

Ключевые слова: молочный продукт, *Lactobacillus helveticus*, питательная среда, метод Коха, метод штрихового посева.

Technology of isolation and extraction of lactic acid bacteria *Lactobacillus helveticus* from domestic dairy product

Zh. S. Bakhyt¹, Dinmukhamedova A. S²

¹Kokshetau University named after Sh. Ualikhanov, Kokshetau, 020000, Republic of Kazakhstan

²L. N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, 010000, Republic of Kazakhstan

Lactobacillus helveticus is considered an important representative of lactic acid bacteria, widely used in the production of dairy products. This research work is devoted to the development of technology for the production of pure *Lactobacillus helveticus* cultures in order to optimize their use in the food industry. The study examines the methods of isolation and cultivation of bacteria, including the choice of starting material, optimal incubation conditions and nutrient media such as MRS agar, Lee agar, cabbage agar. *Lactobacillus helveticus* is grown in nutrient media and is considered their isolation. Special attention is paid to the parameters affecting the growth and metabolic activity of microorganisms, and the specifics are fully considered. The results of the work can contribute to improving the quality and safety of dairy products, as well as the development of new technologies in the field of fermentation and biotechnology. The development of this technology opens up prospects for the use of *Lactobacillus helveticus* in functional foods and probiotics. Keywords: dairy product, *Lactobacillus helveticus*, nutrient medium, Koch's method, bar seeding method.

FTAMP 34.01.05

А.Н.Дауылбай¹, А.С.Динмухамедова²

¹ магистрант, Ш.Уәлиханов атындағы Көкшетау университеті, Көкшетау қ., 020000, Қазақстан Республикасы, E-mail: a.s.d.14@yandex.ru

² биология ғылымының кандидаты., Л. Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана қ., 010000, Қазақстан Республикасы, E-mail: Aruka_0501@mail.ru

ОТАНДЫҚ СҮТ ӨНІМІНЕН *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* СҮТ ҚЫШҚЫЛЫ БАКТЕРИЯЛАРЫН ОҚШАУЛАУ ЖӘНЕ ОЛАРДЫҢ МОРФОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ДАҚЫЛДЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН ЗЕРТТЕУ

Мақалада отандық сүт өнімінен (йогурт) *Streptococcus thermophilus* сүт қышқылы бактерияларын оқшаулау және олардың морфологиялық және дақылдық қасиеттерін зерттеу процесі қарастырылады. *Streptococcus thermophilus*-йогурт пен ірімшік сияқты ашытылған сүт өнімдерін өндіруде қолданылатын маңызды микроорганизм. Зерттеудің мақсаты-бактериялардың таза дақылын оқшаулау, олардың морфологиялық зерттеуін жүргізу, сондай-ақ әртүрлі қоректік ортадағы дақылдық қасиеттерді зерттеу. Зерттеу әдістерінен йогурт үлгілерін алу, селективті қоректік орталарда бактерияларды өсіру және морфологияны микроскопиялық зерттеу қолданылды. Зерттеу нәтижелері отандық сүт өнеркәсібіндегі ашыту процесінің жақсарту үшін пайдаланылуы мүмкін *Streptococcus thermophilus* морфологиясы, жасушалардың орналасу формалары, өсу ерекшеліктері туралы маңызды ақпаратты береді. Нәтижелер сонымен қатар пробиотикалық қасиеттері бар жаңа функционалды тағамдардың дамуына ықпал етуі мүмкін.

Кілт сөздер: Сүт қышқылы бактериялар, йогурт, *Streptococcus thermophilus* штамдары, пробиотик, лактоза, стрептококктар.

