы, сонымен қатар ағаш қалдықтары және ауылшаруашылық қалдықтары.

Микроорганизмдер ұзақ уақыт бойы спирт және спирттік сусындарды өндіру үшін қолданылған. Мәселен, Шығыста *Aspergillus oryzae* [8] дақылы күріш арағын (сакэ) өндіруде спирттік ашыту қоздырғышы ретінде қолданылады, Мексикада және басқа елдерде осындай жағдайларда *Zygomonas mobilis* [9] бактериялары қолданылады. Бірақ, әртүрлі шараптарды, сыраны, арақтарды және басқа да алкогольді және аз алкогольді сусындарды өндіруде ең үлкен практикалық маңызы бар ашытқы, оның этанолының негізгі өндірушілері *Saccharomyces cerevisiae* штамдары болып табылады [10, 11]. Олар, басқа саңырауқұлақтардың көпшілігі сияқты, аэробты тыныс алады, бірақ ауасыз, көмірсуларды этанол мен CO<sub>2</sub>-ге дейін ашытады.

Этанолға үнемі өсіп келе жатқан сұраныс астық немесе картопқа қарағанда арзан жаңа

субстраттарды іздеуді талап етеді. Осындай субстраттардың бірі ретінде негізгі көмірсуы лактоза болып табылатын сүт сарысуын пайдалану ұсынылады. Соңғы 30 жылда көптеген авторлар негізінен *Kluyveromyces fragilis*, *K. marxianus* және *C. pseudotropicalis* ашытқыларына сілтеме жасай отырып, лактозадан этанол алу тәсілдерін қарастырды. «The Yeasts, a taxonomic study» деген зерттеудің ең соңғы басылымында [12] олардың барлығы *K. marxianus* ашытқысының синонимдері ретінде берілген. *K. fragilis* және *K. marxianus* ашытқылары ежелден жеке түр болып саналды, бірақ бүгінде *K. fragilis* ашытқысы *K. marxianus* түрінің құрамына кіреді. *Candida pseudotropicalis* (*C. kefir* синонимі) — *K. marxianus* анаморфты (жыныссыз) түрі. Ғылыми зерттеулерден басқа, негізінен *Kluyveromyces* ашытқысын пайдаланып, сарысудан этанол өндіретін өнеркәсіптік зауыттардың бірнеше жағдайлары бар [13-14]. *S. cerevisiae* ашытқысын лактозаны ашыту үшін қолдануға да көп көңіл бөлінді. Бастапқы стратегиялар алдын ала гидролизденген лактоза ерітінділерін, яғни глюкоза мен галактоза қоспаларын ашытуды қамтыды. Сонымен қатар, лактоза-фертильді *S. cerevisiae* штамдары протопласт синтезі және гетерологиялық β-галактозидазалардың экспрессиясы сияқты бірнеше әдістермен жасалған [15-17].

Соңғы жиырма жылда биокатализаторлардың жаңа түрін – микроорганизмдердің иммобилизацияланған клеткаларын алу бойынша зерттеулер белсенді түрде жүргізілуде [18-21]. Олар микроорганизмдердің иммобилизацияланған клеткаларының негізінде сарысу негізінде этанолдың экономикалық тиімді өндірісін ұйымдастыруға болатынын көрсетеді. Бұл субстраттың құны өте төмен, ал иммобилизацияланған микроб клеткаларына негізделген биореактордың өнімділігі әртүрлі авторлардың пікірінше, бос клеткаларға негізделген дәстүрлі биореакторға қарағанда 3-50 есе жоғары. Көптеген жарияланымдар гидрофильді гелдерге енгізілген ашытқы клеткалары бар биореакторларды сипаттайды; сорбция және химиялық иммобилизация туралы есептер бар [22].

Осылайша, жоғарыда келтірілген мысалдарда көрсетілгендей, иммобилизацияланған ашытқы клеткалары бар биореактор биоэтанолдың жоғары шығымдылығымен оңтайлы жағдайларда сарысуды үздіксіз ферментациялауға мүмкіндік береді.

## Зерттеу әдістері

*Сарысу үлгілерінің физика-химиялық көрсеткіштерін және микробтық пейзаждарын зерттеу. Сүт сарысуынан сынама алу және олардың физика-химиялық және органолептикалық қасиеттерін зерттеу.*

Сүт сарысуын іріктеу процесінде түзілетін ағынды сулардан сынамаларды алу (ГОСТ 33957-2016 «Сүт сарысуы және оның негізіндегі сусындар. Қабылдау ережелері, сынамаларды іріктеу және бақылау әдістері»).

*Органолептикалық көрсеткіштерді анықтау.*

Органолептикалық бағалау сынама алынғаннан кейін де, 2°C-тан 6°C-қа дейінгі температурада 8 сағаттан аспайтын сақтау және тасымалдаудан кейін де жүргізіледі.

Дәмі мен иісі, құрылымы, сыртқы түрі мен түсі визуалды және сенсорлық талдау арқылы анықталады және олардың стандартты қабылдаған елдегі қолданыстағы нормативтік немесе техникалық құжаттарға сәйкестігін тексереді.

Өнімдердің сыртқы түрі мен түсі келесідей анықталады. Біріктірілген үлгіден сарысудың немесе сусынның бір бөлігі таза және құрғақ Петри табақшасына құйылады, оны ыдыстың жартысына жуығына толтырады. Петри табақшасын ақ қағазға қойып, шағылысқан жарықта ыдыстың ішіндегісін зерттейді.

Иісі мен дәмін органолептикалық бағалау өнімді иіскеу және дәмдеу арқылы жүзеге асырылады. Өнімнің сынақ үлгісі бар стақан мұрынға 1-2 см қашықтықта жеткізіледі. Иісі қысқа терең екі рет тыныс алу арқылы анықталады. Содан кейін, өнімді кем дегенде 10 см ішеді, оны ауыз қуысына тілдің түбіне дейін жеткізіп және оны ауыз қуысында шамамен 7 секунд ұстайды. Содан кейін үлгі түкіргішке төгіледі. Жұту қозғалысы мұрынға дем шығару арқылы жүзеге асырылады және сынақ үлгісінің иісі мен дәміне қорытынды баға беріледі. Ауыз қуысы 35 ± 5°C температурада әлсіз қайнатылған шаймен мұқият шайылады.

Сарысу мен сусындардың консистенциясы оларды сыйымдылығы шамамен 100 см<sup>3</sup> мөлдір түссіз колбадан құйылатын сұйықтықтың біртектілігін бақылай отырып, сол текті басқа колбаға құю арқылы анықталады. Содан кейін олар өнімдер құйылған ыдыстың ішкі қабырғаларын мұқият тексеріп, ақуыз үлпектерінің болуын және т.б.

*Титрленетін қышқылдықты анықтау.*

Титрленетін қышқылдықты анықтау сүт сарысуындағы тұздарды, белоктарды, көмір-

қышқыл газын және басқа қосылыстарды натрий гидроксидімен титрлеуге негізделген. Бастапқы сынақтардағы титрленетін қышқылдық Тернер градусымен (°Т) көрсетілген. Титрленетін қышқылдықты анықтау үшін сыйымдылығы 150 см<sup>3</sup> конустық колбада үш тамшы 1% фенолфталеин ерітіндісі бар 10 см<sup>3</sup> сарысуды өлшеу керек. Ерітіндіні мұқият араластырып, 0,1 Н титрлейді, мысалы, натрий (калий) гидроксиді, тұрақты қызғылт түс алынғанша. Бұл титрлеу процесі үш рет қайталанып, қышқылдықты анықтау үшін ортаңғы нүкте пайдаланылды. Қышқылдықты есептеу формуласы (2.1).

$$X = \frac{n \times 100}{m} \quad (2.1)$$

Бұл формулада: X – қышқылдық өлшемі; n – титрлеуге жұмсалған 0,1 н NaOH көлемі, см<sup>3</sup>; 100 – 100 г өнімге түрлендіруге қажетті коэффициент; m – сарысудың массасы, г.

Белсенді қышқылдық – сарысудың рН мәндері зертханалық рН-метр – 150 МІ көмегімен анықталды. рН өлшеу процесі әр 3 күн сайын қайталанатын. Сарысу қышқылдығы рН оны орта ретінде пайдалану критерийлерінің бірі болып табылады.

*Сарысудың микробтық қауымдастығының микробиологиялық көрсеткіштерін және таксономиялық құрамын зерттеу.*

Микроорганизмдердің физиологиялық топтарын және санын анықтау қатты қоректік орталарда табиғи субстрат үлгілерін сұйылту әдісімен жүзеге асырылды. Үлгілердегі микроорганизмдердің колония түзуші бірліктерінің титрін анықтауда Кох әдісі қолданылды. Әдістің мәні зерттелген микроорганизмдердің суспензиясының белгілі бір көлемін Петри табақшаларына қатты ортаға егу және инкубациядан кейін өсіп шыққан колонияларды санау болып табылады. Егу Петри табақшаларында агар қоректік ортада жүргізіледі. Инокуляцияларды инкубациялаудан кейін өсірілген колониялардың саны анықталды және 1 г үлгідегі колония түзуші бірліктердің (КТБ) саны анықталды. Табиғи субстраттардың микрофлорасының сапалық және сандық құрамын зерттеу микробиологияның дәстүрлі әдістерімен жүргізілді. МАФАНМ микроорганизмдерінің жалпы санын анықтау үшін ет-пептонды агар (МПА) қолданылады. Микроорганизмдердің әртүрлі физиологиялық топтарының санын анықтау үшін элективті сәйкес қоректік орталарды пайдаланады. Ашытқыны бөліп алу үшін үшін қатты және сұйық Сабуро, МРС, МПА орта-

лары қолданылды. Дақылдарды өсіру термостатта 28°C-30°C температурада 2-5 күн бойы жүргізілді. Ашытқыларды өсіру үшін қоректік орта ретінде Сабуро ортасы (ашытқы үшін), (г/л): глюкоза-40,0; пептон-10,0; агар 18,0-20,0 құбыр суы.

