Алматы технологиялық университеті

ӘОЖ 66.022.3: 639.3.043 Қолжазба құқығында

**САҒЫМБЕК ФАТИМА ҒАБИТҚЫЗЫ**

# АЗЫҚТЫҢ ТАҒАМДЫҚ ҚҰНДЫЛЫҒЫ МЕН ТИІМДІЛІГІН АРТТЫРАТЫН БИОЛОГИЯЛЫҚ ПРЕПАРАТТЫ ӘЗІРЛЕУ

8D05101 – «Биотехнология»

Философия докторы (PhD)
дәрежесін алуға дайындалған диссертация

**Отандық ғылыми кеңесшілер:**
Биология ғылымдарының докторы,
профессор Серикбаева А.Д.
Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті

PhD, қауымдастырылған профессор м.а.
Абдигалиева Т.Б.
Алматы технологиялық университеті

**Шетелдік ғылыми кеңесші:**
доктор, қауымдастырылған профессор
Serkan Özkaya
Ыспарта қаласы,Түркия

Қазақстан Республикасы
Алматы, 2025

**МАЗМҰНЫ**


| | | |
|---|---|---|
| | **НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР** | 4 |
| | **АНЫҚТАМАЛАР** | 5 |
| | **БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР** | 6 |
| | **КІРІСПЕ** | 7 |
| **1** | **ӘДЕБИЕТКЕ ШОЛУ** | 10 |
| 1.1 | Сүт қышқылды бактерияларының пробиотикалық әсерлері | 10 |
| 1.2 | Аквакультураға арналған азықтық қоспалар | 19 |
| 1.3 | Балықтың өсуі мен иммунитетін жақсарту үшін пробиотиктер және оларды аквакультурада қолдану | 35 |
| **2** | **ЗЕРТТЕУ НЫСАНЫ МЕН ӘДІСТЕМЕСІ** | 43 |
| 2.1 | Зерттеу материалдары | 43 |
| 2.2 | Зерттеу объектісі | 43 |
| 2.3 | Зерттеу әдістері | 44 |
| 2.3.1 | Сүт қышқылды бактериялардың таза дақылдарын бөліп алу және қасиеттерін зерттеу әдісі | 44 |
| 2.3.2 | Сүт қышқылды бактериясын молекулалық-генетикалық әдісі арқылы идентификациялау | 46 |
| 2.3.3 | Іріктелген штамның биологиялық қауіпсіздігін анықтау | 47 |
| 2.3.4 | Өндірісте пайдалану мақсатында іріктелген штамнан құрғақ биологиялық препаратты лиофилизация әдісімен әзірлеу | 48 |
| 2.3.5 | Азықтың физика-химиялық көрсеткіштерін анықтау әдістері | 49 |
| **3** | **ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ТАЛДАУ** | 50 |
| 3.1 | Сүт қышқылды бактериялардың таза дақылдарын бөліп алу және морфологиялық, биохимиялық көрсеткіштері | 50 |
| 3.1.1 | Сүт қышқылды бактериялардың қышқыл түзуі | 52 |
| 3.1.2 | Іріктелген сүт қышқылды бактериялардың pH4 және pH2 қышқылдық ортасына төзімділігі | 53 |
| 3.1.3 | Іріктелген сүт қышқылды бактериялардың өт қышқылдарына төзімділігі | 55 |
| 3.2 | Лактобактериялардың антибиотиктерге сезімталдық қасиеті | 56 |
| 3.3 | Сүт қышқылды бактерияларының антогонистік белсенділігі | 59 |
| 3.4 | Пробиотикалық бактериялардың генетикалық талдау және штамдардың генотиптік идентификациясы | 60 |
| 3.5 | Іріктелген штамның биологиялық қауіпсіздігі | 67 |
| 3.6 | *Lactobacillus paracasei* – 010К штамын депонирлеу және АҚШ GENBANK деректер базасына енгізу нәтижелері | 71 |
| 3.7 | Өндірісте пайдалану мақсатында іріктелген штамнан құрғақ биологиялық препарат әзірлеу | 71 |
| 3.8 | Биологиялық препарат қосылған азықтың физика-химиялық көрсеткіштері | 75 |

3.9 Дайын биологиялық препараттардың тилапия балықтарының биологиялық көрсеткіштеріне әсері 76
4 Дайын биологиялық препараттардың тилапия балықтарының ішек микрофлорасына сандық және сапалық әсері 79
**ҚОРЫТЫНДЫ** 83
**ТӘЖІРИБЕЛІК ҰСЫНЫСТАР** 84
**ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ** 85
**ҚОСЫМШАЛАР** 104

## НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР

Бұл диссертациялық жұмыста келесі стандарттарға сілтемелер қолданылған:

| | |
|---|---|
| МЕМСТ 1530–65 | Пергаментті қағаз |
| МЕМСТ 5692–67 | 96% спирт |
| МСТ 5962–67 | Тазартылған этил спирті.Техникалық шарттар |
| МЕМСТ 3164–78 | Вазелин майы. Техникалық шарттары |
| МЕМСТ 6259–75 | Глицерин. Техникалық шарттар |
| МЕМСТ 1770–74 | Зертханалық шыны өлшеуіш ыдыс. Цилиндрлер, мензуркалар, колбалар, пробиркалар. Жалпы техникалық шарттар |
| МЕМСТ 9147–80 | Зертханалық фарфор жабдықтар және ыдыстар. Техникалық шарттар |
| МЕМСТ –9284–82 | Микроскоптарға арналған заттық шынылар |
| МЕМСТ 9284–75 | Жұғынды жасайтын шынылар. Жалпы талаптар |
| МЕМСТ 12026–76 | Зертханалық фильтрлі қағаздар. Техникалық шарттары |
| МЕМСТ 22379–93 | Медициналық мақталы–дәкелі өнімдер. Техникалық шарттар |
| МЕМСТ 8074–82 | Аспаптық микроскоптар |
| МЕМСТ –9284–82 | Микроскоптарға арналған заттық шынылар |
| МЕМСТ 13739–78 | Микроскопқа арналған иммерсиялық май. Техникалық талаптар. Зерттеу әдістері. |
| МЕМСТ 24861–91 | Бір рет егуге арналған шприцтер |
| МЕМСТ 17206–84 | Микробиологиялық агар. Техникалық шарттар |
| МЕМСТ 20730–75 | Қоректік орта. Ет–пептонды сорпа (ветеринарлық мақсаттар үшін). Техникалық шарттар |
| МСТ 12.1.005–88 | Жұмыс аумағы ауасына қойылатын жалпы санитарлық– гигиеналық талаптар |
| МЕМСТ 28085–89 | Залалсыздандыруды бактериологиялық бақылау әдісі |
| МЕМСТ 12.1.005–88 | Жұмыс аумағы ауасына қойылатын жалпы санитарлықгигиеналық талаптар |
| МЕМСТ 15.011–96 | Патенттік зерттеулер, мазмұны мен жүргізу тәртібі |

# АНЫҚТАМАЛАР

Бұл диссертацияда сәйкес анықтамалармен келесі терминдер қолданылады:

Адгезия – түкшелердің көмегімен аш ішектің эпителиалды клеткаларына бактериялардың жабысу қабілеті.

Азық - өсімдік және жануарлардан алынатын өнімдер, сондай-ақ жануарлардың рационына қосылатын түрлі минералдар.

Азықтық қоспалар - жануарлар ағзасына қоректік және биологиялық белсенді заттарды жеткізуші болып табылатын табиғи немесе химиялық синтез (ферментативті гидролиз) жолымен алынған органикалық немесе минералды қосылыстар.

Антибиотик – латын сөзінен аударғанда «анти» – қарсы, ал «биос» – өмір, яғни ауру шақырушы бактериялардың тіршілігіне қарсы дегенді білдіреді.

Биоценоз – бір биотипте орналасқан тірі организмдердің жиынтығы.

Бифидобактериялар (*Bifidobacterium*) – иесінің гомеостазын қолдауда үлкен рөл атқаратын облигатты–анаэробты спора түзбейтін, қозғалмайтын микроорганизмдер.

Идентификация – микроорганизмдердің қасиеттері жиынтығының негізінде түрге дейін ажырату.

Иммуногендік – ауру қоздырғыштарына қарсы организмнің қорғаныштық реакциясын тудыратын вакциналардың қабілеттілігі.

Иммундық жүйе – жануарлардың ортаға бейімделу мүмкіндіктері мен олардың денсаулық дәрежесін анықтайтын ең маңызды гомеостатикалық жүйелердің бірі.

Өнімнің биологиялық құндылығы – маңызды аминқышқылдарының, полиқанықпаған май қышқылдарының, микроэлементтердің және тағамның басқа да минорлық компоненттерінің, азықтық талшықтардың және т.б. құрамымен анықталатын тағамның химиялық құрамының ерекшеліктерінің жиынтығы.

Культура – тығыз және сұйық қоректік орталарда өміршең микроорганизмдердің популяциясы.

Пробиотиктер – организмге табиғи әдіспен енгізгенде оның микробиотасын қалыптастыру және тұрақтандыру арқылы физиологиялық, биохимиялық және иммундық реакцияларына жағымды әсер ететін тірі микроорганизмдер және микроб тектес заттар негізінде жасалған биопрепараттар.

Уытты элементтер – тірі организмдердің өсуіне және дамуына, физиологиялық процестерге теріс әсер етуі мүмкін химиялық элементтер. Ең улы элементтер – сынап, кадмий, қорғасын.

Штамм – морфологиялық және биологиялық қасиеттері ұқсас микроорганизмдердің бір түрі.

## БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

Бұл диссертациялық жұмыста төмендегідей қысқартулар мен белгілеулер қолданылды:

| | |
|---|---|
| АТФ | – аденозинтрифосфат |
| АІЖ | – асқазан ішек жолдары |
| ББ | – бифидобактериялар |
| ББҚ | – биологиялық белсенді қоспалар |
| ББЗ | – биологиялық белсенді заттар |
| БҰҰ | – біріккен ұлттар ұйымы |
| ГСА | – гидролизатты сүт агары |
| ГЦ | – гуанин, цитозин |
| ДК | – дифференциалау кластерлері |
| ДНҚ | – дезоксорибонуклеин қышқылды |
| ЕПА | – ет пептонды агар |
| КТБ | – колония түзуші бірлік |
| ЖШС | – Жауапкершілігі шектеулі серіктестік |
| MRS | – Рогоздың және Шарптың қоректік ортасы |
| МД | – 1мл ортадағы микроб денесі |
| МК | – микроб клеткасы |
| МС | – майсыздандырылған сүт |
| НҚ | – нормативті құжат |
| ПТР | – полимеразды тізбекті реакция |
| СҚБ | – сүт қышқылды бактериялар |
| СС | – сүт сарысуы |
| ФБЗ | – физиологиялық белсенді заттар |

# КІРІСПЕ

**Диссертациялық жұмыстың жалпы сипаттамасы.** Жұмыс азықтың тағамдық құндылығы мен тиімділігін арттыратын биологиялық препаратты әзірлеуге арналған.

**Зерттеу жұмысының өзектілігі.**

Қазақстан Республикасының Президенті Қ.К. Тоқаевтың 2022 жылғы 22 қарашадағы № 22-01-38.41 (9-т.) тапсырмасы бойынша балық шаруашылығын дамытудың 2021 – 2030 жылдарға арналған бағдарламасын жүзеге асыру мақсатында бірнеше міндеттер қойылған. Соның ішінде балық өсіру (аквaөсіру) өнімі мен басқа су жануарларын сақтауды және өсімін молайтуды қамтамасыз ету шараларын қарқынды дамыту біздің еліміздегі агроөнеркәсіптік кешен алдына қойылған басым міндет болып табылады. Әрине, балық өнеркәсібінің қарқынды дамуы үшін биотехнологияның атқаратын ролі өте маңызды.

Қазіргі таңда ауыл шаруашылығы мен балық шаруашылығында өнім сапасын арттыру, жануарлар мен балықтардың денсаулығын жақсарту, сондай-ақ табиғи ресурстарды ұтымды пайдалану – маңызды әрі өзекті мәселелердің бірі болып отыр. Осы мақсатта экологиялық қауіпсіз әрі тиімді шешімдердің бірі ретінде биологиялық негіздегі пробиотикалық препараттарды қолдану кең таралуда.

Азықтың қоректік құндылығын арттыру, ас қорыту жүйесінің қызметін жақсарту және балықтардың өнімділігін көтеру үшін жаңа буындағы биологиялық препараттар – пробиотиктерді әзірлеу қажет. Пробиотиктер – пайдалы тірі микроорганизмдерден тұратын және жануарлар организміне оң әсер ететін биопрепараттар. Олар ішек микрофлорасын тұрақтандырып, метаболизмді реттеп, қоректік заттардың сіңуін жақсартады, ауруларға төзімділікті арттырады.

Бүгінгі таңда отандық ғылым алдында тұрған негізгі міндет – табиғи ортаға бейімделген, антагонистік белсенділігі жоғары, сүт қышқылды бактериялар негізіндегі өндірістік штамдарды іріктеу және оларды тиімді технологиялық шешімдермен үйлестіре отырып, тиімді пробиотиктер жасау. Бұл – балықтарда ас қорыту бұзылыстарының алдын алып, олардың өнімділігін экологиялық және экономикалық тұрғыда тиімді жолмен арттыруға жол ашады.

Осыған байланысты пробиотикалық биопрепараттар әзірлеу мәселесі ғылым мен өндіріс арасындағы байланысты нығайтатын, бәсекеге қабілетті және қауіпсіз өнімдер шығаруға ықпал ететін стратегиялық бағыттардың бірі болып табылады. Сонымен қатар, бұл салада жүргізілетін зерттеулер отандық биотехнологияны дамытып, импорттық тәуелділікті азайтуға мүмкіндік береді.

**Зерттеу жұмыстың мақсаты:** Азықтың тағамдық құндылығы мен тиімділігін арттыратын дәстүрлі сүт қышқылды өнімдерден бөлінген перспективті штамдар негізінде биологиялық препаратты әзірлеу.

**Қойылған мақсатқа жету үшін зерттеудің негізгі міндеттері:**

1. Дәстүрлі ашытылған сүт өнімдерінен (бие сүті және қымыз) сүт қышқылды бактериялардың таза дақылдарын бөліп алу және пробиотикалық қасиеттерін зерттеу.

2. Пробиотикалық белсенділікке ие штамдарды заманауи генетикалық әдіс арқылы идентификациялау;

3. Пробиотикалық қасиетке ие штамдардан биологиялық препарат әзірлеу.

4. Дайын пробиотикалық азықтың сапалық көрсеткішін анықтау және балықтардың негізгі рационына енгізу.

5. Биологиялық препараттың балық ішек микрофлорасына және биологиялық жағдайына әсерін зерттеу.

**Зерттеудің нысандары:** Бие сүті, қымыз, бөлініп алынған сүт қышқылды бактериялар, ашытқы, тилапия балығы **(***Oreochromis niloticus)***,** биологиялық препарат және азық.

**Зерттеу нәтижелерінің ғылыми жаңалығы.**

Қазақтың дәстүрлі ұлттық сүт өнімдерінен (бие сүті және қымыздан) 5 (бес) пробиотикалық сүт қышқылды штамдары бөлініп алынды. Олардың қауіпсіздігі, пробиотикалық әлеуеті және микробқа қарсы қасиеттері зерттелді;

Заманауи молекулярлық әдістермен 5 пробиотикалық штамм бөлініп алынып, оның ішінен 1 пробиотикалық штамм (100,00%) дәлдікпен сәйкестендірілді және Ұлттық денсаулық сақтау институтының Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы (NSBI) құрамына кіретін АҚШ GENBANK деректер базасына енгізілді https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide

Ең жоғарғы пробиотикалық қасиет көрсеткен штамдардың үйлесімділігін ескере отырып, микробиологиялық қасиеттерінің жиынтығын салыстырмалы зерттеу негізінде 2 штамнан консорциум жасалды және балықтың өсуін ынталандыруға арналған биологиялық препараты өндіріліп шығарылды.

Зерттеу нәтижелері бойынша балық азығының тағамдық құндылығы мен тиімділігін арттыратын биологиялық препаратты балықтың азығына қолдана отырып, *in vivo* зерттеулері жүргізілді.

**Жұмыстың тәжірибелік маңыздылығы.**

Қымыздан *Lactobacillus paracasei* жаңа штамы бөлініп, заманауи молекулярлық әдістермен идентификацияланды. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде штаммға паспорт алынып, № 09112–71 сәйкестендіру номері бойынша «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» орталық мұражайында сақтауға берілді.