КІРІСПЕ

Streptococcus thermophilus-тамақ өнеркәсібінде, әсіресе йогурт, ірімшік және басқа ашытылған сүт өнімдерін өндіруде белсенді қолданылатын сүт қышқылы бактерияларының негізгі өкілдерінің бірі. Бұл бактериялар ашыту процесінде маңызды рөл атқарады, лактозаның сүт қышқылына айналуына ықпал етеді, бұл сүт өнімдерін лактозаға төзімсіз адамдар үшін қол жетімді етеді және соңғы өнімнің өзіне тән құрылымын, дәмі мен хош иісін қамтамасыз етеді [1]. Сонымен қатар, *Streptococcus thermophilus* пробиотикалық қасиеттерге ие, адам денсаулығына оң әсер етеді, соның ішінде ас қорыту жүйесінің жұмысын жақсартады және иммунитетті арттырады, ішек микрофлорасының тепе-теңдігін қалпына келтіруге көмектеседі [2]. Кейбір зерттеулер *S. thermophilus* бар тағамдарды үнемі тұтыну қандағы LDL холестерин деңгейінің төмендеуіне ықпал етуі мүмкін екенін көрсетеді [3].

Сүт қышқылы бактерияларын биотехнологиялық және микробиологиялық зерттеулерге деген қызығушылықтың артуына байланысты отандық сүт өнімдерінен *Streptococcus thermophilus* оқшаулануы маңызды бола түсуде. Бұл микроорганизмдерді оқшаулау ғана емес, сонымен қатар жоғары сапалы ашытылған өнімдерді өндіруде одан әрі пайдалану үшін олардың морфологиялық және дақылдық қасиеттерін зерттеу маңызды. Бұл өндіріс процестерін жақсартуға, тағамның сапасы мен қауіпсіздігін жақсартуға және пробиотикалық әсерлері бар жаңа функционалды тағамдарды әзірлеуге жағдай жасауға мүмкіндік береді [4].

Бұл жұмыстың мақсаты-отандық сүт өнімінен (йогурт) *Streptococcus thermophilus* сүт қышқылы бактерияларын оқшаулау және олардың морфологиялық және дақылдық қасиеттерін зерттеу. Зерттеу осы бактериялардың пішіні, орналасуы, олардың оңтайлы өсу жағдайлары сияқты негізгі сипаттамаларын анықтауды қамтиды. Бұл деректер *Streptococcus thermophilus* биологиялық ерекшеліктерін және олардың сүтті ашыту процесіндегі рөлін тереңірек түсінуге мүмкіндік береді.

Осылайша, бұл зерттеудің тамақ өнеркәсібі үшін теориялық және қолданбалы маңызы бар, өйткені нәтижелерді ашыту процестерін оңтайландыру, отандық сүт өнімдерінің сапасын жақсарту және функционалды тағамның жаңа түрлерін жасау үшін пайдалануға болады.

МАТЕРИАЛДАР МЕН ӘДІСТЕР

Бұл жұмыста зерттеу нысаны Отандық йогурт өнімі болды.

Streptococcus thermophilus оқшаулау және өсіру үшін қоректік орталар: Lactobacillus Mrs Broth, MRS агар, Орамжапырақ агар, Lee агар, Блаурокка [5].

Зерттеу жүргізуге арналған негізгі құрал жабдықтар: автоклав, CO₂ инкубатор, термостат, микроскоп, пробиркалар, Петри табақшалары, заттық шынылар, бактериологиялық тұзақ, Дригаль шпателі, бір реттік ұштары бар микропипеткалар.

Таза мәдениетті бөлу үш кезеңнен тұрады: 1) жиынтықты дақылдарды алу; 2) таза дақылды бөліп алу; 3) бөлінген дақылдың тазалығын анықтау.

Жиынтықты дақылды алу үшін құрамында 9 мл Lactobacillus Mrs Broth сорпасы және Блаурокка сұйық ортасы бар пробиркаларға 100 мкл зерттелетін материал енгізілді.

Lactobacillus Mrs Broth ортасын дайындау 100 мл:

- 5,515 г орта lactobacillus Mrs Broth сорпа;
- 94,5 мл тазартылған су.

Блаурокка ортасын дайындау 100 мл:

- 100 мл бауыр сорпасы;
- 0,5 г NaCl;
- 1 г пептон;

- 0,075 г агар[6].