*Сарысу үлгілерінен таза дақылдарды бөліп алу әдістері*

Таза дақылдарды бөліп алу тығыз қоректік ортаның бетінде механикалық бөлу арқылы жүзеге асырылды (тұзақты күйдірумен штрих әдісі) [23]. Жеке колониялардың тазалығы микроскопия арқылы тексерілді және өсіру үшін қоректік агар қиғаштарына жабылды. Микроорганизмдердің таза дақылдары 2-5 күн бойы культивацияланды.

Микроорганизмдердің морфология – дақылдық, физиология – биохимиялық сипаттамаларын анықтау жалпы қабылданған әдістер бойынша жүргізілді. Ашытқылардың морфологиялық және дақылдық қасиеттері келесі белгілер бойынша зерттелді: клеткалардың пішіні мен орналасуы, клетка өлшемі, қатты қоректік ортадағы колония сипаттамасы, сұйық қоректік ортада өсу сипаты. Ашытқылардың физиологиялық және биохимиялық қасиеттері келесі белгілер бойынша анықталды: ашытқылардың 200С, 28°C, 37°C, 45°C температурадағы термиялық тұрақтылығы, 2%, 4% және 6% NaCl әртүрлі концентрацияларға төзімділігі, әртүрлі көмірсуларды ашытуы [24].

Ашытқы дақылдары морфология-дақылдық, физиология-биохимиялық қасиеттерін зерттеу негізінде дәстүрлі әдістермен анықталды. Ашытқыларды анықтау үшін анықтамалық нұсқаулықты И.П. Бабиева, В.И. Голубева «Ашытқыларды бөліп алу және идентификациялау әдістері» қолданды [25].

Ашытқылардың әрбір түріне қатысты эксперименттер 3 рет қайталаумен жүргізілді.

*Лактозаны ашытатын перспективті ашытқы штамдарын бөліп алу және анықтау.*

Геномдық ДНҚ өндірушінің (Invitrogen, Carlsbad, АҚШ) хаттамасына сәйкес ДНҚ оқшаулау үшін PureLink геномдық ДНҚ жинағының көмегімен бактериялардың күнделікті дақылдарынан бөлініп алынды. Үлгілердегі ДНҚ концентрациясы Qubit™ dsDNA HS талдау жинағы (Life Technologies, Орегон, АҚШ) көмегімен Qubit® 2.0 флюорометрде анықталды. Генетикалық маркер ретінде 16S рРНҚ генінің аймағы пайдаланылды. 16s РНК

аймағын амплификациялау үшін 25 мкл реакция қоспасы дайындалды: 12,5 мкл Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix (New England Biolabs Ins., АҚШ); әмбебап праймер жұбы: 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') және 806R (5'-GGACTACCGGGTATCTAAT-3') [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.] 10 мкМ концентрацияда 1,2 мкл; ДНҚ матрицасы және су 25 мкл дейін. Қолдану режимі келесі циклдардан тұрды: 95°C 5 минут, содан кейін: 95°C – 30 секунд, 55°C – 40 секунд, 72°C – 50 сек – 30 цикл; ұзарту 72°C температурада 10 минут.

ПТР өнімі CleanSweep™ ПТР тазарту реагентінің көмегімен тазартылды (Life Technologies, Carlsbad, CA).

Бактериялардың 16S rRNA генінің фрагменттерін секвенирлеу өндірушінің хаттамасына (BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit Protocol Applied Biosystems, АҚШ) сәйкес Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, АҚШ) арқылы жүзеге асырылды, содан кейін фрагменттерді автоматты генетикалық анализатор 3500 DNA Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Hitachi, Токио Жапония) ішіне бөлу жүзеге асырылды.

Тізбектеу нәтижелері SeqA бағдарламалық құралының (Қолданбалы биосистема) көмегімен өңделді. 16S рРНҚ гендерінің гомологты нуклеотидтер тізбегін іздеу АҚШ Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығының Халықаралық гендік банкінің дерекқорындағы BLAST бағдарламасының (Негізгі жергілікті теңестіруді іздеу құралы) көмегімен жүзеге асырылды (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) [Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A New Generation of Protein Database Search Programs. Nucleic Acids Research, 1997. Vol. 25, No. P. 3389-3402]. Филогенетикалық талдау MEGA 6 бағдарламалық құралын [Kumar, S., K. Tamura, and M. Nei. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. Briefings in bioinformatics. Vol. 5 No 2. 150-163. June, 2004. [PubMed]. Нуклеотидтер тізбегін туралау ClustalW алгоритмі арқылы орындалды. Филогенетикалық көршілер BLASTN Neighbor-Joining (NJ) Altschul әдісі арқылы анықталды.

## Нәтижелер және талқылау

*Сүт сарысуының физика-химиялық және органолептикалық қасиеттері*

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

Екінші сүт шикізатының химиялық құрамы, энергетикалық немесе тағамдық құндылығы және физикалық қасиеттері көбінесе оны өндіру әдістеріне байланысты. Қазіргі уақытта сүтте кездесетін барлық дерлік қосылыстар белгілі бір дәрежеде екіншілік сүт шикізатына өтеді [26].

Біз өз жұмысымызда сүт сарысуының физика-химиялық және органолептикалық қасиеттерін зерттедік. Зерттеу нысаны ретінде «Меркен ірімшік зауыты» ЖШС сүт сарысуын, «Amiran» ЖШС (сүт сарысуы), «Stella Alpina» ЖШС (ірімшік сарысуы) пайдаландық. Сарысу үлгілерінің органолептикалық көрсеткіштері кесте-1 берілген.

**1-кесте** – Сүт сарысуының органолептикалық сипаттамасы

Аты	Сарысу		
	ТОО Amiran (сүт сарысуы)	ТОО Stella Alpina (ірімшік сарысуы)	ТОО «Мерке ірімшік зауыты»
Иісі және дәмі	бөгде дәмсіз және иіссіз таза сүт дәмі	тұзды дәм, ірімшік иісі	таза сүт дәмі мен сүтті иіс
Сыртқы түрі және консистенциясы	тұнбасыз және қабыршақсыз біртекті мөлдір сұйықтық	тұнбасыз біртекті мөлдір сұйықтық	тұнбасыз және қабыршақсыз біртекті мөлдір сұйықтық
Түсі	ақшыл	сарғыш немесе бозғылт жасыл	сары

Сүт сарысуының органолептикалық қасиеттерін зерттеу нәтижесінде «Мерке ірімшік зауыты» ЖШС және «Amiran» ЖШС сүт сарысуы таза сүт дәмі мен сүт иісі бар, консистенциясы тұнбасыз біртекті мөлдір емес сұйықтық, түсі ақтан ашық сарыға дейін болды. «Stella Alpina» ЖШС сүт сарысуы тұзды дәмі, ірімшік иісі бар, консистенциясы біркелкі, тұнбасыз және үлпексіз мөлдір сұйықтық, түсі сарғыш немесе бозғылт жасыл. Нәтижелер таңдалған сүт және

ірімшік сарысуын өндірушілердің өнімдерінің жақсы сапасын көрсетеді және пайдаланылған сарысудың жақсы сапасын көрсетеді. Сарысуға сәйкес келетін консистенциясы мен қалыпты сыртқы түрі, дәмі мен иісі біркелкі болуы сарысуды жинау кезеңінде барлық санитарлық нормалар мен ережелердің сақталуын куәландырады.

Әрі қарай жұмыста сүт сарысуы үлгілерінің физика-химиялық көрсеткіштері зерттелді. Нәтижелер 2-кестеде көрсетілген.

**2-кесте** – Сүт сарысуының физика-химиялық көрсеткіштері

Сарысу	Көрсеткіштер			
	Май %	Ақуыз %	Көмірсу %	Энергетикалық құндылығы, ккал/г
Amiran (сүзбе сарысуы)	0.2 ± 0,008	0,8 ± 0,032	3,2 ± 0,13	20 ± 0,8
Stella Alpina (ірімшік сарысуы)	0.2 ± 0,008	0,8 ± 0,032	3,5 ± 0,14	20 ± 0,8
«Меркен ірімшік сарысуы»	0.2 ± 0,008	0,8 ± 0,032	3,2 ± 0,13	20 ± 0,8

Сарысудың құрғақ затын құрайтын компоненттер олардың тағамдық және технологиялық қасиеттерін анықтайды. Екінші реттік сүт

шикізатының ең бағалы компоненттері – белоктар, сүт майлары, көмірсулар, минералды тұздар. 2-кестеге сәйкес барлық сарысу

үлгілерінде: майлар – 0,2%, белоктар – 0,8%, көмірсулар 3,2-3,5% аралығында, энергетикалық құндылығы 20 ккал/г құрады.

Сүт сарысуының әртүрлі түрлерінің құрамы мен қасиеттері алынған негізгі өнімнің түріне байланысты. Сарысудың құрамындағы негізгі компонент лактоза болып табылады, ол құрғақ затта 70-75% құрайды. Сонымен қатар, сүзбе сарысуындағы лактоза сүт қышқылына ашытуға байланысты сәл аз болады, бұл сарысудың қышқылдығына әсер етеді. Сүттің жеке компоненттерінің сүт сарысуына өту дәрежесі гелдену және синерезис процестерімен байланысты. Майдың 6,3 – 12,4%-ы сарысуға өтеді, ал оның абсолютті мөлшері шикізат пен технологияның майлылығына байланысты кең шектерде – 0,05-0,5%-ға дейін өзгереді. [27].