№7343 сәйкестендіру номері бойынша «Ауыл шаруашылығы жануарларының, құстардың және балықтардың асқазан–ішек ауруларының алдын алуға және емдеуге арналған пробиотикалық препаратты алу үшін пайдалнылатын *Lactobacillus paracasei* – 010К сүт қышқылды бактерияларының штаммы» пайдалы модельге патент алынды.

№36625 сәйкестендіру номері бойынша «Балықтың өсуін ынталандыруға, ауруларын алдын алуға және емдеуге арналған пробиотикалық препарат» өнертабысқа патент алынды.

**Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:**

– Бие сүті және қымыздан сүт қышқылды бактерияларының пробиотикалық потенциалы зерттеліп, 5 штамм генетикалық әдіспен идентификацияланды.

– Ең жоғарғы пробиотикалық қасиетке ие *Lactobacillus paracasei* – 010К штамы АҚШ GENBANK деректер базасына енгізілді (№PV5239071).

– Тилапия балықтарының азықтарына арналған екі түрлі биологиялық препарат әзірленді.

– Биологиялық препараттар *in vivo* жағдайында зерттеліп, балық шаруашылығында тиімділігі анықталды.

**Қорғауға ұсынылатын ғылыми жұмыс нәтижелерінің жасақталуына қосқан диссертанттың жеке үлесі**

Диссертациялық жұмыстың барлық қажетті тапсырмаларды қоюдан, әдеби деректерді талдаудан, жұмыстың мақсаты мен міндеттерін анықтау, эксперименттер жүргізу, зерттеу нәтижелерін өңдеу, оларды жариялаудан, ұсынылған биологиялық препаратты өнеркәсіптік сынақтан өткізу; патент әзірлеуден тұрды. Диссертацияның барлық этаптары автордың жеке қатысуымен жүргізілді.

**Диссертация жұмыстың апробациясы.**

Диссертациялық жұмыстың негізгі нәтижелері Алматы технологиялық университетінің «Тағам, жеңіл өнеркәсіптері мен қонақжайлылық индустриясының инновациялық дамуы» халықаралық ғылыми–тәжірибелік конференциясына (Алматы 2020), XV Халықаралық «Жаһандық ғылым және инновация 2021: Орталық Азия» халықаралық ғылыми–практикалық конференция (Астана, 2021) материалдарында талқыланып, жарияланды.

**Ғылыми басылымдар.** Диссертация тақырыбы бойынша 8 ғылыми жұмыс жарияланды, оның ішінде: 1 мақала - Scopus базасына кіретін журналда «Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences» (процентиль - 44); 3 мақала - ҚР Ғылым және жоғары білім министрлігінің ғылым және жоғары білім саласында сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған баспаларда; 2 мақала - Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференциялар жинақтарында; жаңалығы 1 ҚР пайдалы модельге және 1 өнертабысқа патенттері.

**Диссертациялық жұмыстың құрылымы мен көлемі.** Диссертациялық жұмыс келесі бөлімдерден тұрады: белгілер және қысқартулар, нормативтік сілтемелер, кіріспе, әдебиеттерге шолу, материалдар мен зерттеу әдістері, нәтижелер мен оларды талқылау, қорытынды, өндіріске тәжірибелік ұсынымдар, пайдаланылған әдебиеттер тізімі және қосымшалар. Диссертация 120 бетте берілген компьютерлік мәтіннен, 18 кестеден, 20 суреттен және 4 диаграммадан тұрады. Пайдаланылған әдебиеттер тізімі 246 әдеби көзін құрайды.

# 1 ӘДЕБИЕТКЕ ШОЛУ

## 1.1 Сүт қышқылды бактерияларының пробиотикалық әсерлері

Соңғы кездерде сүт қышқылды бактерияларға және олардың биологиялық белсенді қасиеттеріне ғалымдардың қызығушылығы артуда. Олардың адам өмірі үшін маңызы зор екендігі анықталған. Биологиялық қасиеттерінің ішінде әсіресе адгезивтік, антагонистік, иммунореттеушілік, ісікке қарсы, фагқа төзімділігі, бактериоциногендік қасиеттері ерекше орын алады. Сүт қышқылды бактериялары тек осы қасиеттерімен ғана шектеліп қоймайды, сонымен қатар сүт қышқылды бактериялардың жаңа түрін бөлу, жаңа классификациясы бойынша сипаттау және оларды қолданудың жолдарын іздеудің қажеттілігі әркез туындап отырады.

Табиғи және өндірістік субстраттардан сүт қышқылды бактерияларды бөліп алып, оларға сандық есеп жүргізудің бірнеше қиыншылықтары бар. Оның себебі бұл топтағы микроорганизмдердің қоректік заттарға қажеттілігі өте жоғары, кез келген жай қоректік ортада өспейді. Олардың көбісі дәрумендерді (лактофлавин, тиамин, пантотен, никотин және фолий қышқылдары), амин қышқылдарын, сонымен қатар пурин және пиримидинді қажет етеді.

Сүт қышқылды бактериялардың сүттен айран, қаймақ, шұбат, қымыз, май және басқа тағамдар алуда, сонымен қатар нан өндірісінде маңызы өте зор. И.И.Мечников сүт қышқылды бактериялар адам, ішек қарнында кездесетін зиянды бактерияларды жоятын – оларға антагонистер болып табылатынын ашқан. Осы зерттеулердің арқасында олардың антибиотикалық қасиетін зерттеуге жол ашылды.

Сүт қышқылды бактериялар арқылы көптеген антибиотиктер алуға болатындығы анықталды. Көбісі тамақ өнеркәсібінде және медицина саласында қосымша емдеу кезінде қолданылады. Сүт қышқылды бактериялардың ішінде индикаторлық штамдар бар екені ертеректе анықталған.

Индикаторлық штамдарды дәрумендерді және аминқышқылдарын анықтауға, ғылыми лабораториялық жұмыстарға ғана пайдаланып қоймайды, сонымен қатар тағам және дәрумен өндіретін өндірістерде қолданады.

Сүт қышқылды бактерияларының клеткалары шар және таяқша тәрізді болады, қозғалмайды, спора түзбейді және оттегі немесе оттегісіз жерде тіршілік етуге бейімделген. Бірақ бұған қатысатын бактериялардың барлығы бірдей мөлшерде сүт қышқылын түзе бермейді. Қышқыл ортаға шар тәрізділер 26 төзімсіз. Ал таяқша тәрізділері ортада 1,5-2%-дай сүт қышқылы болғанның өзінде тіршілік ету қабілеті бар.

Сүт қышқылды бактериялары СҚБ - бірегей метаболикалық, морфологиялық және физиологиялық ерекшіліктерімен сипатталатын микроорганизмдер тобы. Олар табиғи түрде жануарлар мен адамдардың сау шырышты қабаттарында болады. Сонымен қатар, олар әдетте әртүрлі ашытылған және басқа да тағамдарда, соның ішінде сүт өнімдерінде (мысалы, йогурт, ірімшік), сусындарда, жарма ашытқысында, ет, көкөністерде кездеседі. Бұл микроорганизмдер патогенді емес және адам тұтынуы үшін қауіпсіз болып

саналады. Пробиотиктер ретінде жіктелген кейбір зертханалық штамдар ішектің денсаулығын жақсарту, иммундық жүйені модуляциялау және микробқа қарсы әсер ету арқылы денсаулыққа ерекше пайда әкеледі. Пробиотиктердің бұл штамдары көбінесе бір немесе бірнеше биологиялық белсенді компоненттері бар және теңдестірілген диетаның бөлігі ретінде тұтынылған кезде пайдалы әсер ететін функционалды тағамдарда қолданылады. Демек, зертханада сүт өнеркәсібінде пробиотиктер және тағамдық қоспалардағы биоконверсиялық агенттер ретінде қолданылатын ашытқылар сияқты көптеген биотехнологиялық және басқа да өнеркәсіптік қолданбалар бар.

Ішекте микроорганизмдердің жүздеген түрлері болғандықтан, олардың көпшілігі метаболикалық функцияларға, иммундық реакцияларға және тіршілік иесінің денсаулығына әсер етеді. Осы жүйелік тепе-теңдікті қамтамасыз ететін популяцияда кездесетін тірі микроорганизмдер тобының бірі - сүт қышқылды бактериялары (СҚБ). СҚБ – кокк тәрізді немесе таяқша тәрізді, каталаза-теріс, спора түзбейтін және грам - оң бактериялардың табиғи тобы. Бұл метаболикалық қасиет оларды тамақ өнеркәсібінде өте құнды етеді, мұнда олар ашытылған тағамдарды өндіруде ашытқы ретінде кеңінен қолданылады. Сонымен қатар, зертхана бактериоциндерді – табиғи консерванттар ретінде қызмет ететін ақуыздарға негізделген микробқа қарсы заттарды шығара алады. Асқазан-ішек жолындағы әртүрлі стресс факторларына төтеп беру қабілетіне байланысты олар пробиотиктер ретінде құнды штамдар болып табылады.

Сүт қышқылы бактериялары (СҚБ) табиғатта кең таралған: оларды топырақта, жануарлар мен өсімдіктердің ыдырайтын қалдықтарында, омыртқалылардың ішектерінде, сүт пен сүт өнімдерінде табуға болады.

Өсімдіктермен және тамақпен бірге олар адам мен жануарлардың асқазан-ішек жолдарына түсіп, оның микробиотасын құрайды [1]. Микроорганизмдердің жеке кең тобына біріктірілген СҚБ-дың негізгі қасиеті-ашытудың негізгі өнімі ретінде сүт қышқылын қалыптастыру мүмкіндігі. Сүт қышқылын ашытуды морфологиясы бойынша гетерогенді бактериялық организмдер жүзеге асырады: таяқша тәрізді және сфералық (сфералық кокктар немесе эллипсоидты), *Lactococcus, Enterococcus, Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus, Vagococcus, Tetragenococcus, Carnobacterium, bifodobacterium* [2] тұқымдасына жатады.

Пробиотикалық деп санау үшін организмдер келесі сипаттамаларға ие болуы керек:

– пробиотикалық микроорганизмдер тірі күйде болуы керек;

– пробиотиктердің адам мен жануарлар ағзасына пайдалы әсерін болуы қажет;

– пробиотиктерді пайдалы әсер ететін дозада қолдану маңызды;

– пробиотиктер дәл анықталуы керек және зерттеушілер жариялаған нәтижелерді көбейту мүмкіндігі үшін әлемдік коллекцияға енгізілуі керек;

– пробиотиктер патогендік және уытты әсер етпеуі керек;

–пробиотиктерді дайын өнімнің жарамдылық мерзімі ішінде сақтау керек.

Бұл тізімге келесі критерийлер кірмегенін атап өту маңызды: микроорганизмдердің ішек жасушаларына адгезия қабілеті, олардың өт

қышқылдары мен қышқылдық ортаға төзімділігі, бактериоциндердің синтезі, антиоксидантты, патогенге қарсы қасиеттері және асқазан-ішек жолындағы тіршілік етуі.

Пробиотиктер патогендік, оппортунистік микрофлораны басу және балалар мен ересектердегі өткір ішек инфекциялары мен дисбиоздар кезінде қалыпты ішек микробиотасын қалпына келтіру үшін қолданылады. Атап айтқанда, *L. rhamnosus GG Clostridium difficile* тудыратын ойық жаралы колиттің өршуін болдырмау қабілетіне ие, әртүрлі патологиядағы жаңа туған нәрестелердегі диареяға емдік әсер етеді [4].

Бірақ, соңғы жылдардағы зерттеулер көрсеткендей, пробиотиктердің әсері микробиотаны түзетумен шектелмейді, олардың клиникалық тиімділігі иммуномодуляциялық функцияларға және метаболизмге қатысуға негізделген [5,6].

Пробиотиктерді қолданудың анықталған бағыттары оларды тағайындау көрсеткіштерін кеңейтуге және берілген қасиеттері бар препараттарды жасауға мүмкіндік береді.

*Lactobacillaceae* тұқымдасының өкілдері

*Lactobacillus* туысы *Lactobacillaceae* тұқымдасына жатады, *Lactobacillales* реті, *Bacilli* класы, *filum Firmicutes, Bacteria* домені [7]. Бұл классификацияны ол фенотиптік белгілерге, соның ішінде оңтайлы өсу температурасына, қанттарды пайдалануға және өндірілген метаболиттердің спектрлеріне негізделген. 2020 жылы сүт қышқылды бактерияларының таксономиялық қайта құрылуы нәтижесінде 7 ұрпақ пен 2 тұқымдастың 300–ден астам түрі *Lactobacillaceae* тұқымдасына қайта жіктелді, оның ішінде 31 тұқым, соның ішінде *Lactobacillus, Paralactobacillus, Pediococcus, Weissella, Fructobacillus, Convivina, Oenococcus, Leuconostoc* және бұрын *Lactobacillus* түрлері ретінде жіктелген организмдерді қамтитын 23 жаңа тұқым [8].

*Lactobacillaceae* тұқымдасы филогеномдық талдау негізінде сипатталған және бұрын *Lactobacillaceae* және *Leuconostocaceae* тұқымдасына жататын барлық тұқымдарды қамтиды, яғни *Convivina, Fructobacillus, Lactobacillus, Leuconostoc, Oenococcus, Paralactobacillus, Pediococcus* және *Weissella*. Бұл грам–оң, спора түзбейтін факультативті немесе қатаң анаэробты бактериялар. Тізбектерді, жұптарды немесе тетрадаларды (*Pediococcus* тұқымдасы) құра алатын коккоидты немесе таяқша тәрізді жасушалар. Ашытудың негізгі өнімі-лактат, басқа өнімдер-ацетат, этанол, көмірқышқыл газы ($CO_2$), формат және сукцинат. *Lactobacillaceae* – гомоферментативті және гетероферментативті микроорганизмдерді қамтитын жалғыз *Lactobacillales* тұқымдасы.

*Lactobacillus.* Грам - оң, термофильді және спора түзбейтін таяқшалар. *Lactobacillus* түрлерінің көпшілігі пентозаларды тұтынуға қабілетті емес, өйткені организмдердің ешқайсысында пентозофосфат жолының гендері немесе пируватформатлиаз жоқ. *Lactobacillus* түрлері иесіне бейімделген және көмірсулардың кең спектрін ашыту үшін субстрат ретінде пайдалануға қабілетті. Олар жасушадан тыс жемістерді, крахмалды немесе гликогенді ашыту үшін штаммға тән қабілетке ие болып келеді.

*Amylolactobacillus.* Грам - оң, каталаза–теріс, оксидаза–теріс, спора түзбейтін, қозғалмайтын жұқа таяқшалар (ені 0,5–0,9 мкм және ұзындығы 1,2–3 мкм), жеке және қысқа тізбектерде кездеседі. *Amylolactobacillus* өкілдері жасушадан тыс амилолитикалық белсенділікке ие.

*Bombilactobacillus.* Термофилдер, жәндіктермен байланысты. Көмірсутектердің өте тар спектрі субстрат ретінде қолданылады. Бал араларының асқазаны мен артқы ішегінен (*Apis mellifera*) бөлініп алынған, олар API *Lactobacillus* гетероферментативті тұқымымен байланысты.

*Companilactobacillus.* Грам - оң, спора түзбейтін таяқшалар. Өсу үшін температураға қойылатын талаптар тұрақты емес: штамдар 15 – тен 45°C–қа дейінгі температурада өседі. *Lactobacillus* штамдар ашытылған көкөністерден, атап айтқанда қыша мен пияздан, жемістерден (17 штамм; олардың 5-і ашытылған қыша мен пияздан), ашытқылардан немесе ашытылған дәнді дақылдардан (7 штамм) шұжық немесе ет өнімдерінен (штамдардың 7 түрі) немесе басқа өсімдік көздері. Бір изолят ашытылған сүт өнімінен алынады.

*Lapidilactobacillus*. Грам - оң таяқшалар немесе кокктар, қозғалмайтын, спора түзбейтін, факультативті анаэробты және каталаза–теріс. Пентозалар ашытылады. Өсу үшін pH диапазоны штамға байланысты, бірақ оңтайлы pH 6,0–ден 7,0–ге дейін. Негізінен сүт қышқылды өндіріледі. Өсу үшін оңтайлы температура 30–37°C. Аргининнен аммиак түзілмейді.

*Agrilactobacillus.* Грам - оң, таяқша тәрізді, каталаза–теріс, гомоферментативті, аэротолерантты микроорганизмдер. Геномның шығу тегі, физиологиялық қасиеттері мен ерекшеліктері тұқым өкілдерінің еркін өмір салтын ұсынады. Индонезия мен Қытайда компосттан, пюре желісінен және көкөністерден бөлініп алынған.