Өсіру СО₂ инкубаторында 38°С температурада тәулік ішінде өтті. Содан кейін йогурттың бүкіл микрофлорасын бақылау үшін алынған жасуша биомассасын микроскопиялау жүргізілді.«Жаншылған тамшы» препаратын жасау арқылы микроорганизмдердің тірі жағдайдағы қозғалысы, пішіні және бөліну процесі зерттелді.

Препарат дайындау үшін заттық шыныға бір тамшы сутамызып, оған бактериологиялық тұзақпен зерттеу материалын енгізіп, араластырады да жабынды шынымен жауып, микроскоптайды [7].

Жеке колониядан таза дақылды бөлу. Жиынтықты дақылдан Кох әдісі бойынша он есе сұйылту жүргізіліп, MRS агар, Орамжапырақ агар, Lee агар тығыз қоректік орталары бар Петри табақшаларына соңғы сұйылтымнан 0,05 мл-ден Дригаль әдісімен егілді. 48 сағат бойы 37°С температурада Петри табақшалары өсіруге қойылды.

MRS агар ортасын дайындау 100 мл:

- 1,0 г пептон (ферменттелген казеин);
- 0,1 г ет экстрактісі;
- 0,5 г ашытқы экстрактісі;
- 2,0 г глюкоза;
- 0,2 г ди-натрийфосфат (Na₂HPO₄);
- 0,2 г Калий фосфаты (KH₂PO₄);
- 0,2 г Аммоний цитраты (C₆H₁₇N₃O₇);
- 0,05 г Магний сульфаты (MgSO₄·7H₂O);
- 0,005 г Марганец сульфаты (MnSO₄·H₂O);
- 0,1 мл полисорбат 80 (Tween 80);
- 1,5 г агар;
- 100 мл дистилденген су [8].

Орамжапырақ агар ортасын дайындау 100мл:

- 100 мл орамжапырақ шырыны;
- 0,2 г глюкоза;
- 0,3 г Кальций карбонаты (CaCO₃);
- 0,1 г пептон;
- 0,19 г агар [9].

Lee агар ортасын дайындау 100мл:

- 0,5 г лактоза;
- 0,5 г сахароза;
- 0,05 г Калий фосфаты (KH₂PO₄);
- 0,3 г Кальций карбонаты (CaCO₃);
- 0,004 г Бромкрезол;
- 1,9 г Агар [10].

Бөлінген дақылдың тазалығын анықтау үшін Штрих әдісі қолданылды. Бұл жағдайда колония бактериологиялық тұзақ көмегімен алынып, қатты қоректік орта бетіне белгілі тәртіппен сызықтар жүргізілді. Әр сызықты жүргізу алдында тұзақты от жалынында залалсыздандырылады. Петри табақшалары термостатта 37°С температурада 1 тәулік аралығында ұсталды.

Оқшауланған колонияларды тексеру кезінде бинокулярлық оптикалық жүйе қолданылды. Дақылдық қасиеттерін зерттеу үшін грамм бойынша боялған бекітілген препараттар жасалынды.

Грамм әдісі бойынша бояу тәртібі:

1. Зерттелінетін дақылдан бекітілген жұғынды (препарат) дайындау.
2. Бекітілген жұғындыны Генцианвиолет кристалды көгілдірмен (фильтр қағазы арқылы) бояп, 2 мин ұстайды.

3. Бояу сүзгі қағазын алып тастап бояуды төгіп тастайды.

4. Люгольдің ертіндісін тамызып, 1-2 мин бояйды

5. Люголь ертіндісін төгіп тастайды

6. 96% спирттің бірнеше тамшысын тамызып 30-40 сек аралығында препаратты этил спиртімен түссіздендіреді

7. Препараттағы спиртті сумен жақсылап сумен шаяды.

8. Сулы фуксинмен 2 минут бояйды.