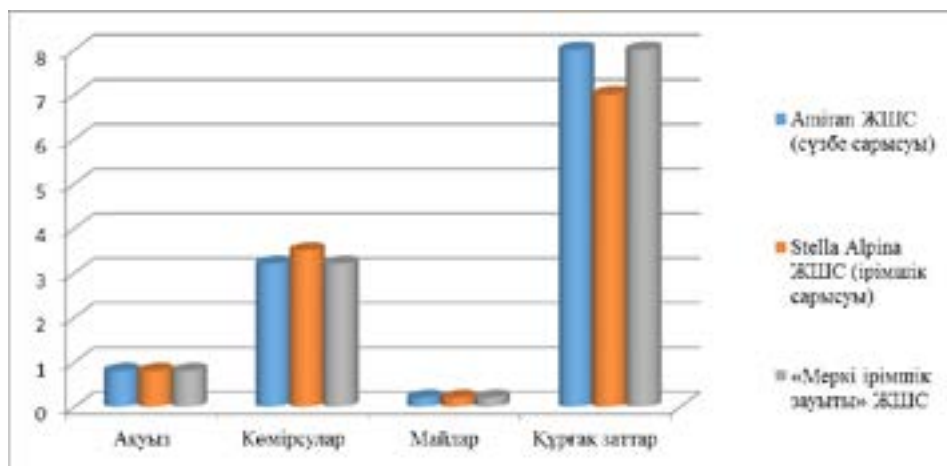
Әрі қарай жұмыста біз құрғақ заттың массасын және сарысу үлгілерінің ылғалдылығын анықтадық (Кесте-3). Ылғалдылық МАС 110.X Radwag ылғал анализаторы арқылы анықталды. Сүт өнімдері (сүт, сарысу) 110 градус Цельсийде өлшенеді, өнімнің көлемі 5 мл. Құрғақ заттың

массасы үлгі толық құрғағанша дәл осылай анықталды.

**3-кесте** – 100 г сүт сарысуындағы құрғақ заттың салмағы мен ылғалдылығы

Сарысу	Ылғалдылық %	Құрғақ зат (г)
Amiran ЖШС (сүзбе сарысуы)	92.067±1,8	8±0,16
Stella Alpina ЖШС (ірімшік сарысуы)	93.001±1,9	7±0,14
«Меркі ірімшік зауыты» ЖШС	92±1,8	8±0,16

Құрғақ затты анықтау шикізаттың сапасын бағалау кезінде ерекше маңызды және қажетті көрсеткіш болып табылады. 3 кестеден көріп отырғанымыздай, сарысу үлгілерінің ылғалдылығы 92-93,001% аралығында болды, 100 г сарысудағы құрғақ заттың массасы 7-8 г. Сарысу үлгілеріндегі негізгі компоненттердің құрамы 1 суретте көрсетілген.



**1-сурет** – Сүт сарысуы үлгілеріндегі негізгі компоненттердің құрамы

1-суреттен көрініп тұрғандай, сүт сарысуының әртүрлі түрлерінің құрамы мен қасиеттері шикізаттың осы түрлеріне арналған нормативтік-техникалық құжаттаманың талаптарына сәйкес келеді, бұл сүт сарысуының үлгілерін биоэтанол өндірісінде пайдалануға жарамды деп санауға толық құқық береді.

Сүт сарысуының титрленетін қышқылдылығын және белсенді қышқылдығын анықтау. Титрленетін қышқылдық сүт пен сүт өнімдерінің балғындығының ең маңызды көрсеткіші бо-

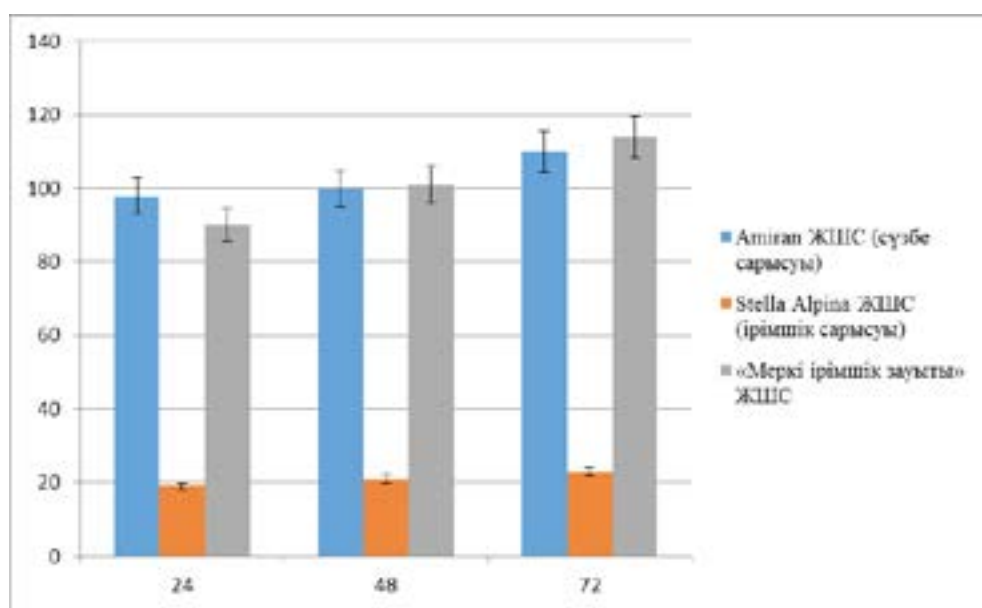
лып табылады. Жалпы қышқылдық деп титрлеу кезінде сілтімен әрекеттесетін өнімдегі барлық қышқылдар мен олардың қышқыл тұздарының құрамын айтады. Титрленетін қышқылдықты анықтау әдісі индикатор ретінде фенолфталеиннің қатысуымен өнімнің құрамындағы қышқылдарды натрий гидроксиді ерітіндісімен бейтараптандыруға негізделген. Ол Тернер градусымен (°Т) көрсетіледі және жаңа сауылған сүт үшін 16-18 °Т құрайды. Титрленетін қышқылдықты анықтайтын сүт



өнімдерінің негізгі құрамдас бөліктеріне кальцийдің, натрийдің, калийдің қышқыл фосфатты тұздары, лимон қышқылы тұздары, көмірқышқыл газы, белоктар жатады. Сүттің титрленетін қышқылдығын құруға ақуыздардың қатысуы 3-4 °Т құрайды. Сүт пен сарысуды сақтау кезінде лактозадан сүт қышқылының түзілуіне байланысты титрленетін қышқылдық жоғарылайды. Бірақ сүттің қышқылдық қасиетін сүттің құрамындағы қышқылдар мен қышқыл тұздардың электролиттік диссоциация-

сы нәтижесінде түзілетін сутегі иондары ғана анықтап қоймайды [28].

Белсенді қышқылдық – бұл сүт пен сарысудың сапа көрсеткіштерінің бірі. Белсенді қышқылдық (рН) сутегі иондарының концентрациясымен анықталады. Өнім ақуыздарының коллоидтық күйі, пайдалы және зиянды микрофлораның өсуі, термиялық тұрақтылық, ферменттердің белсенділігі рН мәніне байланысты болады. Осыған байланысты біз сарысу үлгілерінің титрленетін қышқылдығын зерттедік (2-сурет).



2-сурет – Сүт сарысуы үлгілерінің титрленетін қышқылдығы

2-суретте көрсетілгендей, сарысудың титрленетін қышқылдығы уақыт өте келе жоғарылайды. «Меркі ірімшік зауыты» ЖШС ірімшік сарысуының үлгілерінде титрленетін қышқылдықтың жоғары көрсеткіштері байқалады, бұл үлгілердегі қышқылдық 90-114°Т шамасында ауытқиды. «Amiran» ЖШС сүзбе сарысуында титрленетін қышқылдық 98-110°Т, ал «Stella Alpina» ЖШС ірімшік сарысуында 19-23°Т болды. Сарысу үлгілерінің титрленетін қышқылдығы 19-дан 114°Т-ге дейін. Нормативтік құжаттарға сәйкес ірімшік сарысуының қалыпты титрленетін қышқылдығы 20°Т болса, сүзбе және казеин сарысуында бұл деректер сәйкесінше 70-75°Т шамасында ауытқиды.

Көбінесе көптеген ғалымдарды рН мәнімен (ортадағы сутегі иондарының концентрациясы) сипатталатын титрленетін қышқылдық (Тер-

нер дәрежесіндегі қышқылдық) және белсенді қышқылдық (немесе шынайы қышқылдық) арақатынасы қызықтырады. Сүзбе сарысуы үшін орташа белсенді қышқылдық рН 4,0-ден 5,0 бірлікке дейінгі диапазонда болады. Дегенмен, қышқылдық көптеген факторларға байланысты: бастапқы сүт шикізатының сипаттамалары, температура, сақтау ұзақтығы (рН төмендейді). Сонымен қатар, қоректік ортаны дайындау үшін (бактериялық ашытқыларды өндіру кезінде) сүзбе сарысуы тазартылады және белгілі бір температуралық көрсеткішке дейін жеткізіледі, мысалы, қышқылсыздандырылады (рН 6,0-6,5 және одан жоғары). Осылайша, табиғи сүзбе сарысуы мен өңделген сарысудың рН мәні айтарлықтай ерекшеленеді. Біз сарысу үлгілерінің белсенді қышқылдығын зерттедік (4-кесте).