*Schleiferilactobacillus.* Грам - оң, таяқша тәрізді, каталаза–теріс және аэротолерантты микроорганизмдер. Өсім 15–42°C аралығында байқалады, ашыту үшін көмірсулардың кең спектрі қолданылады, соның ішінде пентозалар, гексозалар және олигосахаридтер тұқымның штамдары бұзылған сусындардан, соның ішінде сыра мен ашытылған сусындардан, ашытылған көкөністер мен дәнді дақылдардан бөлініп алынған.

*Latilactobacillus.* Түрдің штамдары еркін өмір сүреді және мезофилдер болып табылады. Көптеген штамдар психротрофтар болып табылады және 8°C− тан төмен температурада өседі, тек l (+) изомерін шығаратын *L. fuchuensis* қоспағанда, D ( –)–және L(+)–сүт қышқылын шығарады. Ет стартерлерінің құрамындағы практикалық маңызы *L. sadei* және *L. curvatus*.

*Loigolactobacillus.* Қозғалмайтын, спора түзбейтін, грам - оң, каталаза–теріс таяқшалар, жеке және жұпта кездеседі. D (–)–және L (+) – сүт қышқылды d–манноза мен D–Данниттен өндіріледі. Пентозаны ашыту түрге тән.

*Dellaglioa.* Факультативті анаэробты, психрофильді, қозғалмайтын таяқшалар. Тұқымға кіретін жалғыз түрдің штамдары психротрофтар болып және ет бұзылуының қоздырғыштары болып табылады.

*Liquorilactobacillus.* Грам оң, даусыз, қозғалмайтын таяқша тәрізді бактериялар; *Lactiplantibacillus* түрлері ферменттердің кең спектрін шығарады. Фенол қышқылының эстеразаларының көпшілігімен, декарбоксилаза және редуктаза белсенділігімен метаболизденеді; псевдокаталаза белсенділігі *Lactiplantibacillus plantarum* және нитрат редуктазаға байланысты атипті. Ашытылған тағамдардың көптеген түрлері, соның ішінде көкөністер, ет, сүт және дәнді дақылдар дақылдардан ерекшеленеді. Олар сондай-ақ тіршілік ету ортасымен байланысты жәндіктер мен омыртқалылардың ішек флорасын мекендейді. *Plantarum* ашытқы тағамдары, ашыту және пробиотикалық дақылдар сияқты кейбір коммерциялық маңызды уақыт өнімдерінің үлгісі ретінде кеңінен қолданылды.

*Holzapfelia.* Грам - оң, каталаза–теріс, гомоферментативті және аэротолерантты таяқшалар. Тұқымның бір түрінің типтік штаммы тау гүлдерінен бөлініп алынған, қалған штамдары араларда анықталған. *H. floricola* 15°C температурада өседі, тек глюкоза мен фруктоза ашытылады. Сондай – ақ организмнің геномдық және физиологиялық қасиеттері тұқымның жәндіктер мен гүлдермен байланысты өмір салтын көрсетеді.

*Furfurilactobacillus.* Гетероферментативті және аэротолерантты таяқшалар. Бұл тұқымның түрлері стартерден немесе бүлінген сырадан бөлініп алынған және фенолдық қосылыстарды метаболиздеудің ерекше қабілетіне ие. Бұл тұқымның экологиясы негізінен зерттелмеген күйінде қалады.

*Paucilactobacillus.* Грам - оң, каталаза–теріс және аэротолерантты таяқшалар. Кейбір түрлер психротрофтар болып табылады, бірақ *Paucilactobacillus suebicus* 45°C температурада өседі.гексозаның таусылған мекендеу орындарына бейімделу осы тұқымның көптеген штамдарында маннитдегидрогеназаның болмауымен көрінеді. *Paucilactobacillus* түрлері негізінен пентозаларды ашытады, көптеген штамдар дисахаридтерді ашытпайды. Сүрлем, маринадталған қияр және жеміс пюресі сияқты ашытылған өсімдік материалынан бөлініп алынған.

*Limosilactobacillus.* Грам - оң, каталаза–теріс, анаэробты немесе аэротолерантты таяқшалар немесе кокктар. Өсу 37°C температурада, ал көптеген түрлерде 45°C температурада байқалады. Көмірсулардың салыстырмалы түрде кең спектрі ашытылған, бірақ кейбір түрлері глюкозаны қолдана алмайды. Қышқылға төзімділік әдетте уреаза, глутаминаза, глутаматдекарбоксилаза немесе аргининдезиминаза экспрессиясы болады. *Lm. reuteri* және осы тектегі басқа штамдар жоғарғы ішекте секреторлық емес эпителийде биофильмдердің

түзілуін қолдау үшін сахарозадан экзополисахаридтер шығарады. *Limosilactobacillus* түрлері, әсіресе *Lm. reuteri*, ашытқы және пробиотикалық дақыл ретінде пайдалану үшін өнеркәсіптік ауқымда өндіріледі.

*Secundilactobacillus.* Грам - оң және каталаза - теріс таяқшалар. Көптеген штамдар 15°C температурада өседі, pH өсу диапазоны айтарлықтай өзгереді. *Secundilactobacillus spp*. метаболикалық қасиеттері гексозамен сарқылған тіршілік ету ортасына бейімделуге сәйкес келеді. Тұқымның көптеген штамдары фруктозаны маннитолға дейін қалпына келтірмейді, бұл *Secundilactobacillus*–ты *Lactobacillus*–тан басқа барлық гетероферментативті лактобактериялардан ажыратады. Бұл тұқымның өкілдері диолдарды диолгидратаза арқылы метаболиздейді және агматин–деиминаза жолына ие. Штамдарда әдетте метаболизмге делдал болатын трансальдолазалар/ транскетолазаны кодтайтын гендер болады. *Secundi Lactobacillus spp* өкілдері олар сүрлем, сыра, ликер пюресі және алма сидрін қоса алғанда, гексозасы таусылған мекендеу орындарынан екінші реттік ашыту өнімдерінен бөлініп алынған.

*Levilactobacillus.* Грам–оң және каталаза–теріс таяқшалар. Көптеген штамдар РН 4,0–7,0 диапазонында 15°C температурада өседі, қышқылдарға төзімді. Сүт қышқылы өндіріледі. Бұл тұқымның штамдарында әдетте метаболизм трансальдолаза/транскетолаза кодтайтын гендер болады. Еркін өмір сүреді және ашытылған немесе ашытылған көкөніс өнімдерінен бөлініп алынған, бірақ алкогольдік сусындардың бұзылуына әкелетін микроорганизмдер ретінде де кездеседі. *Levilactobacillus* тамақ пен жемде ашытқы ретінде қолданылады.

*Fructilactobacillus.* Грам -оң, каталаза - теріс және аэротолерантты таяқшалар. Жәндіктермен байланысты басқа сүт қышқылды бактериялармен салыстырғанда, бұл тұқымның бактериялары аз мөлшерде көмірсуларды (мальтоза т.б.) ашытады. Бұл штамдардың көпшілігі фруктоза бар және фруктозаны көміртегі көзі ретінде емес, электронды акцептор ретінде пайдаланады. Бұл тұқымның бірнеше түрі жәндіктердің ішек микробиотасының негізгі өкілдері болып табылады және жәндіктерден, гүлдерден және бүлінген немесе ашытылған тағамдардан бөлініп алынған.

*Acetilactobacillus.* Грам–оң және каталаза–теріс таяқшалар. Мезофилдер, тар температура диапазоны бар, қышқылға төзімді: оңтайлы pH = 4,0. Қышқыл түзілуіне ықпал ететін көмірсулардың спектрі қант спирттері мен дисахаридтерді қамтитындығымен ерекше, бірақ гексасахаридтердің көпшілігін және барлық пентасахаридтерді жояды. Ерекше қажеттілігі және өсу үшін оңтайлы pH сірке қышқылы бактерияларымен экологиялық байланысты көрсетуі мүмкін. Субстраттың қойылатын ерекше талаптар және өсу үшін оңтайлы pH сірке қышқылды бактерияларымен экологиялық байланысты көрсетуі мүмкін. Тұқымның жалғыз өкілі астық сірке суы брагасынан бөлініп алынған.

*Apilactobacilus.* Грам–позитивті таяқшалар. Көптеген штамдар pH 3,0–ден төмен өседі. Тұқымның барлық штамдары фруктозаны маннитолға айналдырады және өте аз көмірсуларды, соның ішінде тозаң мен араға байланысты көмірсуларды, фруктозаны, глюкозаны және сахарозаны ашытады, бірақ мальтоза немесе пентозаны емес. *Fructilactobacillus*–пен салыстырғанда, *Apilactobacilus* жәндіктермен байланысты өмір салтын жүргізеді және лактобактериялар мен жәндіктердің таралу орталығы ретінде қызмет ететін гүлдерде кездеседі. *Fructilactobacillus*–тен айырмашылығы, *Apilactobacillus* араларға, соның ішінде бал араларына бейімделген (*A. apinorum, A. kunkeei*) және жабайы аралар (*A. timberlake, A. micheneri, A. quenuiae*). Аралар мен аралардың ішектерінде *Apilactobacilus* өзінің гомоферментативті қарындас тұқымымен байланысты *Bambi Lactobacillus*.

Тоқ ішектен басқа, микроорганизмдер асқазанда және аш ішекте де кездеседі, бірақ аз мөлшерде. Асқазанда төмен қышқылдық жағдайында өмір сүруге қабілетті лактобактериялар, стрептококктар мен саңырауқұлақтар бар [11].

Бактериялар микроколонияда жиналып, шырышты қабаттар мен тамақ кесектерін жабатын биофильм түзеді. Мұндай биофильмді пайдалы және зиянды заттарды тану, метаболиздеу, сіңіру және транслокациялау процестеріне қатысатын бастапқы құрылым ретінде қарастыруға болады. Қантты ашыту планктоникалық мәдениетке қарағанда биофильмдерде тиімдірек болады [12].

Метаболизм процесінде органикалық қышқылдар (негізінен сүт), пероксидтер, антибиотиктер және бактериоциндер шығарады. Бұл компоненттердің түзілуі лактобактериялардың антагонистік белсенділігінің критерийі ретінде қарастырылады, бұл олардың патогендік және шартты патогендік микрофлора өкілдеріне қарсы бактерияға қарсы әсерін қамтамасыз етеді [13].

Тоқ ішекте пробиотикалық бактериялар, сондай–ақ сахаролитикалық микробиоталар (бифидобактериялар, лактобактериялар, стрептококктар) адамның ас қорыту ферменттерінің әсерінен гидролизденбейтін және аш ішек арқылы сіңірілмейтін көмірсуларды, сондай–ақ азықлық талшықтарды сіңіреді. Нәтижесінде қысқа тізбекті май қышқылдары (сірке, пропион, май, сүт) пайда болады, олар қанға тез сіңеді және тоқ ішектің шырышты жасушалары үшін негізгі энергия көзі болып табылады.

Тоқ ішектегі пробиотикалық бактериялардың бір немесе шектеулі санының өсуін және/немесе белсенділігін селективті ынталандыру арқылы хост ағзасына жағымды әсер ететін пребиотиктер мен сіңірілмейтін тағамдық ингредиенттер хосттың денсаулығын жақсартады. Күрделі көмірсулар негізінен бифидобактериялар мен сүт қышқылды бактерияларының көбеюін ынталандырады [14].

Пробиотикалық лактобактериялардың иесінің денесіне әсер етуінің жалпы механизмдері. *Lactobacillus* тұқымдас бактериялардың бейімделуі және олардың

пробиотикалық қасиеттері. Пробиотикалық бактериялар келесі механизмдер арқылы қабылдаушы ағзаның денсаулығына пайдалы әсер етеді [15,16]:

– патогендік микроорганизмдерге қарсы антогонистік белсенділік және бактерияаралық өзара әрекеттесу арқылы микробтық гомеостазды қалпына келтіру;

– эпителий тосқауылының функцияларын күшейту;

– иммундық жауаптардың модуляциясы.

Осы үш негізгі функцияның күрделілігін ескере отырып, мұны түсінуге болады әртүрлі штамдар хост ағзасына әсер ету бірдей емес: лактобактериялардың белгілі бір штаммы үшін алынған нәтижелерді жалпылау мүмкін емес. Осылайша, лактобактерияларды молекулалық зерттеу барысында штаммға тән қасиеттерге мұқият назар аудару қажет.

Пробиотиктердің, атап айтқанда сүт қышқылды бактерияларының молекулалық биологиялық зерттеулері тірі қалуға, бейімделуге және колонияға хост түзілуіне ықпал ететін факторларды (бейімделу факторлары) және денсаулықты нығайтуға тікелей әсер ететін факторларды (пробиотик факторлары) анықтауға бағытталған. Жалпы, пробиотикалық сүт қышқылды бактериялары асқазан-ішек жолына қатысты зерттелді.

"Адаптивті факторлар" пробиотиктердің әсеріне ықпал ететін, бірақ денсаулыққа міндетті түрде әсер етпейтін факторларды білдіреді. Кейде осы екі санат арасында нақты шекаралар қою қиын. Адаптивті факторларға стресске төзімділік, белсенді метаболизм, иесінің жағдайына бейімделу және ішектің шырышты қабығымен өзара әрекеттесу қабілеті жатады. Пробиотикалық факторларға пробиотиктердің әсер етуінің үш негізгі механизмі жатады:микробтық тепе–теңдікті сақтау, эпителийден қорғау және иммуномодуляция. *Salmonella enterica serovar typhimurium* және энтеропатогенді *Escherichia coli* сияқты асқазан–ішек жолдарының қоздырғыштарының тағаммен қажетсіз енуі мен пробиотиктерді мақсатты қабылдау арасында параллель жасауға болады. Микроорганизмдер асқазан-ішек жолдарының күрделі ортасында мекендейді, онда олар иесінің денесімен өзара әрекеттеседі. Патогендік және оппортунистік микробтар бұл өзара әрекеттесуді инвазия және патологияның дамуы сияқты агрессивті механизмдер арқылы жүзеге асырады. Оларға қарсы пробиотиктер денсаулыққа пайдалы әсер етеді, микроорганизмдердің өзіне де, иесіне де пайдалы. Патогендік бактериялардың вируленттілік факторлары мен пробиотикалық қасиеттері арасында ұқсастық жасауға болады: егер біріншісі ас қорыту жүйесінің әртүрлі ауруларының дамуына түрткі болса, екіншісі иесінің денесінде қолайлы штамдардың қосылуын қамтамасыз етеді.

Сүт қышқылды бактерияларының жасушаларының асқазан–ішек жолдарымен өзара әрекеттесуі**.** Асқазан-ішек эпителийімен байланысты шырыш қабаты негізінен күрделі гликопротеидтерден тұратын гель матрицасы болып табылады, ол хостты зиянды антигендерден қорғауға тосқауыл ретінде әрекет етеді және люминальды қозғалғыштыққа ықпал етеді. Бұл қабат иесінің денесі мен бактериялар арасындағы алғашқы физикалық кедергі болып табылады. Сондықтан бұл шырышқа адгезия пробиотикалық организмдердің хост

жасушаларымен әрекеттесуі және қандай да бір нақты жауап алу үшін қажет алғашқы қадам болып табылады. Адамның ішек жолында шырыш қабаты қалыңдығы 30–дан 300 мкм–ге дейін өзгеруі мүмкін, әдетте жіңішке ішектен тік ішекке дейін ұлғаяды, бірақ эпителий қабатымен тығыз байланысты шырыш қабатында сирек бактериялар болады [17].

Ішек қабатын құрайтын эпителий ұлпасы деп аталатын бағаналы жасушалардың әртүрлі түрлерінен тұрады. Бұл жасушалар гликопротеидтер, муциндер шығаратын бір жасушалы бездерден тұрады, олар тән тұтқыр серпімді қасиеттер береді.

Бөлінетін муциндер патогендерден, ферменттерден, токсиндерден, ластанудан және абразиядан қорғауға әкелетін шырыш қабатының құрылымдық негізін қамтамасыз ететін матрицаны қалыптастыру үшін полимерленеді. СҚБ жасушалары шырыштың қорғаныш қабатын ұстап тұру үшін қалыпты физиологиялық жағдайда базальды деңгейде секреторлық муцин шығарады, ол қатал жарық ортасына ұшырайды және үнемі трансмиссиялық бөлшектермен және ішек қозғалғыштығымен бұзылады [18,19] .