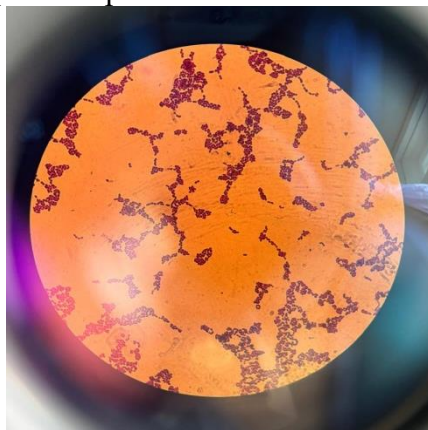
9. Сумен жақсылап шайып тастап, сүзгі қағазымен құрғатып, микроскоп арқылы қарайды [11].

НӘТИЖЕЛЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ

Зерттеу жүргізу үшін йогурт сынамасы пайдаланылды. Алынған үлгі дақылын сақтау үшін 24 сағат ішінде термостатта 37°C температурада *Lactobacillus Mrs Broth*, Блаурокка қоректік ортасында өсірілді.

Оқшауланған колониядан таза дақылды тығыз қоректік ортасы бар Петри табақшаларына – MRS агар, Орамжапырақ агар, Lee агарына сарқылу әдісімен бөлінді. 48 сағат бойы 37°C температурада өсіруге қойылды және жалпы қабылданған әдістермен микроскопияланды.

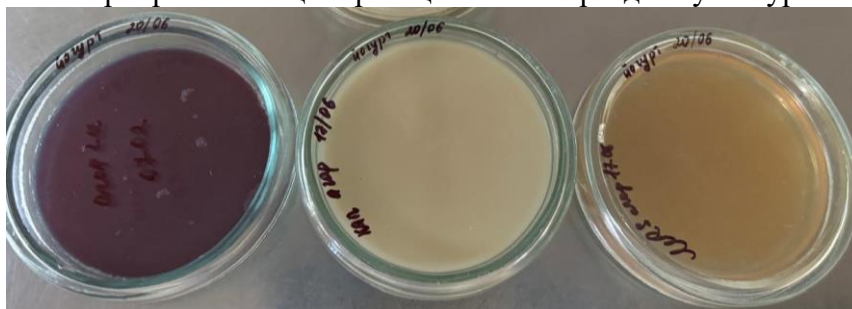
Микроскопияның нәтижесі микроорганизмдердің мәдениеті морфологиялық тұрғыдан біртекті екенін көрсетті: барлық жасушалар дұрыс пішінді грам позитивті таяқшалар, споралар түзілмеген, қозғалмайтын, жұптасқан немесе тізбектелген. Микроскопиялық зерттеулердің нәтижелері 1-суретте көрсетілген.



Сурет 1. *Streptococcus thermophilus* бір күндік культурасы (X100)

Шекті сұйылту және олардан зерттелетін дақылды Петри табақшаларына Дригальский шпателінің көмегімен агарланған қатты қоректік орталарға егілді.

Зерттелетін микроорганизмнің агаризацияланған ортада өсуі 2-суретте көрсетілген.



Сурет 2. Агарланған тығыз қоректік ортада *Streptococcus thermophilus* дақылының өсуі: жоғарыдан көрініс

2-суретте көрініп тұрғандай және тығыз MRS агар, Орамжапырақ агар, Lee агар ортасында сүт қышқылы бактериялары беткі колонияларды құрады, дөңгелек, тұрақты

пішінді, өлшемі 2-5 мм (орташа), беті тегіс, профилі дөңес, түсі сәл ақ, шеті тұтас, құрылымы біркелкі және консистенциясы шырышты.

Жоғарыда келтірілген әдеби деректерге сүйене отырып, дақылды-морфологиялық қасиеттері бойынша зерттелетін микроорганизмдер Стрептококк тұқымдасына жатады.