4-кесте – Белсенді қышқылдығы – сүт сарысуы үлгілерінің рН мәні

Сарысу	24 сағат	48 сағат	72 сағат
Amiran ЖШС (сүзбе сарысуы)	5	4.8	4.6
Stella Alpina ЖШС (ірімшік сарысуы)	5.6	5.5	5.3
«Меркі ірімшік зауыты» ЖШС	4.9	4.7	4

4-кестеден көріп отырғанымыздай, «Amiran» ЖШС сүзбе сарысуының белсенді қышқылдығының (рН) мәні рН 5-тен рН 4,6-ға дейін өзгерді. «Stella Alpina» ЖШС ірімшік сарысуының белсенді қышқылдығы рН 5,6 – рН 5,3 болса, «Меркі ірімшік зауыты» ЖШС ірімшік сарысуының мәні (рН) рН 5,6 – рН 5,3 шегінде ауытқиды.

Осылайша, біз өз жұмысымызда сүт сарысуының физика-химиялық және органолептикалық қасиеттерін зерттедік, биоэтанол өндірісінде қолдану үшін сүт сарысуының қасиеттеріне сипаттамалар бердік.

*Сүт сарысуының микробтық қауымдастығының микробиологиялық көрсеткіштері және таксономиялық құрамы*

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

Жаңа піскен ірімшік сарысуының микрофлорасы сүтқышқылды микроорганизмдермен, ашытқылармен және спора түзетін таяқшалармен ұсынылған, сонымен қатар ол коккты да, таяқша тәрізді де ыстыққа төзімді микрофлораны сақтайды. Ірімшік сарысуының микрофлорасында ішек таяқшалары тобының бактериялары, лактозаны ашытатын сүтқышқылды микроорганизмдер сүтқышқылды микроорганизмдері, гетероферментативті сүт қышқылы бактериялары, ыстыққа төзімді микрофлора, микроорганизмдердің ашытқы дақылдары, ашытқы және зен саңырауқұлақтары анықталуы мүмкін. Сүзбе сарысуының микрофлорасының

құрамында кокк, диплококк және таяқша тәрізді пішінді ашытқының мезофильді микрофлорасы бар [29].

Жұмыста біз сүт сарысуының 3 үлгісінің микробиологиялық көрсеткіштері мен микробтық қоғамдастықтың таксономиялық құрамын зерттедік. Сүт сарысуы үлгілерінің микрофлорасын анықтау және ашытқы мен лактобактериялардың таза дақылдарын бөлу үшін Кох әдісімен MRS, Sabourand Dextrose Agar және ЕПА сияқты қатты қоректік ортаға себу жүргізілді. Сарысу үлгілерінің микробтық қауымдастығының таксономиялық құрамы 3 суретте көрсетілген.

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

Сурет 3 –те көрсетілгендей, MRS қатты қоректік ортасында КТБ сүт қышқылы бактерияларының саны  $2,5-7,2 \times 10^7$  КТБ/мл құрады. Sabourand Dextrose Agar ортасында ашытқы колонияларының саны  $2,8-3,9 \times 10^7$  КТБ/мл болды. ЕПА әмбебап ортасында гетеротрофты микроорганизмдердің саны  $1,2-2,8 \times 10^7$  КТБ/мл құрады, бұл элективті ортада өскен микроорганизмдермен салыстырғанда төмен. Бұл сүт сарысуының микрофлорасында лактозаны ашытатын ашытқы және сүт қышқылы бактериялары сияқты сүт қышқылы микроорганизмдерінің өкілдері басым болатындығына байланысты.

Бұл жұмыста сүт сарысуы үлгілерінен ашытқы және сүт қышқылы бактериялары бөлініп алынды. Сүт сарысуынан ашытқы дақылдарын бөліп алу дәстүрлі микробиологиялық әдіспен жүргізілді.

Ашытқының жинақтаушы культурасын алу олардың құрамында қант бар субстраттарда әлсіз қышқылдық реакциямен өсу қабілетіне және этил спиртіне төзімділігіне негізделген. Ашытқының жинақталуы қоректік ортада тұнба мен олардың өмірлік белсенділігінің тән өнімдерінің болуымен және микроскопиялық жолмен визуалды түрде анықталды, ал лактобактериялар микроскоппен анықталды [30].

Ашытқы және сүт қышқылы бактерияларының штамдарының түрлік тиістілігін анықтау үшін дәстүрлі әдістермен морфологиялық-культуралық қасиеттері зерттелді [31, 32]. Таңдалған ашытқы мен сүт қышқылы бактерияларының морфологиялық және культуралық қасиеттері 5 кестеде келтірілген.



3-сурет – Өртүрлі коректік орталарда таксономиялық топтардың микроорганизмдерінің өсуі



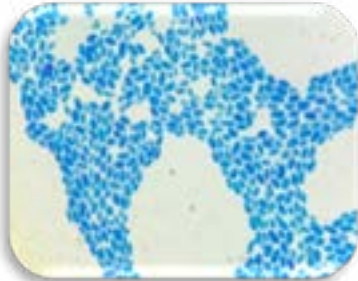

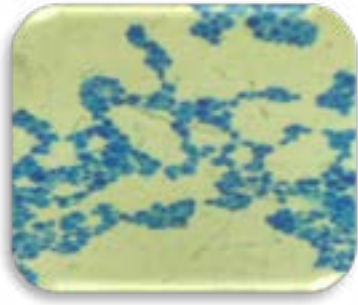
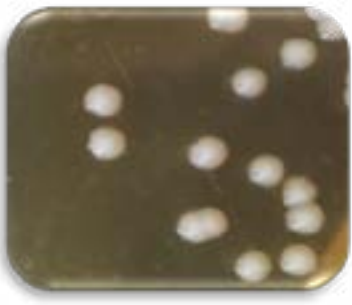
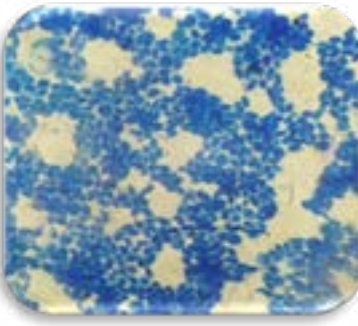

5-кесте – Ашытқы мен сүт қышқылды бактерияларының морфологиялық-культуралық белгілері

Культура	Колониялардың сипаттамасы	Клетканың морфологиясы және мөлшері	Вегетативті көбею
М1	Колониялар ақ түсті, нүктелі дөңгелек колониялар шеттерінде мөлдір	Клеткалар кокка тәрізді, көлемі 0,8 мкм, клеткалар бір-бірінен бөлек, жұп немесе ұзындықтары әртүрлі тізбектерде орналасқан	Екіге бөліну
А1	Колонияның шеттері тегіс емес шырышты, негізі ақ, дөңес, беті жылтыр	Клеткалар цилиндр тәрізді, ұзынша, көлемі 1,5 – 4,6 мкм	Бүршіктену
ГБ	Колониялардың пішіні дөңгелек, ортаңғы колониялар, үстінгі беті дөңес колониялардың бедері күңгірт	Клеткалары жұмыртқа тәрізді, көлемі 1,6 -5,2 мкм түйіршіктер түрінде	Бүршіктену
ГТ	Ірі колониялар, ортасы дөңес емізік тәрізді ақ түсті колониялар бедері және шетінде роликті, беті жылтыр, ақ түсті, сүзбе-түйіршікті консистенциясы жылтыр	Көлемі 1,8 – 6,1 мкм дөңгелек пішінді клеткалар	Бүршіктену

5-кестеден көріп отырғанымыздай, ашытқы штамдары қатты ортаның бетінде дөңгелек пішінді, орташа колониялар, төбесі дөңес колониялардың күңгірт бетін, сонымен қатар үлкен колониялар, емізік тәрізді дөңес ақ ортасы бар колониялардың рельефі және шеткі жағындағы ролик сияқты, жылтыр, ақ, сүзбе-түйіршікті консистенциялы жылтыр бетін түзеді. Қатты MRS ортасындағы сүт қышқылды бактериялары ақ, нүктелі, шеттері мөлдір

дөңгелек колониялар түзеді. Вегетативті көбею әдісі бойынша ашытқылардың А1, ГТ, ГБ штамдары бүршіктену арқылы, М1 сүтқышқылды бактериялар клеткалардың екілік бөлінуі арқылы көбейеді. Ашытқы клеткаларының өлшемдері 1,5-6,1 мкм аралығында өзгереді, М1 штаммының клетка өлшемі 0,8 мкм. Ашытқылар мен сүтқышқылды бактериялар штамдарының макро және микроморфологиясы 6-кестеде келтірілген.

**6-кесте** – Ашытқы штамдары мен сүт қышқылы бактерияларының макро және микроморфологиясы

№	Ашытқы және сүт қышқылы бактерияларының штамдарының макроморфологиясы	Ашытқы және сүт қышқылы бактерияларының штамдарының микроморфологиясы
1	<p style="text-align: center;">M1</p> 	
2	<p style="text-align: center;">A1</p> 	
3	<p style="text-align: center;">ГТ</p> 	
4	<p style="text-align: center;">ГБ</p> 	

Осылайша, жұмыста сүт сарысуының микробтық қауымдастығының микробиологиялық көрсеткіштері мен таксономиялық құрамы зерт-

телді. Әрі қарай зерттеу үшін сарысу үлгілерінен ашытқылардың 3 штамы және 1 сүт қышқылы бактериялары штамы бөлініп алынды.

*Ашытқы мен сүт қышқылы бактерияларының бөлінген штамдарын молекулярлық-генетикалық идентификациялау*

Сүт қышқылды бактерияларды идентификациялау ITS аймағының (генаралық транскрипцияланған аймақ) тікелей нуклеотидтер тізбегін анықтау әдісімен жүзеге асырылды, содан кейін нуклеотидтердің сәйкестігін GeneBank халықаралық деректер базасында депонирленген тізбектермен анықтау жүргізілді. (7-кесте) [33].