Пробиотикалық төзімділік пен колонизациялауға арналған клиникалық зерттеулердің көпшілігі пробиотикалық организмдер асқазан–ішек жолдарын үнемі колонизацияламайтынын және иелеріне енгізуді тоқтатқаннан кейін қысқа мерзімде ғана артықшылықтар беруді жалғастыратынын көрсетеді. Пробиотикалық организмдерді комменсалдармен салыстырғанда ішекте тұрақсыз ететіні туралы аз мәлімет бар. Сондықтан пробиотикалық микроорганизмдерді зерттеу кезінде олардың ішек эпителий жасушаларына қосылу қабілетіне әсер ететін факторларды ескеру қажет және мүмкіндігінше ұзақ сақталады [20].

Стерикалық және гидрофобты сияқты спецификалық емес физикалық өзара әрекеттесулер микроорганизмдердің асқазан-ішек эпителийіне бастапқы қосылуына ықпал етеді. Жасуша бетінің гидрофобтылығына байланысты пробиотикалық микроорганизмдер ішек бөліктерін тиімді колонизациялауға қабілетті [21].

Лактобактериялардың асқазан-ішек жолымен өзара әрекеттесуі шырышты адгезияға қатысатын қайталанатын құрылымдары бар үлкен беткі ақуыздардың көмегімен де жүзеге асырылуы мүмкін [22,23] және муцин олигосахаридтерімен өзара әрекеттесуде шешуші рөл атқарады. Шырышты қабатпен байланысатын көптеген ақуыздардың құрамында лектиндер сияқты басқа ұқсас белгілі ақуыздардың домендеріне гомологты аймақтар бар.

Эндосимбиотикалық бактериялардағы лектин тәрізді адгезиндердің эволюциясы асқазан-ішек жолында кездесетін муциндер сияқты поливалентті субстраттардың болуына ықпал еткен болуы мүмкін. Лектиндердің көп валентті гликопротеидтерге жақындығы жеке көмірсулар қалдықтарына жақындығымен салыстырғанда 50–100 есе жоғары болуы мүмкін. Айта кету керек, олардың кейбіреулері лектинге ұқсас өзара әрекеттесуді көрсетеді және лактобактериялардың көптеген өкілдерінде асқазан-ішек жолдары арқылы өткеннен кейін белсенділікті сақтай алады.

## 1.2 Аквакультураға арналған азықтық қоспалар

Балық қоректену ғылымы акваөсіру индустриясының орасан өсуіне төтеп беру үшін кеңінен дамып келеді. Қазіргі кезде қолданылып жүрген жемдік құрамдар он жыл бұрын қолданылғандармен салыстырғанда күрделірек. Заманауи азықтық құрамдар тіршіліктің әр кезеңінде әр түрлі түрлердің максималды акваөсіру өндірісін қолдау мақсатында және ең аз шығынмен белгілі бір өсіру жағдайында әртүрлі ингредиенттер мен қосылыстардан тұрады. Жемдік құрамда қолданылатын құрамының көпшілігі тағамдық қажеттіліктерді қамтамасыз ету мақсатына қызмет етеді, ал жемдік қоспалар қоректік заттардың қажеттіліктеріне сәйкестендірілмейтін, оның ішінде өсірілген ағзаның әл–ауқатын, сапасын жақсарту үшін арнайы мақсаттар үшін азыққа енгізілген қосылыстар болып табылады. соңғы өнім ретіндегі балық, жемнің физикалық–химиялық сипаттамасы. Сондықтан азық қоспалары «функционалды» деп аталады, өйткені олар азықдағы арнайы функцияларды орындауға арналған. Акваөсіруде қолданылатын функционалды жемдік қоспалардың алуан түрлілігі кең. Жемдік байланыстырғыштар, тұрақтандырғыштар, антиоксиданттар және микробқа қарсы агенттер балық жемінде азықтандыруға дейін азық немесе жем ингредиенттерінің тағамдық қасиеттерін сақтау үшін қолданылады. Азық күшейткіштері мен аттрактанттар (мысалы, бетаин, нуклеотидтер және т.б.) жемді қабылдауды және азықтардың дәмділігін арттыру үшін қолданылады; астаксантин және ксантофилдер сияқты бояғыштар соңғы өнімнің пигментациясына көмектеседі; ферменттер (мысалы, фитат, амилаза және т.б.) және органикалық қышқылдар (мысалы, бутирик) ас қорыту процесін жеңілдетіп, қоректік заттардың қолжетімділігін арттырады, бұл өсу өнімділігін арттырады. Азық қоспаларының тағы бір негізгі тобы пробиотиктер, пребиотиктер және фитогениктер сияқты иммунокүшейткіштер болып табылады. Бұл жемдік қоспалар тобы негізінен балықтың иммундық реакциясын немесе балық фермасының су сапасын жақсарту үшін қолданылады [24,25]. Сондықтан азықтық қоспалар акваөсірудегі заманауи жем құрамдарының құрамдас бөлігі болып табылады. Жемдік қоспалардың әлемдік нарығы осы кітаптың соңғы басылымынан бері айтарлықтай өсті. Азық қоспаларын зерттеушілер үздіксіз зерттеп, нарыққа енгізеді және коммерциялық жемдерге енгізеді.

Азықтандыру күшейткіштері және дәмді жақсартатын құралдар. Балықтардың мінез-құлық сипаттамалары, мысалы, тамақтану, көбею, көші–қон және т.б., қоршаған ортаға және су бағанындағы химиялық заттарға байланысты. Балықтар бірнеше органдармен қамтамасыз етілген және бұл ақпаратты алу және оны қажетті реакцияларды алу үшін миға беру стратегияларын әзірлейді. Иіс және дәм сезу – бұл балықтардың тамақтану тәртібінде маңызды рөл атқаратын екі негізгі хемосенсорлық жүйе [25].

Химиялық қосылыстар (мысалы, аминқышқылдары) немесе кейбір ингредиенттері осы негізгі жүйелер арқылы балықтың тамақтану тәртібін ынталандырып, Жем қабылдауды арттыруы мүмкін. Азықтандыру күшейткіштері мен хош иістендіргіштер – бұл жемді тұтынуды арттыру үшін

жемде қолданылатын қосылыстар. Азық-түлікті тұтынудың жоғарылауы өсудің жоғарылауына, иммундық реакцияларға немесе көбею өнімділігіне әкелуі мүмкін [26].

Су түрлеріне арналған жемшөптің заманауи формулаларында құрама жемді дамытудағы басты проблемалардың бірі – азықтардың дәмдік тартымдылығы. Балық ұны, крилл ұны, асшаян ұны, еритін балық өнімдері, балдыр ұны, балық майы және әртүрлі ақуыз гидролизаттары сияқты теңізден шыққан жемдер су түрлеріне Жем ингредиенттері ретінде жоғары дәмімен танылады [26–28]. Дегенмен, осы өте дәмді теңіз ингредиенттерімен байланысты өсіп келе жатқан шығындар мен тұрақтылық мәселелері алмастырғыштардың дамуына айтарлықтай қысым жасады. Демек, өсімдік тектес кейбір ингредиенттер құрама жем формулаларында маңызды құрамдас бөліктерге айналды. Өсімдік өнімдері өте дәмді теңіз жемдерімен ауыстырылған кезде азықты қабылдау азаяды және бірнеше өсірілген түрлердің өнімділік реакциялары сәйкесінше төмендейді [29]. Ғалымдар балықтардың қоректену тәртібін ынталандыратын негізінен теңізден алынған ингредиенттерде болатын белсенді қосылыстарды іздестірді [30-31]. Сондықтан жемшөп күшейткіштерін немесе аттрактанттарды қосу жемді сіңіруге және сайып келгенде аквамәдениет түрлерінің өсуіне ықпал ету үшін міндетті болды. Дәмі мен тартымдылығын жақсартуға бағытталған әртүрлі жемшөптердің тиімділігі зерттелді, бірақ олардың аз бөлігі ғана құрама жем формулаларында танымал болды.

Табиғи олжа балықтың дәмдік рецепторларын жоғары ынталандыратын бос аминқышқылдарының едәуір мөлшерінен тұрады [32]. Мысалы, L–амин қышқылдарының қоспалары кемпірқосақ форелы [33], плаис [34] және қарапайым тұқы [35] үшін тиімді қоректену күшейткіштері болып табылады. Жақсы зерттелген аминқышқылды қоспалардың бірі, L–карнитин – мультифизиологиялық, биоактивті және ластанбайтын қоспа, балық пен шаянтәріздерінің өсуін жақсартатын және жемді жақсырақ түрлендіру арқылы күшті тартушы ретінде әрекет етеді [36] немесе жемді тұтынудың жоғарылауы. Сонымен қатар, липидті катаболизм кезінде L–карнитин орташа және ұзын тізбекті май қышқылдарын цитозолдан митохондрияға энергия өндіру үшін тасымалдау үшін қажет [37]. Оның энергия алмасуындағы шешуші рөлін ескере отырып, азықтық L–карнитиннің өсуді күшейтетін әсері көптеген балық түрлерінде сыналған[38]. Белуга бекіре шабақтарының (*Huso huso*) өсу көрсеткіштері мен жемді кәдеге жаратуын зерттеді. Олардың нәтижелеріне сүйене отырып, бекіре тұқымдас балықтарды 300 мг Л–карнитин/кг азықпен тамақтандыру өсу көрсеткіштерін жақсартып, липидтердің ақуызды үнемдейтін әсерін ынталандыруы мүмкін. Сол сияқты, бірнеше зерттеулер 150–500 мг L – карнитин/кг азық өсу көрсеткіштерінің жақсаруына әкелуі мүмкін екенін көрсетті [30]. Кейбір бос аминқышқылдары ғана кейбір балық түрлерінде ынталандырушы әсер етеді және көптеген зерттеулер басқа балықтарда бұл аминқышқылдарының тежегіш әсерін көрсетті деген қорытындыға келді. Балықтардың әртүрлі күшейткіштерге жауап беруінде үлкен тұраралық айырмашылықтар бар. Ладогон балығы глицинге сезімтал болды [40], бірақ кемпірқосақ форелы оған оң жауап бермеді [41]. Тилапия Зили балығы қышқыл

аминқышқылдары мен лимон қышқылдына сезімтал болды, бірақ сілтілі және бейтарап амин қышқылдарына сезімтал болды [42]. Кейбір химиялық заттар кейбір балықтарды күшейткіштермен қоректендіреді, ал басқаларына кедергі жасайды. Мысалы, L–пролин және L–аланин қоңыр форель шабақтары үшін ынталандырушы болды [43], бірақ кемпірқосақ форельіне тосқауыл болды [41]. Гибель тұқымы (*Carassius auratus*) үшін ет және сүйек ұнының азықтағы бірнеше азықтандыру күшейткіштерін сынап көрді және барлық жем өнімдері, соның ішінде бетаин және кальмар сығындысы, тамақтануды ынталандыруға оң әсер етті [44]. Бетаин – глицині бар үш метил тобынан тұратын аминқышқылдының ерекше түрі және теңіз жануарлары мен бидай, шпинат және қант қызылшасы сияқты өсімдіктерде кездеседі [45]. Бұл зат көптеген балық түрлерінің дәмдік жүйесіне әсер етуі мүмкін. Тилапияда нөл пайыздық балық ұнының азықты қолданылған кезде бетаин өсу өнімділігін жақсартты, жемнің конверсиялық коэффициентін төмендетті, ішек бүршіктерінің ұзындығын және жасушаларының санын көбейтті, қан параметрлерін жақсартты (мысалы, қызыл қан жасушалары, ақ қан жасушалары, жалпы протеин және глобулин) және инсулин тәрізді өсу факторы–1 генінің экспрессиясын жоғарылатты [46]. Бұл нәтижелер алдыңғы зерттеулерге ұқсас болды, бетаинді толықтыру жемді тұтынуды ынталандырады (*Epinephelus fuscoguttatus*) және қытай жұмсақ қабығы бар тасбақада т.б. өсу көрсеткіштерін жақсартады [47-48].

Керісінше, гибридті жолақты бас [49], еуропалық бас [50], африкалық сом [51], немесе тилапия [52] есептердегі бұл сәйкессіздіктер азықтың құрамынан басқа, L–карнитинді тағамдық қоспалардың өсуді ынталандыратын әсеріне түрлердің айырмашылықтары, даму кезеңдері және ұстау шарттары сияқты басқа факторлар әсер еткенін көрсетеді. Тек белгілі бір бос аминқышқылдары кейбір балық түрлеріне ынталандырушы әсер етеді деген қорытындыға келді және көптеген зерттеулер бұл аминқышқылдарының басқа балықтарға тежегіш әсерін көрсетті. Балықтардың әртүрлі күшейткіштерге реакцияларында үлкен тұраралық айырмашылықтар бар. Тікенді балық (*Lagodon rhomboids*) глицинге сезімтал болды [53], бірақ кемпірқосақ форель оған оң жауап бермеді [41]. *Tilapia zillii* қышқыл аминқышқылдары мен лимон қышқылдына сезімтал болды, бірақ сілтілі және бейтарап аминқышқылдарына сезімтал болмады [54]. Кейбір химиялық заттар кейбір балықтар үшін күшейткіштер болып табылады, бірақ басқаларын тежейді. Мысалы, L–пролин мен L–аланин қоңыр форельді қуыру үшін күшейткіштер болды [55], бірақ кемпірқосақ форельін тежейді [41]. Өлім сазанына (*Carassius auratus*) арналған ет және сүйек ұнынан жасалған азықта бірнеше азықтандыру күшейткіштерін сынап көрді және барлық жемдер, соның ішінде бетаин, гли, Л–Лис, Л–мет, Л–Фе және кальмар сығындысы тамақтануға оң ынталандырушы әсер ететінін анықтады [56]. Бетаин–глицині бар үш метил тобынан тұратын аминқышқылдының ерекше түрі және теңіз жануарлары мен бидай, шпинат және қант қызылшасы сияқты өсімдіктерде кездеседі [45]. Бұл зат көптеген балық түрлерінің дәмдік жүйесіне әсер етуі мүмкін. Тилапияда балық ұнының нөлдік азықтын қолданған кезде бетаин өсу қарқынын жақсартты, жемшөптің конверсия жылдамдығын (FCR) төмендетті, ішек виллаларының ұзындығы мен бокал жасушаларының санын көбейтті, қан көрсеткіштерін

жақсартты (мысалы, қызыл қан жасушалары, лейкоциттер, жалпы ақуыз және глобулин) және инсулинге ұқсас өсу факторы генінің экспрессиясын арттырды [46]. Бұл нәтижелер бетаинді қосу жемді тұтынуды ынталандыратынын және *Epinephelus fuscoguttatus* шабақтарының және Қытай жұмсақ қанатты тасбақасының [48,49].

Нуклеотидтер – жануарлар ағзасында генетикалық ақпаратты кодтау және дешифрлау, жасуша сигналын беру және энергия алмасуы сияқты маңызды физиологиялық функцияларды атқаратын жемді ынталандыратын қоспалардың тағы бір белгілі тобы. Нуклеотидтер коферменттердің, жасушалық агонистердің және аллостериялық эффекторлардың компоненттері ретінде де белгілі [57-58]. Азықтандыру күшейткіштері ретінде қолданылатын ең тиімді нуклеотидтерге инозин, инозин–5'–монофосфат, 1–метилинозин және инозил–(3'–5')–инозин жатады. Бұл азық қоспалары бірнеше балық түрлерінде дәмді күшейткіш ретінде қолданылған. IMP (5'–инозин монофосфаты) және GMP (5'–гуано–син монофосфат) турбатта салмақтың өсуін, күнделікті жем қабылдауды, ішек протеазасының белсенділігін және жемнің сіңімділігін арттыратынын көрсетті [59]. Ашытқы сығындысын нуклеотидтер (4 г/кг азық) кәмелетке толмаған зәйтүн камбаласына *(Paralichthys olivaceus)* аз балық ұнынан тұратын азықта функционалды жемдік қоспа ретінде пайдаланды [60]. Бұл авторлар нуклеотидтердің өсуге, жемнің тиімділігіне, иммундық жауаптарға, ішек гистологиясына, ішек трипсинінің белсенділігіне, жылу соққысы ақуызының 70 генінің (Hsp70) экспрессиясына және патогендік бактериялармен сынақтан кейін жинақталған өмір сүру жылдамдығына пайдалы әсерлерін хабарлады. Азықтандыру күшейткіштері мен дәмдік жақсартқыштар түрлерге тән және қоспалар жемді тұтынуды арттыруда жалғыз қосылыстарға қарағанда тиімдірек болады [61]. Инозин, инозин 50–монофосфат, бетаин және диметилтетин турбат *Scophthalmus maximus* және *Solea solea* балықтары [62] үшін арнайы қоректену күшейткіштері екендігі көрсетілген. Дегенмен, жалпы алғанда, нуклеотидтер мен олардың туындыларын балықтардың өсуіне және иммундық реакцияларына оң әсер ететін дәмдік қасиеттерін жақсартатын тиімді құралдар ретінде қарастыруға болады.