ҚОРЫТЫНДЫ

Streptococcus thermophilus — грамм оң кокк бактериялары, яғни олар грамм бойынша бояу кезінде күлгін түске боялады. Бұл олардың жасуша қабырғасының қалыңдығы мен пептидогликан қабатының ерекшеліктерін көрсетеді. Олар шар тәрізді, көбінесе тізбек немесе жұп болып орналасады. Бұл орналасу түрі бактериялардың көбейген кезде толық бөлінбей, шынжыр тәрізді құрылымдар түзетінін көрсетеді. Жасушалардың диаметрі шамамен 0,7-0,9 микрометр. *Streptococcus thermophilus*-тің дақылдық қасиеттері оны әртүрлі қоректік ортада өсіру арқылы анықталады. Бактерияның да қылдық зерттеу оның өсуіне қолайлы жағдайларды және оның биологиялық ерекшеліктерін сипаттайды.

Колониялардың сыртқы көрінісі: *Streptococcus thermophilus* агарда өскенде колониялары әдетте дөңгелек, ақшыл немесе сарғыш түсті, тегіс және кішігірім болады. Колониялардың диаметрі шамамен 1-2 мм.

Бұл бактериялардың термофильді қасиеттері оларды йогурт және басқа ферменттелген өнімдерді дайындауда өте маңызды етеді. Олардың культуралық қасиеттері де, атап айтқанда, қышқыл ортаға төзімділігі мен сүт қышқылын өндіру қабілеті тағамдық өнімдердің сапасын жақсартады.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Agarwal, R., Gupta, R., & Sharma, R. (2020). Isolation and characterization of *Streptococcus thermophilus* from Indian yogurt. *Dairy Science & Technology*, 100(5), 1-10.
- 2 Axelsson, L. (2004). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects* (3rd ed.). Marcel Dekker, Inc.
- 3 Cui, Y., Zhang, L., Zhang, L., Huang, L., & Liu, Y. (2020). Application of lactic acid bacteria in yogurt fermentation: A review. *Dairy Science & Technology*, 100(2), 1-14.
- 4 Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., & Williams, S.T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- 5 Li, Z., Teng, Z., & Kang, J. (2018). Selective growth of *Streptococcus thermophilus* and its effects on yogurt texture. *Journal of Dairy Research*, 85(3), 302-308.
- 6 Papadimitriou, K., Alexandraki, V., & Anastasiou, R. (2015). Challenges in the isolation and enumeration of lactic acid bacteria from fermented products. *Microbial Ecology in Health & Disease*, 26, 2317.
- 7 Smid, E.J., & Lacroix, C. (2013). Lactic acid bacteria and fermentation control in food processing. *Current Opinion in Food Science*, 5(4), 135-140.
- 8 Tamime, A.Y., & Robinson, R.K. (2007). *Yoghurt: Science and Technology*. Woodhead Publishing.
- 9 Wood, B.J.B., & Holzapfel, W.H. (1995). *The Lactic Acid Bacteria: Volume 2. The genera of lactic acid bacteria*. Springer Science & Business Media.

10 Yong, W.L., & Steele, J.L. (2005). Molecular Genetics of Lactic Acid Bacteria. Springer.

11 Zhang, X., Wang, X., & Zhao, X. (2016). Effect of growth media on Streptococcus thermophilus metabolic activity and lactic acid production. Food Microbiology, 57, 1-7. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002020302616?via%3Dihubfile:///C:/Users/user.BUKETOV/Downloads/29-37.pdf>