Секвенирлеу реакциясынан кейін ПТР өнімін екінші тазарту BigDye X Terminator Purification Kit секвенирлеу реакцияларын тазарту жиынтығымен жүргізілді және капиллярлық форезді жүргізу үшін ABI3500 генетикалық анализаторына жүктелді.

Анықталған штамдар генінің 16s rna нуклеотидтік тізбегі талданды және SeqA (Applied

Biosystems) бағдарламалық жасақтамасында жалпы бірізділікке біріктірілді. Ұзындығы шамамен 600 п. н. нуклеотидтер реттілігін алғаннан кейін, GeneBank Халықаралық деректер базасында BLAST алгоритмі бойынша сәйкестендіру жүргізілді. Анықталған штамдар генінің 16s rRNA нуклеотидтік тізбегі талданды және SeqA (Applied Biosystems) бағдарламалық жасақтамасында жалпы бірізділікке біріктірілді. Ұзындығы шамамен 600 н.ж. нуклеотидтер реттілігін алғаннан кейін, GeneBank Халықаралық деректер базасында BLAST алгоритмі бойынша сәйкестендіру жүргізілді [34].

Зерттелетін штамдардың 16S rRNA ген тізбегінің нуклеотидтер тізбегі және филогенетикалық талдау нәтижелері генетикалық қашықтықтарды есептеу үшін Neighbor-Joining кластер әдісін қолдану арқылы MEGA6 бағдарламасында салынған ағаштар түрінде ұсынылған.

**7-кесте** – ITS аймағының нуклеотидті талдау әдісі бойынша идентификация нәтижелері

Штам атауы	ITS аймақтың фрагментінің реттілігі	Халықаралық деректер базасында нуклеотидтер тізбегін анықтау ( <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/</a> ) BLAST алгоритмі		
		Gene Bank түгендеу нөмірі (Accession number)	Штам атауы	% сәйкестік
1	2	3	4	5
M1	ACGCGTGGGGAATCTGCCTTTGAGCGGGGACAACATT TGGAACGAATGCTAATACCGCATAAAAACTTTAAACA CAAGTTTAAAGTTTGAAGATGCAATTGCATCACTCAA GATGATCCCCGCTTGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTA GCTACCAAGGCGATGATACATAGCCGACCTGAGAGGG TGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTC CTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGAC GAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCTGAGTGAAGAAG GTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGGTAGAGAAGA TTGGTGAGAGTGGAAAGCTCATCAAGTGACGGTAACTA CCCAGAAAGGGACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC GGTAATACGTAGGTCCCGAGCGTTGTCCGATTATTGG GCGTAAAGCGAGCGCAGGTGGTTTATTAAGTCTGGTGT AAAAGGCAGTGGCTCAACCATTGTATGCATTGGAACT GGTAGACTTGAGTGCAGGAGAGGAGAGTGGAATTCCAT GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACC GGTGGCGAAAGCGGCTCTCTGGCCTGTAAGTACTGACACTG AGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGAT	NR 113960.1:91-767	<i>Lactococcus lactis</i>	100%

A1	CAACAACACCTAAACATGAATACTTACTAGTCACTAAGA AATCTAAAAGAAAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTT GGTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCAGCGAAATGCGATA CCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGTTCT TGAACGCACATTTGCCCTCCGGCATTCCGGGGGGGCAT GCCTGTTTGTAGCGTCTGTTTCTTTCGCGCAAGCAGAG TTGGGGTTGTC	MT136542.1:43-283	<i>Candida inconspicua</i>	100%
ГБ	CGTCTGAACAAGGCCTGCGCTAATTGCGCGGCCAGTT CTTGATTCTCTGCTATCAGTTTTCTATTTCTCATCTAAA CACAATGGAGTTTTTCTCTATGAACTACTTCCCTGGAG AGCTCGTCTCTCCAGTGGACATAAACACAAACAATATT TGTATTATGAAAACTATTATACTATAAAATTTAATATTCA AAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATG AAGAACGCAGCGAATTGCGATATGATTGTGAATTGCAG ATTTTCGTGAATCATCAAATCTTTGAACGCACATTGCCG CCTCTGGTATTCAGGGGGCATGCCTGTTTGTAGCGTCAT TTCTCTCTCAAACCTTTGGGTTTGGTAGTGAGTGATACT CGTCTCGGGTTAACTTGAAAGTGGCTAGCCGTTGCCATC TGCGTGAGCAGGGCTGCGTGTCAAGTCTATGGACTCGA CTCTTGACATCTACGTCTTAGGTTTGCGCCAATTCGTG GTAAGCTTGGGTCATAGAGACTCATAGGTGTTATAAAGA CTCGCTGGTGTGTTGTCTCCTTGAGGCATACGGCTTTAAC CAAACTCTCAAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGAGT ACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATA	MT187614.1:38-687	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	100%
ГТ	CGTCTGAACAAGGCCTGCGCTAATTGCGCGGCCAGTT CTTGATTCTCTGCTATCAGTTTTCTATTTCTCATCTAAA CACAATGGAGTTTTTCTCTATGAACTACTTCCCTGGAG AGCTCGTCTCTCCAGTGGACATAAACACAAACAATATT TGTATTATGAAAACTATTATACTATAAAATTTAATATTCA AAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATG AAGAACGCAGCGAATTGCGATATGATTGTGAATTGCAG ATTTTCGTGAATCATCAAATCTTTGAACGCACATTGCCG CCTCTGGTATTCAGGGGGCATGCCTGTTTGTAGCGTCAT TTCTCTCTCAAACCTTTGGGTTTGGTAGTGAGTGATACT CGTCTCGGGTTAACTTGAAAGTGGCTAGCCGTTGCCATC TGCGTGAGCAGGGCTGCGTGTCAAGTCTATGGACTCGA CTCTTGACATCTACGTCTTAGGTTTGCGCCAATTCGTG GTAAGCTTGGGTCATAGAGACTCATAGGTGTTATAAAGA CTCGCTGGTGTGTTGTCTCCTTGAGGCATACGGCTTTAAC CAAACTCTCAAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGAGT ACCCGCTGAACTTAAGCAT	MT187614.1:38-680	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	100%

Филогенетикалық ағаш зерттелетін үлгінің ITS аймағын International Blast дерекқорында орналастырылған референттік штамдардың реттілігімен салыстыру арқылы құрастырылған.

NR 113960.1: 91-767 *Lactococcus lactis* штаммы NBRC 100933 ең жақын штаммымен гомология дәрежесі 100,00% құрады.

Жақын штаммен гомология дәрежесі MT136542.1:43-283 *Candida inconspicua* isolate OM6 100,0% құрады.

Филогенетикалық ағаш зерттелетін үлгінің ITS аймағын International Blast дерекқорында орналастырылған референттік штамдардың реттілігімен салыстыру арқылы құрастырылған.

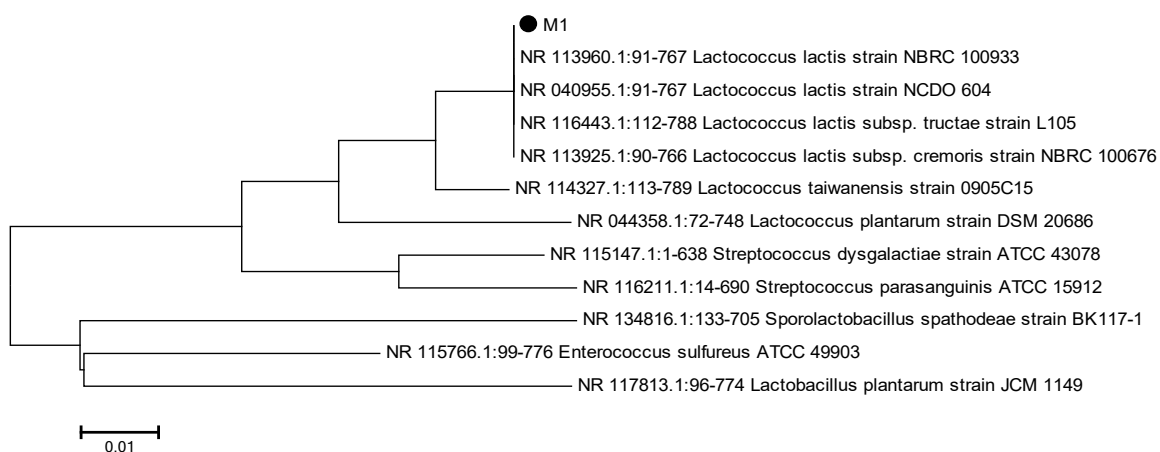
Ең жақын штамм MT187614.1:38-687 *Kluyveromyces marxianus* strain Cbm1 штаммы-

мен гомология дәрежесі 100,0% құрады.

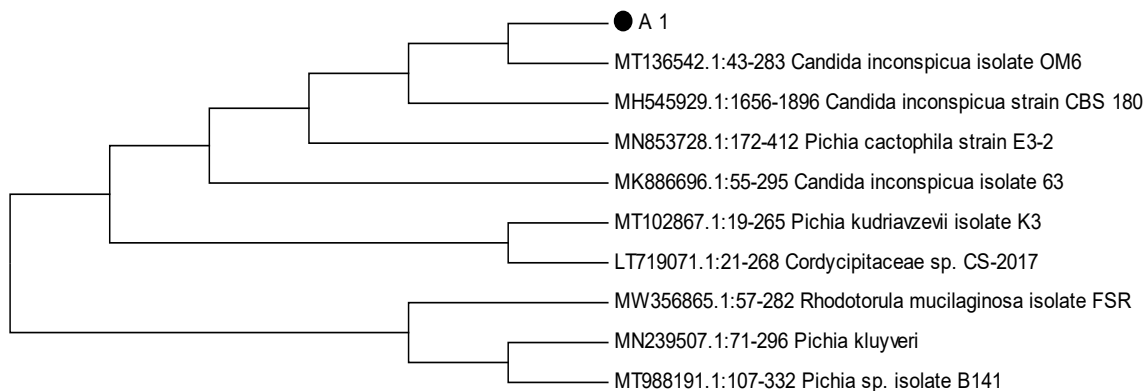
Филогенетикалық ағаш зерттелетін үлгінің ITS аймағын International Blast дерекқорында орналастырылған референттік штамдардың реттілігімен салыстыру арқылы құрастырылған.