Жемдік аттрактанттар бос аминқышқылдарымен, бетаинмен және нуклеотидтермен шектелмейді; шын мәнінде, дәмді жақсарту әсерлері үшін әртүрлі шығу тегі бар бірнеше қосылыстар енгізілген. Биогенді амин, кадаверин тұщы су асшаяндарының (*Macrobrachium rosenbergii*) рационында сыналған және қабылдау, бағдарлау, қозғалыс, келу және жұту сияқты әрекеттердің жауап беру уақытына оң әсер ететіні көрсетілген. Сондай–ақ, сол зерттеуде кадаверин нақты торлы фермада сыналған және жемді тұтынудың жоғарылауына әкелді [63]. Жемдік қоспалар ретінде пайдаланылатын қант пен балық түрлеріне байланысты ынталандырушы немесе тежегіш болуы мүмкін. Мысалы, сахароза, у–глюкоза, 13–фруктоза және 13–рибоза кемпірқосақ форельінде дәмді болуы мүмкін, бірақ теңіз балығында глюкоза мен мальтоза тиімді болмады. Басқа зерттеуде кальмар сығындысы Атлант албыртының қоректенуін және өсуін жақсартады [64]. Бұл зерттеуде кальмар сығындысы теңіз суына тасымалдау кезеңінде атлантикалық албырт балықтарын қоректендіретін күшейткіш ретінде

әрекет етіп, бұл балыққа тәбетінің тезірек оралуына көмектесті. Дегенмен, осы уақытқа дейін балыққа арналған жем күшейткіштерімен жүргізілген зерттеулердің көпшілігі өсу сынақтарында ұзақ мерзімді зерттеулердің маңыздылығын елемей, қысқа мерзімді жем қабылдау деректеріне назар аударды. Ұзақ мерзімді зерттеулер жемшөпті стимуляциялаушы қоспаның практикалық өсіру операциясындағы әсерін жақсырақ сипаттай алады.

Антиоксиданттар. Молекулалық оттегі барлық аэробты организмдерде, соның ішінде балықтарда энергия өндірудің маңызды элементі болып табылады. Дегенмен, бұл маңызды қосылыс күшті тотықтырғыш болып табылады және қолайсыз температура, тұздылық және т.б. сияқты стресстік орта жағдайларының нәтижесінде тотығу стрессін тудыруы мүмкін. Тотығу стрессі негізінен реактивті оттегі түрлері (ROS) мен оттегі мөлшері арасындағы теңгерімсіздікке байланысты туындайды. ағзадағы антиоксиданттар. ROS табиғи түрде организмде метаболизм нәтижесінде пайда болады, бірақ олар денеде жиналса, липидтердің, ақуыздардың, нуклеотидтердің және мембраналардың тотығу зақымдалуына әкеледі [65–66]. Әртүрлі биомаркерлерді өлшеу ғалымдарға балықтардағы тотығу стрессінің деңгейін зерттеуге көмектесті. Бұл биомаркерлерге тиобарбитур қышқылдының реактивті заттары (TBARS), супероксид дисмутаза (SOD), глутатион пероксидаза (GPx), глутатион (GSH), каталаза (CAT) және глутатион S–трансфераза (GST) белсенділіктері кіреді, бірақ олармен шектелмейді. Көптеген авторлар дәрумендердің (мысалы, С және Е дәрумендерінің), минералдардың (мысалы, мырыш және селен) және каротиноидтар, балдырлар ұнтағы, ашытқы сығындылары және өсімдік сығындылары сияқты жемдік қоспалардың осы параметрлерге және антиоксиданттық реакцияларға оң әсерін хабарлады [67-69]. инкапсулирленген натрий бутират (ESB), гамма–аминобутир қышқылды, селен–ашытқы, ашытқы сығындысы нуклеотидтері, юкка ұны, ән тобының биотасы және протеаза ферментін қоса алғанда, жеті түрлі азық қоспаларының әсерін зерттеді. зәйтүн камбаласының SOD белсенділігі. Олардың нәтижелері барлық дерлік азықтық қоспалар — азық топтары үшін жоғары супероксид дитутаз (SOD) белсенділігін көрсетті; тек ашытқы сығындысы нуклеотидтер бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай айырмашылықтарға әкелді. SOD супероксид анионының қалыпты оттегі молекуласы мен сутегі асқын тотығына дисмутациялануын катализдеуге жауапты маңызды фермент [70]. Басқа зерттеулер де нуклеотидтердің антиоксиданттық механизмдерге оң әсерін хабарлады. Азықтық нуклеотидтер NF–E2 байланысты фактор 2 (AV2) және рапамицин (TOR) сигналының мақсатымен реттелетін антиоксиданттық қабілетті арттыру арқылы тотығуды тежей алатынын хабарлады. Эллаг қышқылды – жемістер мен жидектерден алынатын табиғи антиоксидантты жем қоспасы және полифенолды қосылыс. Кемпірқосақ албыртының рационына 100 мг/кг эллаг қышқылдын қосу антиоксиданттық қабілетін арттырды, нәтижесінде иммундық жауаптар мен ауруларға төзімділік жақсарды [71]. Сондай–ақ, астаксантин екі асимметриялық көміртегі бар каротиноид болып табылады және жоғары антиоксиданттық белсенділікке байланысты супер Е дәрумені ретінде белгілі. Бұл азық қоспасы негізінен табиғи пигментті агент ретінде белгілі және

микробалдырлар мен ашытқылардан жасалуы мүмкін және балықты қоса алғанда, бірнеше организмдерде антиоксиданттық қорғанысты күшейтетіні көрсетілген [72].

Полиқанықпаған май қышқылдарының жоғары деңгейі бар теңіз ингредиенттері балық жемдерінің негізгі құрамдас бөлігі болып табылады және липидтердің тотығуына бейім. Балық жеміндегі осы теңіз ингредиенттерінің тотығуы ықтимал улы болып табылатын қайталама қосылыстардың пайда болуына байланысты жағымсыз иіспен және/немесе дәммен қоректік сапаның нашарлауына әкеледі [73]. Бұл липидтердің тотығу өнімдеріне альдегидтер мен кетондар, сондай–ақ бос радикалдар кіреді, содан кейін азықтағы антиоксиданттық қоректік заттарға (мысалы, каротиноидтар, С және Е дәрумендері) сұраныс артады. Азықта тотыққан липидті өнімдердің болуы балыққа тікелей әсер етуі және/немесе антиоксиданттық дәрумендердің тиімділігін күшейтуі мүмкін, нәтижесінде бауыр дегенерациясы, көкбауырдың бұзылуы және анемия сияқты патологиялық жағдайлар туындауы мүмкін [74]. Сонымен қатар, липидтердің аутоксидтенуі мұздатылған теңіз өнімдерінің сапасы мен жарамдылық мерзіміне тікелей әсер етеді. Әртүрлі өнімдерді сақтау сапасын жақсартуға өңдеуге дейін, өңдеу кезінде немесе өңдеуден кейін енгізілуі мүмкін процедуралар арқылы қол жеткізуге болады. Өңдеу алдында өнімнің тұрақтылығын жақсартудың бір жолы азықтық манипуляция болып табылады. Өнім тұрақтылығының жоғарылауына құс еті [75-77], кемпірқосақ форель [78] және қызыл түсті қоса алғанда, әртүрлі түрлермен қол жеткізілді. теңіз балдыры [79], жоғары тағамдық қоспалар арқылы табиғи антиоксидант Е дәруменінің тіндік концентрациясын арттыру арқылы [80]. Сондықтан жемді сақтау және оның соңғы балық өнімінің сапасына әсерін болдырмау үшін азықтық антиоксиданттармен толықтыру қажет. Тотығудан дұрыс қорғауды қамтамасыз ету үшін әдетте майларға немесе толық азықтарға этоксикин, бутилденген гидроксиланизол (BHA), бутилденген гидрокситолун (BHT) және пропил галлат (PG) сияқты әртүрлі синтетикалық антиоксиданттар қосылады. Е дәрумені (токоферолдар), С дәрумені және селен (Se) сияқты микроэлементтер де липидтердің тотығуына қарсы күшті антиоксиданттық белсенділікке ие екендігі хабарланды. Сонымен қатар, токоферолдар сияқты табиғи антиоксиданттардың өндірістік шығындарының жоғарылауы және тиімділігінің төмендеуі тұтынушылардың тағамдық қоспалардың қауіпсіздігіне қатысты санасының артуымен бірге тағамдық антиоксиданттардың балама табиғи (және, мүмкін қауіпсіз) көздерін анықтау қажеттілігін тудырды. [81–83]. Синтетикалық антиоксиданттарды табиғи антиоксиданттармен алмастыру тамақ жүйелеріндегі майда да, суда да (эмульсиялар үшін қызықты) ерігіштік сияқты денсаулыққа және функционалдылыққа қатысты артықшылықтарға ие болуы мүмкін. Әртүрлі шөптердің (көкөністер/жемістер) күшті антиоксиданттық белсенділігі бар екені хабарланды, бұл аквакультудағы синтетикалық антиоксиданттарға перспективалы және үнемді балама болуы мүмкін. Табиғи өнімдерден алынған қауіпсіз азықтық антиоксиданттардың тиімділігін және олардың жемдерде практикалық қолданылуын бағалау үшін қосымша зерттеулер қажет.

Бояу/пигментациялау құралдары. Өсірілген жануарлардың түсі мен сыртқы түрі тұтынушылардың қабылдауына және нарықтық бағасына әсер ететін маңызды критерий болып табылады. Өсірілген балық немесе асшаянның ет түсі мен сыртқы түрі жабайы немесе ауланған балықтарға ұқсас болуы керек. Каротиноидтар су жануарларының түсіне жауап беретін ең маңызды заттар болып табылады. Балықтар мен асшаяндар етінің, терісінің және жұмыртқасының пигментациясын жасау үшін оттегі бар каротиноидтарды (ксантофилдер) пайдаланады [84]. Балықтарда каротиноидтарды синтездеу қабілеті жоқ; сондықтан тұтынушы қалаған балық түсін беру үшін каротиноидтар азық арқылы қамтамасыз етілуі керек. Балықта жиі кездесетін каротиноидтарға тунаксантин (сары), лютеин (жасыл–сары), бета–каротин (қызғылт сары), альфа/бета–дорадексантиндер (сары), зеаксантин (сары–қызғылт сары), кантаксантин (қызғылт сары–қызыл), астаксантин жатады. (қызыл), эхиненон (қызыл) және тараксантин (сары) [85]. Каротиноидтардың маңызды рөл атқаратыны, А дәруменінің прекурсорлары ретінде қызмет ететіні, антиоксиданттық және синглетті оттегін сөндіретін қабілеттері бар, балық түрлері арасындағы мінез–құлық байланысына көмектесетіні (мысалы, еркектер мен әйелдердің жұп таңдауы үшін бәсекелестік) және жалпы алғанда күшейтетіні туралы хабарланған. Әртүрлі балықтар мен шаян тәрізділердің өсуі [86,87], көбеюі және иммундық реакциясы. Аналық қоралардың азықтарына каротиноидтарды қосу пісіп–жетілу кезеңінің қысқаруына, жұмыртқа санының артуына, жұмыртқалардың инкубациялық қабілетінің жоғарылауына және шаянтәрізділерде дернәсілдердің өмір сүруінің артуына әкелді [88,89].

Әртүрлі каротиноидтардың ішінде астаксантин албырты және шаян тәрізділерде пигментация үшін ең маңызды және ең тиімді болып табылады. Алайда, албырт тұқымдасында екі оксикаротеноид – астаксантин (3,30–дигидрокси–4–40–дикето–В–каротин) және кантаксантин (4–40–дикето–б–каротин) – қызыл оксидтерге жауапты екені хабарланды. еттің, терінің және желбезектердің сарғыш түсі. Теңіз ортасында астаксантин қоректік тізбекте, микробалдырларда немесе фитопланктондарда бастапқы өндіріс деңгейінде биосинтезденеді. Микробалдырларды зоопланктондар, жәндіктер немесе шаян тәрізділер жейді, олар астаксантинді жинақтайды және өз кезегінде жұтылады [90]. Дегенмен, бұл көздерде астаксантиннің өте төмен концентрациясы бар екендігі хабарланған, майдағы 0,15%–дан ашытқы *Phaffia sp.* 0,40%–ға дейін. [91]. Астаксантиннің коммерциялық өндірісі табиғи және синтетикалық көздерден келеді. Нарықтағы астаксантин өнімдерінің көпшілігі синтетикалық жолмен өндірілген көздерден алынған. Дегенмен, кейбір брендтер астаксантинді жоғары мөлшерде шығаратын микробалдырларды жинайды. Астаксантиннің табиғи түрінің негізгі артықшылықтарының бірі оның тұрақтылығы болып табылады. Эфирленген түрдегі табиғи астаксантин бос түрдегі синтетикаға ұқсамайды [92]. Табиғи астаксантиннің тұрақты эфирденген түрлерінің сақтау мерзімі ұзағырақ және тотығудың алдын алу қабілеті бар. Табиғи астаксантинді микробалдырлардан (*Haematococcus pluvialis)* немесе ашытқыдан [93] алу арқылы да өндіруге болады. Акваөсіру жағдайында синтетикалық астаксантин негізінен тұтынушылар қалаған ет түсін беру үшін қолданылады. Синтетикалық

кантаксантин албырт өнімдерін пигментациялау үшін де қолданылған [94,95]. *Phaffia rhodozyma* қызыл ашытқысы астаксантиннің табиғи көзі болып табылады [96], сондай–ақ гематококк балдырлары [97], оны етге қажетті түс беру үшін балық рационына қосуға болады. Белгілі бір түрге арналған пигменттің ұсынылатын оңтайлы азықтық деңгейі азықтың нақты құрамына және тәжірибелік жағдайға байланысты. Тұтастай алғанда, Атлант албыртының қалаған пигментациясы үшін астаксантиннің оңтайлы деңгейі 50–60 мг/кг азық болып табылады [98]. Шаянтәрізділер дернәсілдері үшін 230 мг/100 г азықтың пигментация беретіні хабарланды, бұл тірі *Anemia nauplii* азықғына ұқсас [99].

Сонымен қатар, азықлық каротиноидтар сәндік балықтардың терісінің түсін және нарықтық құнын жақсартады. Дегенмен, алтын балықтың лютеинді метаболизмге қабілеттілігі жоқ және В–каротинді астаксантинге айналдыру мүмкіндігі шектеулі [100]. Кантаксантин немесе астаксантин балық үшін дәрумен ретінде қарастырылуы керек және жануардың әл–ауқатын қамтамасыз ету үшін барлық балық азықларында кантаксантин немесе астаксантин мөлшері 10 мг/кг–нан жоғары құрғақ жем болуы керек. Сонымен қатар, азықтық липидтердің пигментацияға терең әсер ететіні туралы хабарланған. Табиғи, сондай–ақ синтетикалық астаксантиннің көпшілігін албырт балығын өсіру өнеркәсібі тұтынатын шығар. Синтетикалық каротиноидтар қымбат, албырт аквакультурасының жалпы жем құнының 15–20 %–ын немесе Атлант албыртының жалпы өндіріс құнының 6–8%–ын құрайды [101].

Микробқа қарсы заттар. Микробқа қарсы қосылыстар мәдени жануарларда микробтардың өсуін бақылау, алдын алу немесе баяулату үшін жемде, сондай–ақ жемнің өзінде қолданылады. Құрама жемнің ингредиенттері тығыз қоректік болғандықтан, дұрыс сақталмаған жағдайда микроорганизмдердің бірнеше түрлерінің көбеюі үшін тамаша субстраттар болып табылады. Бұл микроорганизмдер, соның ішінде ашытқылар, бактериялар және саңырауқұлақтар, тағамның ылғалдылығы 12% немесе одан жоғары болған кезде бөлме температурасында (22–25°C) тез өсе алады. Сондықтан ингредиенттерді және дайындалған жемдерді дұрыс сақтау және микробқа қарсы агенттерді қосу, әсіресе дымқыл және жартылай ылғалды балық жемдері үшін өте маңызды. Антибиотиктерді, саңырауқұлақтарға қарсы және паразиттерге қарсы агенттерді қоса алғанда, микробқа қарсы агенттердің кең ауқымы акваөсіруде дәрілік азықтық құрамдар үшін қолданылған. Дәрілік жемдер акваөсіруде ауруды бақылау немесе алдын алу үшін инъекциялық және ванналық емдеумен салыстырғанда тиімдірек және қауіпсіз әдістер ретінде қабылданды. Микробқа қарсы агенттер мен дәрілік жемге деген қызығушылық акваөсіру қарқынды дамып келе жатқан жағдайда айтарлықтай өсті. Окситетрациклин, амоксициллин, оксолин қышқылы, сульфадиметоксин және флорофеникол сияқты коммерциялық антибиотиктер жемде және балықта микроорганизмдердің кеңеюіне жол бермеу және өсірілген организмдердің тез өсуіне мүмкіндік беру үшін жемде қолданылған [102]. Дегенмен, антибиотиктерді шамадан тыс қолдану антибиотиктерге төзімді микроорганизмдердің өсуіне әкелуі мүмкін, бұл су ағзалары мен адамның денсаулығына қатысты мәселелерге әкелуі мүмкін. Рецептсіз антибиотиктерге

бірнеше елдерде тыйым салынған, ал олар әлі де көптеген басқа дамушы елдерде рецептсіз қолданылуда.