REFERENCES

- 1 Agarwal, R., Gupta, R., & Sharma, R. (2020). Isolation and characterization of Streptococcus thermophilus from Indian yogurt. Dairy Science & Technology, 100(5), 1-10.
- 2 Axelsson, L. (2004). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects (3rd ed.). Marcel Dekker, Inc.
- 3 Cui, Y., Zhang, L., Zhang, L., Huang, L., & Liu, Y. (2020). Application of lactic acid bacteria in yogurt fermentation: A review. Dairy Science & Technology, 100(2), 1-14.
- 4 Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., & Williams, S.T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Lippincott Williams & Wilkins.
- 5 Li, Z., Teng, Z., & Kang, J. (2018). Selective growth of Streptococcus thermophilus and its effects on yogurt texture. Journal of Dairy Research, 85(3), 302-308.
- 6 Papadimitriou, K., Alexandraki, V., & Anastasiou, R. (2015). Challenges in the isolation and enumeration of lactic acid bacteria from fermented products. Microbial Ecology in Health & Disease, 26, 2317.
- 7 Smid, E.J., & Lacroix, C. (2013). Lactic acid bacteria and fermentation control in food processing. Current Opinion in Food Science, 5(4), 135-140.
- 8 Tamime, A.Y., & Robinson, R.K. (2007). Yoghurt: Science and Technology. Woodhead Publishing.
- 9 Wood, B.J.B., & Holzapfel, W.H. (1995). The Lactic Acid Bacteria: Volume 2. The genera of lactic acid bacteria. Springer Science & Business Media.
- 10 Yong, W.L., & Steele, J.L. (2005). Molecular Genetics of Lactic Acid Bacteria. Springer.
- 11 Zhang, X., Wang, X., & Zhao, X. (2016). Effect of growth media on Streptococcus thermophilus metabolic activity and lactic acid production. Food Microbiology, 57, 1-7. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002020302616?via%3Dihubfile:///C:/Users/user.BUKETOV/Downloads/29-37.pdf>

Выделение молочнокислых бактерий *streptococcus thermophilus* из отечественного молочного продукта и изучение их морфологических и культуральных свойств

А.Н.Дауылбай¹, А.С.Динмухамедова²

¹магистрант, Кокшетауский университет имени Ш. Уәлиханова, г. Кокшетау, 020000, Республика Казахстан

²кандидат биологических наук, Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева, г. Астана, 010000, Республика Казахстан

В данной работе рассматривается процесс выделения молочнокислых бактерий *Streptococcus thermophilus* из отечественного молочного продукта (йогурта) и изучения их морфологических и культуральных свойств. *Streptococcus thermophilus*-важный микроорганизм, используемый при производстве кисломолочных продуктов, таких как йогурт и сыр. Целью исследования является выделение чистой культуры бактерий, проведение их морфологического исследования, а также изучение свойств культуры в различных питательных средах.

Из методов исследования использовались образцы йогурта, выращивание бактерий в селективных питательных средах и микроскопическое изучение морфологии.

Результаты исследования предоставляют важную информацию о морфологии *Streptococcus thermophilus*, формах расположения клеток, особенностях роста, которые можно использовать для улучшения процессов ферментации в отечественной молочной промышленности. Результаты также могут способствовать разработке новых функциональных продуктов с пробиотическими свойствами.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, йогурт, штаммы *Streptococcus thermophilus*, пробиотик, лактоза, стрептококки.

Isolation of lactic acid bacteria *streptococcus thermophilus* from domestic dairy products and study of their morphological and cultural properties

A.N.Dauylbay¹, A.S.Dinmukhamedova²

¹Kokshetau University named after Sh. Ualikhanov, Kokshetau, 020000, Republic of Kazakhstan

²L. N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, 010000, Republic of Kazakhstan

*This paper examines the process of isolating lactic acid bacteria *Streptococcus thermophilus* from a domestic dairy product (yogurt) and studying their morphological and cultural properties. *Streptococcus thermophilus* is an important microorganism used in the production of fermented dairy products such as yogurt and cheese. The aim of the study is to isolate a pure culture of bacteria, conduct their morphological study, as well as study the properties of the culture in various nutrient media.*

Among the research methods, yogurt samples, bacterial cultivation in selective nutrient media and microscopic morphology studies were used.

*The results of the study provide important information about the morphology of *Streptococcus thermophilus*, the forms of cell arrangement, and growth features that can be used to improve fermentation processes in the domestic dairy industry. The results may also contribute to the development of new functional products with probiotic properties.*

*Keywords: lactic acid bacteria, yogurt, *Streptococcus thermophilus* strains, probiotic, lactose, streptococci.*