Ең жақын штамм MT187614.1:38-680 *Kluyveromyces marxianus* strain Cbm1 штаммымен гомология дәрежесі 100,0% құрады.

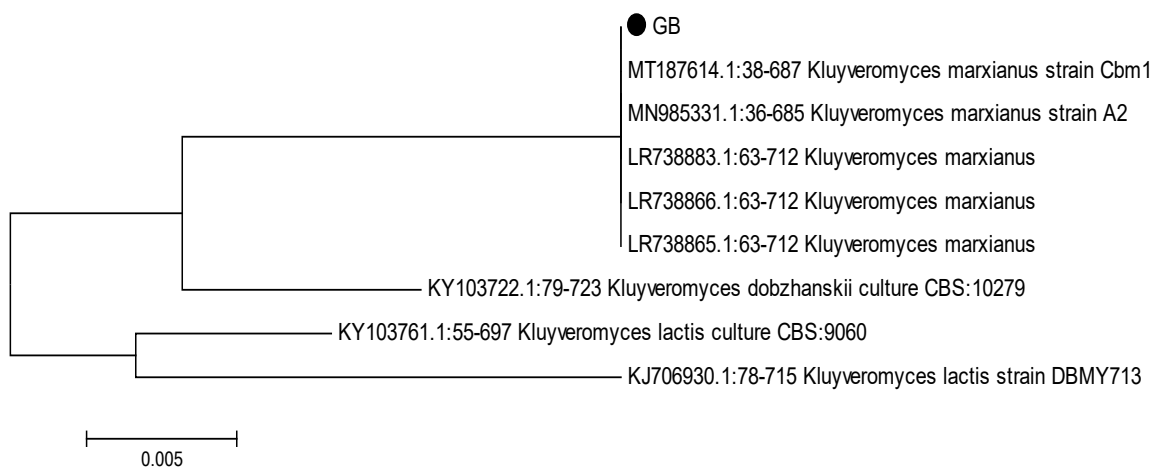
Ашытқылар мен сүт қышқылыды бактерияларының морфологиялық және дақылдық қасиеттерін дәстүрлі әдістермен зерттеу және ПТР талдау нәтижелері ашытқы мен сүт қышқылы бактерияларының штамдарын келесі түрлерге жатқызуға мүмкіндік берді: M1 штамы *Lactococcus lactis*, A1 *Candida inconspicua*, ГБ және ГТ штамдары – *Kluyveromyces marxianus*.



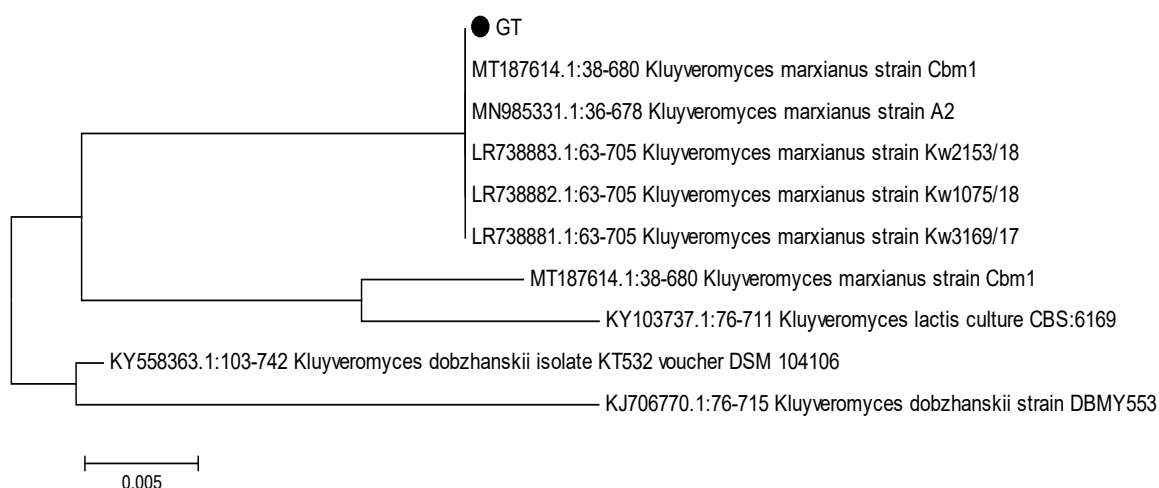
4-сурет – *Lactococcus lactis* M1 филогенетикалық ағашы



5-сурет – *Candida inconspicua* A1 филогенетикалық ағашы



6-сурет – *Kluyveromyces marxianus* (*Saccharomyces marxianus* синонимі) GB филогенетикалық ағашы



7-сурет – *Kluyveromyces marxianus* (*Saccharomyces marxianus* синонимі) ГТ филогенетикалық ағашы

Ашытқы клеткалары мен сүт қышқылы бактерияларының субстрат – сарысуға қатысты биохимиялық белсенділігі.

Сүт сарысуы ақуызды заттардың синтезі үшін толық шикізат болып табылады, өйткені оның құрамында көмірсулар (лактоза), минералды тұздар және витаминдер айтарлықтай мөлшерде болады. Сарысудағы ең қолайлы протеин продуценті лактозаны тамақтану үшін пайдалану мүмкіндігі бар ашытқы болып табылады. Орташа алғанда абсолютті құрғақ ашытқы (АҚА) құрамында 45-50% азотты заттар, 2-5% май, 25-35% көмірсулар, 6-8 күл болады. Сонымен қатар құрамында азот бар қосылыстар биологиялық жағынан толық болып табылады, өйткені олар ақуыздар (70%), амин қышқылдары және нуклеотидтер (15%), пурин (8-10%) және пиримидиндік (4%) негіздерден тұрады.

Ашытқыларды қолдану арқылы сарысудағы микробтық синтез бойынша мақсатты зерттеулерді проф. М. В. Залашко және оның студенттері жүргізеді. Зерттеу нәтижелері био-ЗЦМ рецептуралары бойынша құнды азық өнімдерін жасауға негіз болды. Бұл рецепте негізгі құрамдас сүт сарысуы болып табылады, онда арнайы ашытқы штаммы өсіріледі, тез өсуге қабілетті және биомассаның жоғары өнімін береді. Сарысуда өсірілген бұл ашытқының ақуызы алмастырылмайтын аминқышқылдарының болуымен ғана емес, сонымен бірге олардың құрамы бойынша да сүт протеиніне ұқсас. Бұл ашытқылардың маңызды

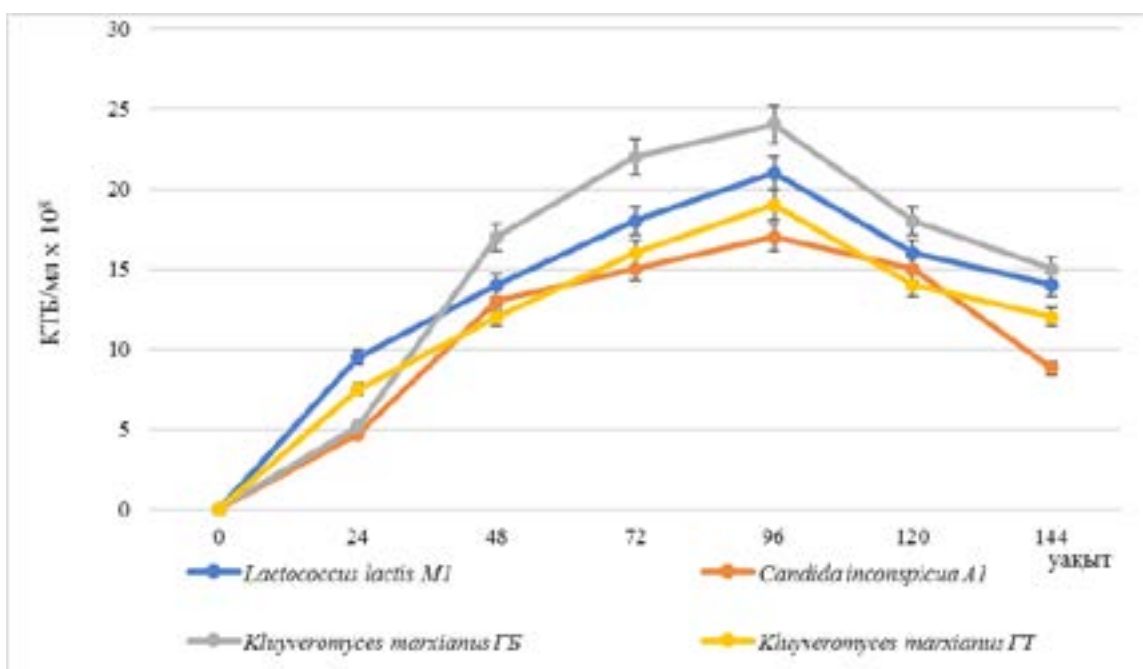
қасиеті сарысудың барлық түрлерінде бірдей жақсы өседі [35, 36].

Әрі қарай, біз өз жұмысымызда сүт сарысуының үлгілерінде ашытқы және сүт қышқылы бактерияларының өсу динамикасын зерттедік. Нәтижелер 4-суретте көрсетілген.