Антибиотиксіз ортада балықты өсіру өте маңызды, өйткені көптеген елдерде антибиотиктермен және химиялық заттармен өңделген теңіз өнімдерін әкелуге тыйым салынған. Тиісінше, қауіпсіз және табиғи азықлық қоспаларды табу үшін ауқымды зерттеулер жүргізілді. Иммунокүшейткіштер келесі қосалқы тарауда талқыланады; мұнда тек табиғи микробқа қарсы жемдік қоспалар талқыланады. Құрамында фенолдық қосылыстары бар өсімдіктерден алынған табиғи препараттар микробқа қарсы белсенділік көрсетеді [103,104]. Көптеген эфир майлары мен өсімдіктердің сығындылары әртүрлі тағамдық микроорганизмдерге қарсы микробқа қарсы қасиеттері үшін сыналған [105]. Теңіз губкалары кеңінен зерттелген және бактерияға қарсы, зеңге қарсы, вирусқа қарсы, ісікке қарсы, цитотоксикалық, қабынуға қарсы және т.б. сипаттамаларға ие метаболиттерді өндіруде жоғары табысты екендігі көрсетілген. Сонымен қатар, жөке сығындыларының бактерияға қарсы белсенділігі балық қоздырғыштарына қарсы зерттелген [106,107]. Теңіз балдырларының сығындылары жемде профилактикалық немесе емдік агенттер ретінде ұсынылған. Теңіз балдырларының әртүрлі топтары, әсіресе қызыл (*Asparagopsis spp.*) және қоңыр теңіз балдырларының (*Sargassum spp.*) микробқа қарсы агенттері ретінде маңызды потенциалды көрсетеді. Бұл теңіз балдырларының органикалық еріткіштері бар сығындылары және жемге қосылуы жем және өсірілген жануарларда бактериялар мен саңырауқұлақтардың өсуін болдырмаудың тиімді әдісі болып табылады [108]. Дегенмен, бұл табиғи микробқа қарсы қосылыстардың балық жеміндегі тиімділігі, әсіресе коммерциялық деңгейде, зерттеу үшін маңызды ашық аймақ болып қала береді. Біздің білуімізше, бұл тұрғыда балық диетологтары мен өсімдік сарапшылары арасында кешенді көзқарас жоқ; коммерциялық жемдерде осы табиғи қосылыстардың тиімділігін бағалау үшін болашақ зерттеулерге кепілдік беріледі.

Ингредиенттер мен дайындалған жемдердің үлкен бұзылуы және үлкен зақымдануы саңырауқұлақтардан туындайтыны хабарланды. Микотоксиндер – саңырауқұлақтар шығаратын, тағамдық профильдерді өзгертетін және жағымсыз дәм мен иіс тудыратын өте уытты және канцерогенді метаболиттер. Заманауи жем құрамдары төменгі теңіз ингредиенттерінен тұрады және негізінен өсімдік ингредиенттеріне негізделген. Бұл өсімдік ингредиенттерінің саңырауқұлақтардың өсуіне жоғары сезімталдығына байланысты жемдік микотоксиндердің пайда болу мүмкіндігін арттыруы мүмкін. Микотоксинмен ластанған жем өсірілетін ағзалардың өсуі мен денсаулық жағдайын төмендетеді, бұл фермаларда ауыр экономикалық шығындарға әкеледі [109]. Афлатоксин – форель өсіретін зауыттарда афлатоксикоз індетін тудыратыны хабарланған ең көне микотоксиндердің бірі [110]. Афлатоксиндер негізінен *Aspergillus nomius, A. parasitcus* және *A. flavus* саңырауқұлақ түрлерінен түзілетін әртүрлі улы қосылыстардан тұрады. Циклопиазон қышқылды – бұл саңырауқұлақтар тобы шығаратын тағы бір микотоксин, иммундық жүйенің бұзылуына әкеліп соғады, бұл салмақ жоғалтуға және нашар FCR–ге әкелуі мүмкін [111]. Азықтар мен

өсірілетін жануарлардың микотоксинмен ластануын болдырмаудың бірнеше стратегиялары бар. Бұл стратегиялар ішінара жем ингредиенттерін таңдауға, жемді өндіруге және ингредиенттерді де, соңғы жемді де сақтауға қатысты. Азық қоспаларын қолдану микотоксинмен ластануды болдырмаудың тағы бір кең таралған әдісі болып табылады. Микотоксинді байланыстырғыштар – микотоксинді сіңіруді азайту мақсатында азыққа енгізілген жемдік қоспалардың жиі қолданылатын тобы. Гидратацияланған натрий кальций алюминосиликаттары (HSCAS) афлатоксинді сіңіретін балшық және осы токсиндерді байланыстыратын және ішектің сіңуін тежейтін жемдік қоспа болып табылады [112]. Цеолиттер, алюминий тотығы, силикаттар және филлосиликаттар сияқты абсорбенттердің басқа топтары афлатоксиндерді байланыстырудағы тиімділігі үшін салыстырылды, бірақ HSCAS ең тиімді деп табылды [113]. Цеолит, микрокеуекті кристалды гидратталған алюмосиликаттар акваөсіруде микотоксинді байланыстыратын жем қоспасы ретінде жиі қолданылады. Бұл алюминосиликат тор тәрізді құрылымға және теріс зарядқа байланысты афлатоксин B1, ауыр металдар мен дихлорбензолды адсорбциялай алады және ұстай алады [114]. Бентонит – микотоксиндердің улы әсерін сіңіріп, жеңілдететін тамаша ион алмастырғыш қасиеттері бар вулкандық күлден алынған тағы бір микотоксин байланыстырушы және табиғи минерал. *Nile tilapia* рационында 5 немесе 10 г/кг бентонит ұнтағы қоспасын енгізу Bt афлатоксинінен қорғауға әкелді [115]. Бұл байланыстырғыштардың тиімділігі олардың әсер ету механизміне (мысалы, химиялық немесе физикалық), бағытталған микотоксиннің түріне (мысалы, HSCAS көбінесе афлатоксинмен тиімді) және байланыстырғыштың ішектің әртүрлі pH деңгейлеріне төзімділігіне байланысты. . Бұл кластағы жем қоспаларын әртүрлі параметрлерге байланысты жемге 1–10 г/кг қосуға болады [116]. Микотоксинді байланыстыратын азықтық қоспалардың тиімділігі, қосылу деңгейі және әсер ету механизмдері туралы көбірек зерттеулер қажет.

Органикалық қышқылдар. Органикалық қышқылдар қысқа тізбекті май қышқылдары (C1—C7), ұшпа май қышқылдары немесе жалпы құрылымы R—COOH болатын құмырсқа, лимон, бензой және сүт қышқылдары сияқты әлсіз карбон қышқылдары. Органикалық қышқылдардың қышқылдығы, сондай–ақ қышқылдандырғыштар ретінде белгілі, карбоксил тобымен байланысты және R бір валентті ойдан шығарылған топ болып табылады. Кейбір органикалық қышқылдарды жануарлардың ішектерінде көмірсулардың ашытуы арқылы әртүрлі бактериялар түзе алады; басқалары, әсіресе қысқа тізбектілері, табиғи түрде өсімдік немесе жануарлар ұлпаларында болады. Бұл қышқылдандырғыштар әдетте жемді сақтау, асқазан–ішек жолдарын жақсарту, иммундық жауап беру, жемді пайдалану өнімділігі және өсуді ынталандыру сияқты мақсаттарда мал азықларында функционалды жемдік қоспалар ретінде қолданылады [117]. Мал азығында қолданылатын органикалық қышқылдар синтетикалық жолмен өндіріледі және кальциймен, натриймен немесе калиймен біріктіріліп, бір немесе қос тұздарға айналуы мүмкін. Бұл әлсіз қышқыл заттар [118] бойынша GRAS (жалпы қауіпсіз деп саналады) санатына жатады. Коммерциялық қол жетімді органикалық қышқылдар әртүрлі формада және

молекулалық салмақта келеді, сондықтан оларды азыққа қосудың әртүрлі стратегиялары бар. Құмырсқа, сірке, сүт, пропион және бутирик сияқты сұйық органикалық қышқылдарды жемге шашуға болады. Сорбин, лимон, фумар және алма сияқты қатты органикалық қышқылдарды тікелей немесе арнайы қоспалармен қосуға болады [119].

Органикалық қышқылдар микробқа қарсы қасиеттеріне, сондай–ақ өсуді, қоректік заттарды пайдалануды және ауруға төзімділікті арттыру қабілетіне байланысты жердегі мал азықтарында азық–түлік консерванттары ретінде кеңінен қолданылады [120-122]. Сорбин, бензой, пропион және сірке қышқылды сияқты органикалық қышқылдарды немесе олардың калий сорбаты, кальций пропионаты және натрий бензоаты сияқты тұздарын жеке немесе аралас пайдалану жемде саңырауқұлақ ингибиторлары ретінде әдетте қолданылады. Балықтың ас қорыту ферменттерінің белсенділігін органикалық қышқылдар асқазан мен ішектің pH деңгейін төмендету арқылы жақсартуға болады. Су жануарларының ішек жолдарында органикалық қышқылдар жасуша қабырғасы арқылы еніп, цитоплазмадағы протондарды бөліп шығару арқылы бактериялардың (әсіресе грамтеріс бактериялардың) өсуін тежейді. Осылайша, бактериялар жасушаішілік pH тепе–теңдігін сақтау үшін протондарды шығару үшін көп мөлшерде АТФ тұтынады, осылайша жасушалық энергия таусылады және кейіннен өлімге әкеледі [123]. Органикалық қышқылдар мен олардың тұздары қоректік жолдарға да үлес қоса алады; олар лимон қышқылдының циклінде немесе карбон қышқылдының циклінде ATP генерациясы сияқты энергия генерациясының бірнеше метаболикалық жолдарының құрамдас бөліктері болып табылады [124]. Органикалық қышқылдардың энергиялық мөлшері зат алмасуда толығымен жұмсалатындықтан, оны азық коэффициенттері үшін энергия есептеулерінде ескеру керек. Мысалы, пропион қышқылдының құрамында 4968 ккал/кг бар, бұл бидай беретін энергиядан бес есе көп [125].

Балық пен шаяндағы органикалық қышқылдардың әсері мен әсер ету механизмін бағалау үшін көптеген зерттеулер жүргізілді (2–кесте). Жемдегі ең көп зерттелген органикалық қышқылдардың бірі – лимон қышқылды және оның тұздары, олар өсу өнімділігіне, жемді пайдалануға, өнімділікке және минералдылыққа (әсіресе фосфор) оң әсер етеді. Кәмелетке толмаған қызыл барабандағы (*Sciaenops ocellatus*) 15 г/кг азықлық лимон қышқылдының әсерін 8 апталық азықтандыру сынамасында зерттеді және нәтижелер лимон қышқылдының пепсин сияқты ас қорыту ферменттерінің белсенділігімен бірге балықтың өсуін арттыратынын көрсетті [126]. трипсин, липаза, лейцин–аминопептидаза және фосфатазалар. Бұл авторлар сондай–ақ азыққа органикалық қышқылдар енгізілген кезде аз жем және ас қорыту жолдарының pH төмен екенін хабарлады. Қызыл теңіз балғасына (Pagrus major) басқа зерттеуде 10 г/кг лимон қышқылды салмақтың өсуін, FCR мен фосфордың сақталуын жақсартты, сонымен бірге фосфордың бөлінуін айтарлықтай төмендетеді [127]. Бұл авторлар органикалық қышқылдардың аралық метаболизм заттары болып табылатынын және ақуызды, энергияны немесе минералды сіңіруді жақсартуға ықпал ететінін көрсетті. Лимон қышқылды

бейорганикалық фосфордың теріс әсерін азайтады, сондықтан экологиялық таза азықларды дамытуға көмектесе алады. Төмен балық ұнынан тұратын азықда 10 г/кг лимон қышқылдымен қоректенген форель *(Oncorhynchus mykiss)* өсу мен фосфорды сіңіру қабілетінің жақсарғанын көрсетті [128]. Төмен балық ұны бар азықларда лимон қышқылдын қосу фосфордың сақталуын жоғарылатуы мүмкін және қосымша фосфор қоспасы қажет болмауы мүмкін деген болжам айтылды. Бұл лимон қышқылдының рациондағы шамадан тыс фосфордан туындаған қоршаған ортаның ластануының және соңында қалдықтардың әсерін азайтудағы маңыздылығын көрсетеді. Лимон қышқылдының оң әсері ақ аяқ асшаяндары (*Litopenaeus vannamei*) сияқты шаян тәрізділерде де 45 күндік азықтандыру сынағы кезінде әртүрлі азықлық деңгейлерді (0, 1, 2, 3, 4 және 5 г/кг) салыстыру арқылы көрсетілді. Нәтижелер 2–3 г/кг лимон қышқылды қан сарысуындағы фенолоксидаза, SOD және лизоциммен бірге ішек протеазасының белсенділігін арттырды, бұл өсу мен патогенді *Vibrio alginolyticus*–ке қарсы жинақталған өмір сүруді жақсартты.

Құмырсқа қышқылды – акваөсіруде жақсы зерттелген тағы бір органикалық қышқыл [129].

Кесте 1 – Органикалық қышқылдар және олардың тұздары жемде функционалды жем қоспалары ретінде қолданылады

| **Жем қоспасы** | **Доза** | **Балық түрлері** | **Жауаптар** | **Сілтемелер** |
|---|---|---|---|---|
| Лимон қышқылы | 15 | Қызыл дөңес балық | Өсу және ас қорыту ферменттерінің белсенділігі | [130] |
| Лимон қышқылы | 10 | Қызыл теңіз табан балығы | Өсу және фосфордың сақталуы | [131] |
| Лимон қышқылы | 10 | Микижа | Өсу, күл құрамы, минералды құрамы, фосфордың сіңуі | [132] |
| Лимон қышқылы | 2–3 | Ақ асшаяндар | Өсу, иммундық реакциялар және ауруға төзімділік | [133] |
| Құмырсқа қышқылы | 3 | Ақ жұмыртқа асшаяндары | Иммундық реакциялар, ішек бактерияларының саны және ауруға төзімділік | [134] |
| Натрий диформаты | 5 | Микижа | Қоректік заттардың сіңімділігі және азықлардың физикалық сапасы | [135] |
| Натрий диформаты | 5 | Азия теңіз алабұғасы | Өсу, жемге әсер ететін ke, иммундық реакциялар, ас қорыту ферменттерінің белсенділігі және бактериялардың жалпы саны | [136] |

1-ші кестенің жалғасы

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Бутир қышқылы | 10 | Теңіз алабұғасы | Ішектің қабынуы | [137] |
| Натрий бутираты | 4 | Камбала | Иммунитетке байланысты гендердің экспрессиясы | [138] |
| Натрий бутираты | 20 | Ақ аяқты асшаяндар | Өсу, ақуыз тиімділігінің коэффициенті және ішек бактерияларының саны | [139] |
| Сірке қышқылды | 50 | Микижа | Асқорыту трактінің Рн, фосфордың сіңімділігі және геннің экспрессиясы | [140] |
| Натрий пропионаты | 5 | Сары жүзді теңіз суы | Өсу, жемді конверсиялау, қандағы гемоглобин және плазмадағы жалпы ақуыз | [141] |

Бұл зерттеуде (90 күн) 3 г/кг құмырсқа қышқылды нәтижесінде төменгі ішекте жалпы бактериялар мен *Vibrio spp*. пайда болды. сынақ сынағында Вибрио парахемоли–тик ауруына қарсы көрсеткіштер мен жоғары кумулятивті өмір сүру көрсеткіштері. Натрий диформаты–құмырсқа қышқылдының тұзы және құс, шошқа және аквамәдениет салаларында белгілі қышқылдандырғыш. Кемпірқосақ албыртының рационына 10,6 г/кг натрий диформатының қосылуы негізгі қоректік заттар мен аминқышқылдарының сіңімділігін арттыра отырып, жемнің кеңею коэффициентін, беріктігін және су тұрақтылығын арттырды [142]. Азиялық теңіз бассейніне (*Lates calcarifer*) жүргізілген тағы бір зерттеуде 5 г/кг натрий диформаты өсуді, жемді тұтынуды, химотрипсин белсенділігін және сарысу лизоцимін арттырды, сонымен бірге ішекте өміршең бактериялардың жалпы санын азайтты [143]. Балық пен асшаяндардың қоректенуіндегі органикалық қышқылдардың әртүрлі түрлері мен олардың тұздары арасындағы тиімділік пен әсер ету механизмінде көрінетін ұқсастық бар. Дегенмен, жалпы алғанда, жемдегі органикалық қышқылдардың әртүрлі түрлерінің пайдалы әсері балық түрлеріне, мөлшеріне, жасына және т.б. байланысты өзгереді., жем құрамынан басқа (әсіресе балық ұнының деңгейі), дақылдың жай–күйі және судың сапасы [144].

Бутир қышқылы – жануарлардың ішектерінде пайда болуы мүмкін бактериялардың көмірсулармен ашытуының туындысы. Натрий бутираты ($C_4H_7O_2Na$) – натриймен хелатталғаннан кейін бутир қышқылдының тұзы. Бұл қосылыс аквакультурада кеңінен қолданылатын мал рационында қолданылатын перспективалы жем қоспасы болып табылады [145]. Натрий бутиратын (4 г/кг) аз балық ұны мен аз балық майы азықсында алтын жалатылған (*Sparus aurata*) үшін қолданды және азықты молекулалық деңгейде бағалады. Нәтижелер лимфоциттер мен гранулоциттердің, сондай–ақ шырышты өндіруге, антиоксиданттардан қорғауға және эпителий өткізгіштігіне қатысатын гендердің жоғары болуымен қабыну маркерлерінің реттелуін көрсетті. Сонымен қатар, бұл

авторлар натрий бутираты балық ұны/балық майы аз азықтардың зиянды әсерін жақсарту немесе қалпына келтіру үшін әлеуетті жем қоспасы екенін анықтады. Балық ұны аз басқа зерттеуде ESB камбала үшін 8 апталық азықтандыру жолында 4 г/кг үшін пайдаланылды. Салмақтың өсуіне, нақты өсу қарқынына және қан көрсеткіштеріне елеусіз әсер еткен жоқ, бірақ жемнің тиімділігі мен ақуыздың тиімділік коэффициентін бақылау азықғымен салыстырғанда ESB оң әсер етті. Сондай–ақ, сарысулық нитро–көк тетразолий мен миелопероксидаза, сондай–ақ ішек бүршіктерінің ұзындығы мен трипсин белсенділігі азықлық ESB арқылы жақсарды. *Edwardsiella tarda*–ға қарсы 7 күндік сынақ сынағынан кейін ESB–мен қоректенетін зәйтүн камбала бақылау азықсымен қоректенетіндерге қарағанда айтарлықтай жоғары жиынтық өмір сүруді көрсетті [146]. Бұл авторлар натрий бутиратының пассивті диффузия арқылы ішек эпителийіне сіңіп, энергия өндіруге ықпал ететінін талқылады. Екінші жағынан, [147] 10 г/кг бутиратты қосу балық ұны аз азықмен қоректенетін алып *Epinephelus Lanceolatus* тобының өсуін жақсартпағанын хабарлады. Бұл зерттеуде бутираттың жалғыз пайдалы әсері ішектің қабынуын жеңілдету болды. 5, 10 және 20 г/кг натрий бутираты мен натрий пропионатының ақ аяқты асшаяндардың рационындағы әсерін салыстырды. Олар құрамында натрий бутираты мен натрий пропионаты бар азықтар салмағының жоғарылағанын хабарлады, ал 20 г/кг натрий бутираты бақылау азықсымен салыстырғанда жемнің тиімділігін, азоттың сақталуын, ақуыздың тиімділігін және өмір сүруін жақсартуға әкелді. натрий бутираты мен натрий пропионаты азықға енгізілген кезде ішекте есептеледі.

Коммерциялық азық қоспаларын шығаратын компаниялар жем өнеркәсібіне органикалық қышқылдардың бірнеше комбинациясын ұсынды. Органикалық қышқылы қоспасының (30% құмырсқа қышқылы мен 14% аммоний қышқылы мен пропион қышқылдынан тұратын қоспасы), в органикалық қышқылды қоспасының (20% бензой қышқылдынан, 42% фумар қышқылдынан және 36% метионин гидрокси аналогынан тұратын қоспасы) және антибиотиктердің (окситетрациклин) зәйтүн камбаласындағы өсу көрсеткіштеріне, ішек денсаулығына және ауруларға төзімділігіне әсерін бағалады. 10 аптаның соңында окситетрациклин мен органикалық қышқылдарды өңдеу топтары арасында ішек бактерияларының жалпы санында ешқандай айырмашылық табылған жоқ [148]. Эксперименттік азықтармен қоректенетін балықтарда бақылау тобымен салыстырғанда ішек вибриосының көрсеткіштері де төмен болды, бірақ бұл көрсеткіш айтарлықтай ерекшеленбеді. Әртүрлі азықлық процедуралар арасында өнімділікте ешқандай айырмашылықтар байқалмады. Зерттеуінің нәтижелері әртүрлі емдеу топтарындағы 10 күннен кейінгі жиынтық өлім–жітім (50%) бақылау тобында байқалғаннан (100%) айтарлықтай төмен екенін көрсетеді. Окситетрациклин мен органикалық қышқылдарды өңдеу топтары арасында өлім–жітімде ешқандай айырмашылық болған жоқ. Бұл эксперименттік нәтижелер органикалық қышқылдардың қоспалары антибиотиктерге перспективалы балама болуы мүмкін екенін көрсетеді. Сол сияқты, басқа зерттеулер аквакультурадағы азықтық антибиотиктерді алмастыратын органикалық қышқылдар мен олардың қоспаларының перспективалы нәтижелері туралы хабарлады. Дегенмен, органикалық

қышқылдар мен олардың тұздарының басқа балық түрлеріне өсуіне ықпал ететін әсері туралы зерттеулер қарама–қайшы нәтижелер туралы хабарлады. Мысалы, судың оңтайлы емес температурасында коммерциялық аквамәдениет қышқылды қоспасын қолдану арқылы кемпірқосақ албыртының өсуі айтарлықтай жақсарды [149]. Тағы бір зерттеу көрсеткендей, қарқынды өсірілетін оңтүстік Африкалық құлақшынның (Haliotis midae) өсу қарқынын белгілі бір органикалық қышқылдарды (1% сірке қышқылды + 1% құмырсқа қышқылды және 1% бензой қышқылды + 1) қосу арқылы қолайлы өсу жағдайында айтарлықтай арттыруға болады.% сорбин қышқылды) және органикалық қышқыл тұздары (1% натрий бензоаты + 1% калий сорбаты) [150]. Кальций сульфатына негізделген 0,4% –2% тауарлық қышқылдың қосылуы *Litopenaeus vannamei* өнімділік параметрлерін өзгертпейтінін анықтады; дегенмен, олар иммундық жауаптың жоғарылауын және ішек микробиотасының өзгеруін тіркеді [151]. Сонымен қатар, натрий бутираты бар 1% коммерциялық қышқылдандырғыштармен толықтырылған *P.monodon* құрғақ заттардың, шикі ақуыздың және энергияның сіңімділігін арттырды, бұл салмақ қосудың, өмір сүрудің және FCRs көрсеткіштерінің жақсаруына әкелді .

Ғылыми баяндамалар арасындағы осы сәйкессіздіктерге қарамастан, қолданыстағы әдебиеттердегі жалпы тенденция органикалық қышқылдар мен олардың қоспаларының балық азығындағы антибиотиктерді алмастыру ретіндегі әлеуетін растайды. Осылайша, экологиялық таза аквакультура жағдайында балықтардың денсаулығы мен иммунитетін жақсарту үшін органикалық қышқылдар мен олардың қоспаларының кең спектрін жасау өте қажет. Дегенмен, әртүрлі органикалық қышқылдар мен қоспалардың азықдағы оңтайлы деңгейлері туралы ақпарат аз; зерттеулердің көпшілігі антибиотиктер мен органикалық қышқыл қоспаларын салыстыруға бағытталған. Сонымен қатар, әртүрлі органикалық қышқылдар мен қоспаларды қатаң салыстыру жаңылыстыруы мүмкін, өйткені балық түрлері, балық мөлшері, жасы, органикалық қышқылдар мен тұздардың түрлері мен деңгейлері және олардың комбинациясы әртүрлі эксперименттер арасында айтарлықтай өзгереді. Эксперименттік азықтардың құрамы, азықлық ингредиенттердің буферлік сыйымдылығы, культура мен азықтандыруды басқару, судың сапасы қосымша факторлар болып табылады. Органикалық қышқылдардың және/немесе олардың тұздарының өсу өнімділігін, жемді пайдалану тиімділігін және қоректік заттардың сіңімділігін жақсарту үшін тағамдық қоспалар ретінде жақсы әлеуеті бар сияқты; ішек микрофлорасының популяциясын өзгерту; және аквакультура түрлерінің ауруға төзімділігін арттыру [152]. Дегенмен, қоршаған ортаның қолайлы және қолайсыз жағдайларында әртүрлі экономикалық маңызды түрлердегі әртүрлі органикалық қышқылдар мен олардың қоспаларының шынайы әлеуеті мен оңтайлы азықлық деңгейін анықтау үшін қосымша терең зерттеулер қажет.

Иммунокүшейткіштер. Аквакультура индустриясының үнемі өсіп келе жатқан қажеттіліктерін қанағаттандыру үшін ол балық пен асшаяндарды өсіру жүйелерін жандандырумен қатар тұжырымдалған азықларды қолданды. Алайда, қарқынды аквакультура әл–ауқаттың нашарлауына және стресстің

жоғарылауына әкелуі мүмкін, бұл ауылшаруашылық үлгілерінде аурудың өршуіне әкеледі. Жұқпалы аурулардың алдын алу және/немесе емдеу үшін антибиотиктер мен ветеринарлық химикаттарды бей–берекет қолдану бактериялардың микробқа қарсы тұрақтылық штамдарының пайда болуына, осы химиялық заттардың балық сүбесінде жиналуына және қоршаған орта жағдайларының нашарлауына әкелді [153]. Балық және ұлулар өнімдерінің жоғары стандарттарына тұтынушылардың сұранысының артуы өндіріс процесінде ілеспе ластаушы заттардың, антибиотиктердің және канцерогендердің сапасына, қауіпсіздігіне және жойылуына көбірек көңіл бөлуге әкелді [154]. Интенсивті аквакултурадағы балықтардың әл–ауқатының маңыздылығы тек қоғамдық қабылдау, маркетинг және өнімді қабылдау үшін ғана емес, сонымен қатар көбінесе өндіріс тиімділігі, сапасы және саны жағынан да жақсы қабылданады. Сонымен қатар, бірқатар салаларда бұрын процедуралар жеке балықтар деңгейінде әл–ауқаттың төмендеуімен байланысты болып көрінетін әл–ауқат пен өндіріс арасындағы қайшылықтар енді талқыланбайды. Ең жақсы тамақтану арқылы балықтың денсаулығын сақтау тұжырымдамасы қазіргі балық шаруашылығында жақсы қабылданғаны анық [155].

Азықтық қоректік заттар мен функционалды тағамдық қоспалар балықтың иммундық жүйесін ынталандырып, аурулардың алдын алуға көмектесетіні туралы көптеген дәлелдер бар. Балықтардың қоректенуі, иммунологиясы және тамақтану, сондай–ақ иммунокүшейткіштер арасындағы байланыс туралы көптеген ғылыми ақпараттар бірнеше кітаптар мен ғылыми шолулардан жинақталған [156-158]. Бұл тұрғыда балықтың иммунологиялық реакциясын ынталандыратын табиғи, қауіпсіз және үнемді қоспаларды қолдану балық өндірушілер мен жем өндірушілер арасында үлкен назар аударды. Демек, зерттеулер перспективалы қауіпсіз, табиғи және үнемді азықтық иммунокүшейткіштерді анықтауға бағытталған. Иммунокүшейткіштер негізінен фагоциттік жасушалардың жұмысын жеңілдетеді және олардың бактерицидтік белсенділігін арттырады, сонымен қатар табиғи өлтіруші жасушаларды ынталандырады, иммундық жүйені толықтырады, лизоцимдердің белсенділігін және балықтар мен ұлулардағы антиденелердің реакциясын күшейтеді; бұл жұқпалы аурулардан қорғауды күшейтеді [159]. Иммунокүшейткіштердің қосымша әсерлері де бар, стресс жағдайында балықтардың өсуін арттыру және өмір сүру деңгейін арттыру сияқты. Сондықтан иммунокүшейткіштерді иммундық жүйені модуляциялайтын табиғи қосылыстар ретінде анықтауға болады, олар көп жағдайда қоздырғыштар тудыратын ауруларға қарсы тұрақтылықты жоғарылатады [160]. Бұл қосылыстарды шығу тегіне, әсер ету режиміне және оларды басқару тәсіліне қарай жіктеуге болады. Дегенмен, бұл иммунокүшейткіштерді олардың әсер ету тәсіліне қарай қатаң түрде жіктеу жаңылыстыруы мүмкін, өйткені кейбір иммунокүшейткіштердің балық физиологиясына көптеген әсерлері бар екені хабарланды. Әрбір иммунокүшейткіштің толық сипаттамасы осы тараудың шеңберінен тыс және оның орнына табиғи, үнемді және әрі қарайғы терең зерттеулер үшін танылуға лайық перспективалы иммунокүшейткіштерге назар аударылады.

### 1.3 Балықтың өсуі мен иммунитетін жақсарту үшін пробиотиктер және оларды аквакультурада қолдану

Азықтың сіңуін жақсарту, жануарлардың өсуі мен дамуын ынталандыру, сондай-ақ спецификалық емес иммунитетті арттыру үшін ферменттік, пробиотикалық, пребиотикалық және аралас ферменттік-пробиотикалық қоспалар, соның ішінде фитокомпоненттермен қосымша байытылған күрделі пробиотикалық композициялар қолданылады.

Жасанды өсірілген балыққа арналған пробиотиктер-бұл сау бактериялар мен тірі микробиологиялық қоспалар, олар дәстүрлі түрде денсаулықты, өнімділікті және өсуді қамтамасыз ету үшін аквакультураның ауылшаруашылық жүйелеріне қосылады. Сондықтан аквакультурадағы перспективалық бағыт-пробиотикалық дақылдары бар жемді пайдалану. Пробиотиктерді қолдану денсаулықтың әртүрлі мәселелерін шешумен, атап айтқанда ас қорыту тиімділігін арттырумен және өсу мен дамуды ынталандырумен байланысты. Пробиотиктер жануарлардың ағзасына пайдалы әсер ете отырып, ас қорытуды қалпына келтіруге, биологиялық мәртебені қалыпқа келтіруге және иммунитетті нығайтуға, сондай-ақ вакцинацияның тиімділігін арттыруға көмектеседі. Пробиотиктерді мал шаруашылығына енгізу ауруларды емдеуге кететін шығындарды айтарлықтай азайтады, өнімділікті арттырады және өнім сапасын жақсартады. Балық аулау саласында әртүрлі пробиотикалық композицияларды қолдануға арналған зерттеулер белсенді жүргізілуде. Бұл шолу қолданыстағы әдебиеттерді жан-жақты зерттеуде грам – оң бактерияларды пробиотиктер ретінде қолдану тақырыбын жалпылауға бағытталған. Пробиотиктердің биологиялық тиімділігі туралы түсініктердің кеңеюімен және жасушалардың құрылымдық элементтері мен олардың метаболиттерінің кем дегенде кейбір жағдайларда тиімді екендігінің дәлелі. Нәтижесінде әртүрлі балық түрлерінің өсуі мен иммунитетін жақсарту үшін бактериялардың әртүрлі түрлері, соның ішінде бациллалар, сүт қышқылды бактериялары және микробтар пайдаланылды. Алайда, бұл зерттеу аквамәдениеттегі пробиотиктердің балықтың жалпы өнімділігіне оң әсер ететіндігін көрсететін ғылыми әдебиеттерге шолу жасады [161].