8-суреттен көрініп тұрғандай, сүт сарысуындағы ашытқы дақылдарының өсу динамикасын зерттеу нәтижесінде барлық штамдар биомассаның жинақталуының жоғары қарқындылығын көрсетті. Ашытқы штамдарының ішінде *Kluyveromyces marxianus* ГБ штаммы сарысуға қатысты жоғары биохимиялық белсенділік көрсетті, олардың клеткаларының саны  $2,4 \times 10^9$  КТБ/мл болды. Ал *Candida inconspicua* А1 және *Kluyveromyces marxianus* ГТ штамдарында клеткалар саны  $1,7 \cdot 10^9$  -  $1,9 \times 10^9$  КТБ/мл аралығында болды. Салыстырмалы түрде жоғары белсенділікті сүт қышқылы бактерияларының *Lactococcus lactis* М1 штаммы көрсетті, олардың клеткаларының саны  $2,1 \times 10^9$  КТБ/мл болды.

Әдеби деректерге сәйкес, белгілі микроорганизмдердің ішінде ашытқы сарысуының микробтық ақуызға айналуының ең жоғары жылдамдығына ие. *Kluyveromyces marxianus* ашытқысының көміртегі көзі ретінде лактоза мен инулинді пайдалану және жоғары белсенді β-фруктофуранозидаза өндіру қабілеті бар. Олар жоғары өсу қарқынымен ерекшеленеді және ақуыз өндірісі үшін биотехнологиялық салаларда кеңінен қолданылады [37]. Бұл деректер біздің зерттеу нәтижелерімізбен расталады.





8-сурет – Сүт сарысуындағы ашытқы және сүт қышқылы бактерияларының өсу динамикасы

Ашытқылар өсу процесінде энергия көзі ретінде сарысу лактозаны және сүт қышқылын пайдалана отырып, құрамында минералды азот бар тұздарды толық клеткалық ақуызға айналдырады. Әдеби деректерге сүйенсек, ашытқы сарысуындағы ақуыз мөлшері бастапқы сарысуға қарағанда едәуір жоғары [38].

Сүт сарысуында жеңіл сіңірілетін көміртек көздерінің және өсу факторларының болуы оны биотехнологиялық процестерде перспективалы шикізат деп санауға мүмкіндік береді [39]. Сонымен қатар, сарысуды толық және ұтымды пайдалану мәселесі экономикалық тұрғыдан да, экологиялық тұрғыдан да өзекті болып табылады.

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

### Қорытынды

1. ЖШС «Мерке ірімшік зауыты», ЖШС «Амиран» (сүт сарысуы), ЖШС «Стелла Альпина» (ірімшік сарысуы) сүт сарысуларының физика-химиялық және органолептикалық қасиеттері зерттелді.

2. Сүт сарысуының 3 үлгісінің микробтық қауымдастығының микробиологиялық көрсеткіштері және таксономиялық құрамы зерттелді. Сүт сарысу микробтық қауымдастығының таксономиялық құрамында лактозаны ашытатын ашытқылар мен лактобактериялар басым екені анықталды. Сүт сарысу үлгілерінен ашытқылардың 3 штаммы және сүт қышқылды бактериялардың 1 штамы бөлініп, олардың морфологиялық -культуральдық қасиеттері зерттелді.

3. Ашытқылар мен сүт қышқылы бактерияларының дақылдарын түрге дейін идентификациялау ПТР талдау әдісімен жүргізілді. GB және GT штамдары *Kluyveromyces marxianus* түріне, M1 штамы – *Lactococcus lactis*, A1 – *Candida inconspicua* түріне дейін идентификацияланды.

4. Микроорганизм дақылдарының ішінде *Kluyveromyces marxianus* GB штаммы және сүт қышқылы бактериясы *Lactococcus lactis* M1 дақылы сүт сарысуында жоғары биохимиялық белсенділік көрсетті.

*Зерттеу жұмысы ҚР БҒМ қаржыландырған №0221РК00252 ИРН АР09258285 «Иммобилизацияланған ашытқы клеткалары негізінде сүт сарысуын үздіксіз ферментациялау жолымен биоэтанол алу» жобасы аясында жасалды.*

### Әдебиеттер

- 1 Zafar S, Owais M (2006) Ethanol production from crude whey by *Kluyveromyces marxianus*. *Biochem Eng J* 27:295-298
- 2 Wee Y-J, Kim J-N, Ryu H-W (2006) Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. *Food Technol Biotech* 44:163-172
- 3 Boze H, Moulin G, Galzy P (1995) Production of Microbial Biomass. In: *Biotechnology Set*. Wiley-VCH Verlag GmbH, pp 165-220.
- 4 Browne H (1941) Ethyl alcohol from fermentation of lactose in whey. *Ind Eng Chem News Ed* 19:1272-1276
- 5 Domingues L, Lima N, Teixeira JA. 2001. Alcohol production from cheese whey permeate using genetically modified flocculent yeast cells. *Biotechnol Bioeng* 72:507-514.
- 6 Перегудов, С.С. Отходы в доходы / С.С. Перегудов // Торгпред – 2005. – № 1. – С. 28.
- 7 Flores SH, Alegre RM (2001) Nisin production from *Lactococcus lactis* A.T.C.C. 7962 using supplemented whey permeate. *Biotechnol Appl Biochem* 34:103-107
- 8 Gabardo S, Rech R, Rosa CA, Ayub MAZ. 2014. Dynamics of ethanol production from whey and whey permeate by immobilized strains of *Kluyveromyces marxianus* in batch and continuous bioreactors. *Renew Energy* 69:89-96.
- 9 González-Toledo SY, Domínguez-Domínguez J, García-Almendárez BE, Prado-Barragán LA, Regalado-González C (2010) Optimization of Nisin production by *Lactococcus lactis* UQ2 using supplemented Whey as alternative culture medium. *J Food Sci* 75:M347-M353
- 10 Speedy A.W. Overview of world feed protein needs and supply // Protein sources for the animal feed industry. *Expert Consultation and Workshop*. – Bangkok. – 2004. – № 1. – P. 9 – 29.
- 11 Toride Y. Lysine and other amino acids for feed: production and contribution to protein utilization in animal feeding // Protein sources for the animal feed industry. – Bangkok. – 2004. – № 1. – P. 161 – 167.
- 12 Kaur R, Panesar PS, Singh RS. (2015) Utilization of Whey for the Production of  $\beta$ -Galactosidase Using Yeast and Fungal Culture. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 9:690-694.
- 13 Guimarães PMR, Teixeira JA, Domingues L (2010) Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnol Adv* 28:375-384
- 14 Crampton E.W. Protein Problem in Animal Feeding // *Can J Comp Med Vet Sci*. – 1943. – № 7(11). – P. 321 – 326.
- 15 Liu X, Chung Y-K, Yang S-T, Yousef AE (2005) Continuous nisin production in laboratory media and whey permeate by immobilized *Lactococcus lactis*. *Process Biochem* 40:13-24
- 16 Mansour MH, Ghaly AE, Ben-Hassan RM, Nassar MA (1993) Modeling batch production of single cell protein from cheese whey. *Appl Biochem Biotechnol* 43:1-14
- 17 Markus CR, Olivier B, de Haan EH (2002) Whey protein rich in  $\alpha$ -lactalbumin increases the ratio of plasma tryptophan to the sum of the other large neutral amino acids and improves cognitive performance in stress-vulnerable subjects. *Am J Clin Nutr* 75:1051-1056
- 18 Marwaha SS, Kennedy JF (1988) Whey-pollution problem and potential utilization. *International J Food Sci Tech* 23:323-336
- 19 Moulin G, Galzy P (1984) Whey, a Potential Substrate for Biotechnology. *Biotechnol Genet Eng Rev* 1:347-374
- 20 Bourdichona S. Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use // *International Journal of Food Microbiology*. – 2012. – Vol. 154, № 3. – P. 87 – 97.
- 21 Doelle H.W. Microbial cultures in the utilization of cellulosic materials // *Biotechnology Advances*. – 2014. – Vol. 2, № 1. – P. 1 – 19.
- 22 Xiuzhi S.S. Isolation and Processing of Plant Materials // *Bio-Based Polymers and Composites*. – Academic Press, 2015. – Chapter 3. – P. 33 – 35.
- 23 Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др. – М.: Академия, 2005. – 608 с. 6
- 24 Игнатова Л.В. Основы микробиологии: Учебное пособие. – Алматы: Қазақ Университеті, 2008. – С. 128.
- 24 Эрнст, Л. К. Животноводство России 2001–2010 гг. / Л. К. Эрнст // *Зоотехния*. – 2001. – № 10. – С. 2–8.
- 25 Зарипова, Г. К. Адаптивные технологии кормопроизводства в Башкортостане: рекомендации / Г. К. Зарипова [и др.]. – Уфа, 2004. – С. 76.
- 26 Lijuan G. Rice straw fermentation using lactic acid bacteria // *Bioresource Technology*. – 2008. – № 99 (8). – P. 2742 – 2748.
- 27 Paul J. Effect of whey protein isolate on strength, body composition and muscle hypertrophy during resistance training. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. – 2008. – № 11(1). – P. 40-44
- 28 Dale Bruce E. Lignocellulose conversion and the future of fermentation biotechnology // *Trends Biotchnol*. – 2000.-Vol.5. № 10. – P.287-291.
- 29 Norman F. Fermented cereals a global perspective // *FAO agricultural services bulletin*. – №138. – 2009. – P. 268.
- 30 Ефимова М.В. Введение в прикладную биотехнологию. – Петропавловск: КамчатГТУ, 2004. – 96 с.
- 31 Тарабукин Д.В. Ферментативные технологии направленной биоконверсии целлюлозо- и крахмалсодержащего растительного сырья: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.23. Институт биологии Уфимского научного центра РАН. – Уфа, 2009. – С. 26.
- 32 Дедков В.Н. Разработка биотехнологии кормового белка из растительного сырья: дис. ... канд. техн. наук: 03.01.06. Орловский государственный аграрный университет. – Воронеж, 2014. – С. 146.
- 33 Carlsson R. Amaranth species and related species for leaf protein concentrate production // *Proceedings of 1st Amaranth conf.*, Rodale Press Inc., Emmaus. – 2017. – P. 83 – 99.

- 34 Lan A.O. et. al. The competitive growth of bloc- forming and bilamentous bacteria model for activated sludge bulling journal W.P.C.F.- 1984. Vol.56 № 1. – pp. 83.
- 35 Anvari M, Khayati G (2011) Submerged yeast fermentation of cheese whey for protein production and nutritional profile analysis. *Advance J Food Sci Tech* 3: 122-126.
- 36 Лыско Ксения Андреевна. Разработка технологии дрожжевых обогатителей пищи на базе молочной сыворотки и растительного сырья : диссертация... кандидата технических наук: 05.18.10. – М., 2007. – 268 с. РГБ ОД, 61:07-5/2469
- 37 Соколенко Г.К. Пономарева И.Н. и др. Биотехнология дрожжесывороточного продукта. 2016. – С. 188.
- 38 Bajpai P, Gera RK, Bajpai PK (1992) Optimization studies for the production of  $\alpha$ -amylase using cheese whey medium. *Enzyme Microb Technol* 14:679-683
- 39 Bansal S, Oberoi HS, Dhillon GS, Patil R (2008) Production of  $\beta$ -galactosidase by *Kluyveromyces marxianus* MTCC 1388 using whey and effect of four different methods of enzyme extraction on  $\beta$ -galactosidase activity. *Indian J Appl Microbiol* 48:337-341

#### References

- 1 Anvari M, Khayati G (2011) Submerged yeast fermentation of cheese whey for protein production and nutritional profile analysis. *Advance J Food Sci Tech* 3: 122-126.
- 2 Bajpai P, Gera RK, Bajpai PK (1992) Optimization studies for the production of  $\alpha$ -amylase using cheese whey medium. *Enzyme Microb Technol* 14:679-683
- 3 Bansal S, Oberoi HS, Dhillon GS, Patil R (2008) Production of  $\beta$ -galactosidase by *Kluyveromyces marxianus* MTCC 1388 using whey and effect of four different methods of enzyme extraction on  $\beta$ -galactosidase activity. *Indian J Appl Microbiol* 48:337-341
- 4 Boze H, Moulin G, Galzy P (1995) Production of Microbial Biomass. In: *Biotechnology Set*. Wiley-VCH Verlag GmbH, pp 165-220.
- 5 Browne H (1941) Ethyl alcohol from fermentation of lactose in whey. *Ind Eng Chem News Ed* 19:1272-1276
- 6 Bourdichona S. Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use // *International Journal of Food Microbiology*. – 2012. – Vol. 154, № 3. – pp. 87 – 97.
- 7 Carlsson R. Amaranth species and related species for leaf protein concentrate production // *Proceedings of 1st Amaranth conf.*, Rodale Press Inc., Emmaus. – 2017. – pp. 83 – 99.
- 8 Crampton E.W. Protein Problem in Animal Feeding // *Can J Comp Med Vet Sci*. – 1943. – № 7(11). – pp. 321 – 326.
- 9 Dale Bruce E. Lignocellulose conversion and the future of fermentation biotechnology // *Trends Biotchnol*. – 2000.-Vol.5. № 10. – pp.287-291.
- 10 Dedkov V.N. Razrabotka biotekhnologii kormovogo bel'ka iz rachel'nogo tsikla: dits. ... kand. tekhn. data: 03.01.06. Orlovskiy gosudarstvennyy agrarnyy univercitet. – Voronezh. – 2014. – pp. 146.
- 11 Doelle H.W. Microbial cultures in the utilization of cellulosic materials // *Biotechnology Advances*. – 2014. – Vol. 2, № 1. – pp. 1 – 19.
- 12 Domingues L, Lima N, Teixeira JA. 2001. Alcohol production from cheese whey permeate using genetically modified flocculent yeast cells. *Biotechnol Bioeng* 72:507-514.
- 13 Ernst, L. K. Zhivotn\_ vo Rossii 2001–2010 gg. / L. K. Ernst // *Zootekhnika*. — 2001. — № 10. — pp. 2–8.
- 14 Flores SH, Alegre RM (2001) Nisin production from *Lactococcus lactis* A.T.C.C. 7962 using supplemented whey permeate. *Biotechnol Appl Biochem* 34:103-107
- 15 Gabardo S, Rech R, Rosa CA, Ayub MAZ. 2014. Dynamics of ethanol production from whey and whey permeate by immobilized strains of *Kluyveromyces marxianus* in batch and continuous bioreactors. *Renew Energy* 69:89-96.
- 16 González-Toledo SY, Domínguez-Domínguez J, García-Almendárez BE, Prado-Barragán LA, Regalado-González C (2010) Optimization of Nisin production by *Lactococcus lactis* UQ2 using supplemented Whey as alternative culture medium. *J Food Sci* 75:M347-M353
- 17 Guimarães PMR, Teixeira JA, Domingues L (2010) Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnol Adv* 28:375-384
- 18 Kaur R, Panesar PS, Singh RS. (2015) Utilization of Whey for the Production of  $\beta$ -Galactosidase Using Yeast and Fungal Culture. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 9:690-694.
- 19 Lan A.O. et. al. The competitive growth of bloc- forming and bilamentous bacteria model for activated sludge bulling journal W.P.C.F.- 1984. Vol.56 № 1. – pp. 83.
- 20 Lysko Kseniya Andreyevna. Razrabotka tekhnologiy drozhzhevykh obogatiteley pishchi na osnove molochnoy syvorotki i rastitel'nogo syr'ya : dissertatsiya... kandidata tekhnicheskikh nauk : 18.05.10 Moskva, 2007 268 s. RGB OD, 61:07-5/2469
- 21 Lijuan G. Rice straw fermentation using lactic acid bacteria // *Bioresource Technology*. – 2008. – № 99 (8). – pp. 2742 – 2748.
- 22 Liu X, Chung Y-K, Yang S-T, Yousef AE (2005) Continuous nisin production in laboratory media and whey permeate by immobilized *Lactococcus lactis*. *Process Biochem* 40:13-24
- 23 Mansour MH, Ghaly AE, Ben-Hassan RM, Nassar MA (1993) Modeling batch production of single cell protein from cheese whey. *Appl Biochem Biotechnol* 43:1-14

- 24 Markus CR, Olivier B, de Haan EH (2002) Whey protein rich in  $\alpha$ -lactalbumin increases the ratio of plasma tryptophan to the sum of the other large neutral amino acids and improves cognitive performance in stress-vulnerable subjects. *Am J Clin Nutr* 75:1051-1056
- 25 Marwaha SS, Kennedy JF (1988) Whey-pollution problem and potential utilization. *International J Food Sci Tech* 23:323-336
- 26 Moulin G, Galzy P (1984) Whey, a Potential Substrate for Biotechnology. *Biotechnol Genet Eng Rev* 1:347-374
- 27 Netrusova A. (2005) Bol'shaya masterskaya po mikrobiologii [Big workshop on microbiology] textbook. allowance for students. higher textbook. institutions under the editorship of M.: IC "Academy, no. 23. pp. 608.
- 28 Norman F. Fermented cereals a global perspective // *FAO agricultural services bulletin*. – №138. – 2009. – pp. 268.
- 29 Paul J. Effect of whey protein isolate on strength, body composition and muscle hypertrophy during resistance training. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. – 2008. – № 11(1). –pp. 40-44
- 30 Peregudov, S S. Vykhody v ustanovku / S.S. Peregudov // *Torgpred* – 2005. – № 1. -pp. 28.
- 31 Speedy A.W. Overview of world feed protein needs and supply // *Protein sources for the animal feed industry*. Expert Consultation and Workshop. – Bangkok. – 2004. – № 1. – pp. 9 – 29.
- 32 Sokolenko G.K. Ponomareva I.N. i dr. *Biotehnologiya drozhzhesyvorotochnogo produkta*. 2016. – pp. 188.
- 33 Tarabukin D.V. *Fermentativnye tekhnologii napravlennoy biokonvercii tsellyulozo- i krakhmalkoderzhashchego raktitel'nogo syr'ya*: avtoref. dik. ... kand. biol. data: 03.00.23. Inkstitut biologii Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN. – Ufa. -2009. – pp. 26.
- 34 Toride Y. Lysine and other amino acids for feed: production and contribution to protein utilization in animal feeding // *Protein sources for the animal feed industry*. – Bangkok. – 2004. – № 1. – pp. 161 – 167.
- 35 Yefimova M.V. *Vvedeniye v prikladnuyu biotehnologiyu*. -Petropavlovsk: KamchatGTU. – 2004. – pp. 96.
- 36 Wee Y-J, Kim J-N, Ryu H-W (2006) Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. *Food Technol Biotech* 44:163-172
- 37 Xiuzhi S.S. *Isolation and Processing of Plant Materials // Bio-Based Polymers and Composites*. – Academic Press, 2015. – Chapter 3. – pp. 33 – 35.
- 38 Zafar S, Owais M (2006) Ethanol production from crude whey by *Kluyveromyces marxianus*. *Biochem Eng J* 27:295-298
- 39 Zaripova, G. K. *Adaptivnyye tekhnologii kormoproizvodstva v Bashkortostane: rekomendatsii / G. K. Zaripova [i dr.]*. — Ufa, 2004. — pp. 76.