Қазіргі таңда балық өсірудегі пробиотиктердің рөлі артып келеді. Бұл, ең алдымен, балық өсіру үшін үлкен мәселе болып табылатын аурулармен және одан әрі өсу мен кеңеюдің үлкен мәселемен байланысты. Жасанды түрде өсірілген балықтарға арналған пробиотиктер–бұл олардың денсаулығын, өнімділігін және өсуін қамтамасыз ету үшін дәстүрлі түрде аквакультура жүйелеріне қосылатын пайдалы бактериялар [162]. Балық фермаларында бактериялық аурулардың алдын алу және бақылау үшін антибиотиктерді кеңінен қолдану дәріге төзімділік, тіндерде антибиотиктердің жиналуы және иммуносупрессия сияқты мәселелерге әкелді. Осылайша, пробиотиктер профилактикалық агент ретінде аквакультурада біртіндеп қолданылады [163]. Осыған байланысты қазіргі уақытта әртүрлі пробиотиктер жануарлардың қалыпты физиологиялық жағдайын сақтау және қалпына келтіру құралы ретінде кеңінен қолданылады және ғалымдар мен практиктердің ауылшаруашылық

өндірісінде микроорганизмдерді қолдануға деген қызығушылығы айтарлықтай артып келеді [164].

Бағасы мен дәмі бойынша бәсекеге қабілетті экологиялық таза жемді пайдаланып балық өсіру өте маңызды. Балықтар басқа ауылшаруашылық жануарларына қарағанда табиғи тіршілік ету ортасын қажет етеді, өйткені олар тіпті су ортасының параметрлерінің айтарлықтай ауытқуларына (оттегінің, pH, қоректік заттардың және микрофлораның болуы) сезімтал. Осылайша, қоректік заттармен теңдестірілген азықлардың биологиялық рөлі қазіргі уақытта достық микрофлораның функционалдық маңыздылығымен толықтырылуда, оның жетіспеушілігі жасанды түрде өтелуі керек [165].

Соңғы жылдары ғалымдар балық шаруашылығында пробиотиктерді қолдану бойынша бірқатар зерттеулер жүргізді. Осылайша, ғылыми прогресс туралы пайдалы ақпарат алу үшін осы мақалаларды талдау маңызды. Осылайша, бұл шолу пробиотиктер ретінде қолданылатын грам–позитивті микроорганизмдер және олардың әртүрлі балық түрлерінің өнімділігіне әсері туралы 2020 жылға дейін жарияланған мақалаларды қорытындылауға бағытталған.

Аквакультурадағы пробиотиктердің рөлі. Соңғы уақытта әртүрлі жем түрлерін қолдана отырып, балықты өсірудің өнеркәсіптік әдістеріне көбірек мән берілуде. Дегенмен, табиғи тағам құрамында көптеген метаболикалық процестерді реттейтін биологиялық белсенді компоненттердің кең ауқымы бар. Демек, жемдегі қажетті қоректік заттардың тепе–теңдігінен басқа, физиологиялық тұрғыдан толыққанды шабақтарды өсіру үшін биоактивті заттар маңызды, оларға жемдік пробиотиктер жатады [166].

"Пробиотиктер" термині патогендік микрофлораға қарсы антагонистік белсенділігі бар микроорганизмдердің кең класын сипаттау үшін қолданылады. Пробиотиктер әдетте дисбиотикалық жағдайларға байланысты көптеген ауруларды емдеуде және алдын алуда микробтық ценозды түзету үшін қолданылатын тірі микробтық дақылдарға негізделген препараттар деп аталады [167].

Пробиотиктер сонымен қатар микроорганизмдердің патогендерге төзімділігін арттыру арқылы стресстен кейінгі бейімделуге көмектеседі; олар ас қорыту жолында ферменттердің қосымша өндірісі арқылы ас қорыту жүйесінің жұмысын жақсартады. Сонымен қатар, пробиотиктер органикалық ластаушы заттардың жиналуын азайтады және судың сапасын тиімді сақтайды [168].




Сурет 1 – Пробиотиктерді аквакультурада антибиотиктерді пайдалануды азайту үшін инновациялық балама ретінде қолдану

Аквакультурада пробиотикалық микроорганизмдер ретінде жиі қолданылатын бактериялардың арасында көрнекті топтары: сүт қышқылды бактериялары (СҚБ), *Bacillus, Alteromonas, Arthrobacter, Bifidobacterium, Clostridium, Paenibacillus, Phaeobacter, Pseudoalteromonas, Pseudomonas, Rhodosporidium, Roseobacter жатады және Streptomyces*. Сонымен қатар, микробалдырлар (*Tetraselmis*) және *Debaryomyces, Phaffia* және *Saccharomyces* тұқымдас ашытқылар сияқты эукариоттық микроорганизмдер пробиотикалық бағалауда тиімділігін көрсетті [169]. Сонымен қатар, *Aeromonas* және *Vibrio* патогендік тұқымдарының кейбір изоляттары пробиотикалық қасиеттерді көрсетеді [170].

Аквакультураның тиімділігі негізінен пайдаланылатын жемнің сапасы мен санына байланысты. Азық–түлік шығындарының төмендеуі балық шаруашылығының рентабельділігін арттыратын негізгі экономикалық факторлардың бірі болып табылады. Жемге қосылған пробиотиктер балықтың өсу бірлігіне жемді тұтынуға айтарлықтай әсер етеді, өйткені олардың толық сіңуіне ықпал етеді, жеммен бірге келетін микотоксиндерді бейтараптандырады, патогендік микрофлораны жояды, балық ағзасының жалпы төзімділігін күшейтеді [171].

Ғалымдар зерттеулер пробиотиктерді балық тағамында қолданудың пайдалы әсері туралы хабарлады. Жарияланған жұмыстарға сәйкес, коммерциялық пробиотиктердің көпшілігінде негізінен *Lactobacillus* және *Bacillus sp.* бар. [172,173].

Пробиотиктің жалпы әсер ету механизмі. Балық өсіруге арналған тиімді пробиотик, ішектерді колонизациялауға қабілетті және екі есе пайдалы әсерге ие. Пробиотиктер макроорганизмге оң әсерін механизмдердің бүкіл арсеналы арқылы жүзеге асырады, олардың барлығы әлі толық шешілмеген. Жақсы

зерттелгендердің арасында патогендік және оппортунистік микроорганизмдерге қарсы антагонистік белсенділік бар [174]. Екіншіден, пробиотиктер ішек эпителийінің жасушаларына жабысқақ белсенділікке ие және ішек қабырғасындағы адгезия аймақтары үшін және соның салдарынан қоректік заттарды шектеу үшін патогендік және оппортунистік микробтармен сәтті бәсекелесе алады, бұл сайып келгенде қажетсіз микрофлораның өсуін тежеуге әкеледі [175].

Пробиотиктер ретінде қолданылатын грам - оң микроорганизмдер балықтың өсу қарқыны мен иммунитетіне әсер етеді. Бациллалар - пробиотиктер ретінде пайдаланылуы мүмкін микроорганизмдерді іздеу пробиотикалық препараттардың дамуына негіз болады. Пробиотиктер ретінде пайдаланылатын немесе потенциалды пробиотиктер ретінде сыналған микробтық организмдер организмдер 2-ші келтірілген. Түзету пробиотиктерін әзірлеу үшін көпжылдық мақсатты скрининг нәтижесінде *Bacillus subtilis* және *B. licheniformis, B. coagulans, B. firmicutes (Paenibacillus polymyxa), B. pumilus* [172-175] сияқты штамдар таңдалды. Бұл бактериялардың кейбір эксперименттік штамдары патогендік және оппортунистік микроорганизмдердің кең ауқымына қатысты айқын антагонистік белсенділікке ие болуы мүмкін [176]. Бациллалар сапрофиттер болып табылады және ақуыз субстраттарының ыдырауының негізгі қатысушылары болып табылады. Жоғары белсенділігінің арқасында олар көбінесе басқа микроорганизмдерге қарсы антагонист болып табылады. Бұл бактериялардың маңызды артықшылықтарының бірі–олардың спора түзу қабілеті, бұл оларға қоршаған ортаның қолайсыз жағдайларында өміршеңдігін сақтауға мүмкіндік береді (оның ішінде түйіршіктеу және экструзия процесінде шикізат пен жемді ылғалды жылумен өңдеу) [177]. Спораға төзімділікті әртүрлі факторлармен түсіндіруге болады, мысалы, қалың споралы ақуыз қабаттарының болуы, спора ядросының өткізгіштігінің төмендеуі немесе спора ядросындағы судың төмендеуі [178].

*Bacillus spp.* жасушадан тыс ферменттер шығару қабілетімен танымал. Акваөсіру жемінде қолданған кезде бұл ферменттер сіңімділігін жақсартады және жемнің конверсия жылдамдығын төмендетеді. Сайып келгенде, акваөсіру жеміндегі конверсиясының жоғарылауы экономикалық тұрғыдан тиімді, өйткені жем өндіруші үшін негізгі шығын көзі бола алады, сонымен қатар қалдықтарды азайту арқылы судың сапасын жақсартуға көмектеседі [179]. Зерттеулер көрсеткендей, олар ішекте биологиялық белсенді заттарды шығарады және әртүрлі ас қорыту ферменттерін шығарады. Нәтижесінде ас қорыту жақсарады, тағамның сіңуі жоғарылайды, дене салмағының орташа тәуліктік өсуі артады және балықтың өсуі ынталандырылады. Мысалы, тоғаннан бөлініп алынған *Bacillus spp.* бактериясы өнімділікті ынталандырды [180].

Ішек люменінде тіршілік ететін және көбейетін *Bacillus subtilis* бактериялары патогендік және оппортунистік микрофлораның дамуын тежейтін метаболиттер шығарады, соның ішінде стафилококктар, қарапайымдылар, шигеллалар, эшерихиялар, псевдомоналар, *Candida* саңырауқұлақтары және басқа микроорганизмдер[181]. *Bacillus subtilis* бактериялары балықтың ішегінде колониялар құра алмайды–препаратты тоқтатқаннан кейін олар біртіндеп

шығарылады, бірақ олардың ас қорыту жолындағы жоғары концентрациясын сақтау балықтың өмір сүруін және өнімділігін арттырады [182].

Көптеген басылымдар *Bacillus subtilis* бар пробиотиктердің өсуді жақсартатынын және иммундық жүйені ынталандыратынын көрсетті [172,175,183].

Сонымен қатар, *B. coagulans, B. licheniformis және B. firmicutes (Paenibacillus polymyxa*) ($p < 0,05$) балық шабақтарының бактериялық инфекцияға төзімділігін арттырады [184].

Сүт қышқылды бактериялары пробиотикалық қоспалары ішек микрофлорасын патогендерді басу арқылы ғана емес, сонымен қатар иммунитетті арттыру арқылы қалыпқа келтіреді; олардың белсенділік өнімдері – иммуноглобулиндер мен лактоглобулиндер – микробқа қарсы, вирусқа қарсы және ісікке қарсы әсерге ие [185].

Лактобактериялар жоғары антисептикалық, бактерицидтік және антиоксиданттық қасиеттерге ие сірке, құмырсқа, сүт қышқылдары мен сутегі асқын тотығын көп мөлшерде шығарады [186]. Ішек патогендерінің колонизациясының алдын алу механизмдерінің бірі-ішек эпителийінің бетіндегі адгезия аймақтары үшін бәсекелестік. Баяу өсетін, бірақ ішек қабырғасына жабысатын бактериялар ішектерді колонизациялай алады, ал әлсіз түрлер олардың өсу қарқынының жоғарылауымен өтеледі. Бекіту микроорганизмге ішек құрамын жууға төзімділікті қамтамасыз етеді. Бұдан шығатыны, егер пробиотикалық штамм ішек қабырғасында адгезия аймақтарын ала алса, ол ас қорыту жолында тамыр алады және керісінше [187].

Лактобактериялардың ішектің қалыпты микрофлорасына пайдалы әсері оларды пробиотиктерде кеңінен қолдануға әкелді. Лактобактериялардың келесі түрлері аквакультурада пробиотиктер ретінде жиі қолданылады: *L. acidophilus* [188], *L. helvetica* [171], *L. rhamnosu* [189,190], *L. plantarum* [191-193], *L. delbrueckii subsp.* [194,195] , *L. delbrueckii subsp.* [196].

*Lactobacillus helveticus Aeromonas spp*. балықтарына қарсы микробқа қарсы белсенділік көрсететінін хабарланады. Сонымен қатар, бұл антиоксиданттардың деңгейін жоғарылатып, алтын балықтың қажетті микроэлементтердің селективті сіңуін күшейтті [171].

Сонымен қатар, пробиотикалық қоспалардың балықтың иммунитеті мен өсуіне әсерін бағалады. Авторлар *Lactobacillus plantarum* 426951 қосылуы иерсиниозға қарсы вакцинацияланған албыртының өсуін және кейбір иммундық күйін жақсарта алатынын көрсетті [193]. Ұқсас нәтижелер басқа зерттеулерде де болды [191].

*Enterococci faecium* адамның және көптеген омыртқалылардың асқазан–ішек жолдарының қалыпты микрофлорасының бөлігі болып табылады және шырышты қабаттардың колонизацияға төзімділігін қамтамасыз етуде шешуші рөл атқарады. *E. faecium ZJ4*–ті тилапия балығынан асқазан–ішек жолынан бөліп алып, оның дене салмағына айтарлықтай әсерін зерттеді [197].

Микрококктар. Микрококк – грам - оң бактериялардың бір түрі. *Micrococcus luteus*–тің адам мен жануарлар ауруларындағы рөлі минималды, оны кейіннен

пробиотик ретінде қолдануға болады. Тилапиямен жүргізілген зерттеуде *M. luteus in vivo* балықтардың өсуі мен денсаулығын жақсартты [198].

Қазіргі заманғы балық өсіру қарқынды технологияларға негізделген, соның ішінде шектеулі жерлерде отырғызу тығыздығымен ерекшеленетін жабық сумен жабдықтау қондырғылары, бұл қауіпті инфекциялардың қоздырғыштарымен балықты жұқтыру қаупін едәуір арттырады. Азықтық пробиотикалық препараттар мал шаруашылығы тәжірибесінде кеңінен қолданылады, бұл ауылшаруашылық жануарларын өсіру мен азықтандырудың қолданыстағы жүйелерін жетілдіруге мүмкіндік береді және қазіргі заманғы жануарларды ұтымды азықтандырудың маңызды құрамдас бөлігіне айналады.

Қол жетімді әдебиеттерге шолу пробиотиктердің әртүрлі балық түрлерінің өсу қарқынына перспективалы әсерін анықтады. Бұл азық–түлік шығындарын азайтуға және балықтарын өсірудің экономикалық тиімділігін арттыруға көмектеседі. Потенциалды пробиотиктерді талдау оларды әрі қарай зерттеу және аквакультураға енгізу балықтың өнімділігін арттыруға көмектесетінін көрсетті. Алайда, пробиотиктердің балыққа ықтимал әсері туралы зерттеулер жеткіліксіз; сондықтан оны әр түрлі балық түрлерінде одан әрі зерттеу қажет.

Кесте 2 – Микроорганизмдердің әртүрлі түрлері және олардың балықтардың өсу қарқыны мен иммунитетіне пайдалы әсері

| | Пробиотиктер<br>Грам оң бактериялар | Аква түрлері | Әсер етуі | Сілтемелер |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | *Lactobacillus helveticus* | Алтын балық<br>*Carassius auratus* | Микробқа қарсы белсенділік, денсаулықты жақсарту, өлімді азайту | [198] |
| 2 | *Lactobacillus plantarum 426951* | Микижа<br>*Oncorhynchus mykiss* | Өсу өнімділігі мен иммундық статустың жақсаруы | [193] |
| 3 | *Lactobacillus plantarum CCFM639* | Тилапия<br>Tilapia | Өсу қарқынын, жемді пайдалану тиімділігін және антиоксиданттық қабілетін арттырады | [191] |
| 13 | *Lactobacillus acidophilus* | Сазан<br>*Cyprinus carpio* | Жақсартылған өсу қарқыны және жалпы гетеротрофты микробтық жүктеме | [201] |
| 14 | *Lactobacillus spp.* | Алтын спар балығы<br>*Sparus aurata, L.* | Ас қорыту ферменттерінің өсу параметрлері мен белсенділігін арттырады | [202] |

2-ші кестенің жалғасы

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 15 | *B. subtilis* | Тилапия<br><br>*Oreochromis niloticus* | Жақсартылған өсу, өмір сүру және дене құрамы | [183] |
| 16 | *L. rhamnosus* | Қызыл теңіз балдыры<br><br>*Red sea bream* | Өсу қарқынын, жемді пайдалануды, иммундық жауапты және тотығу күйін жақсарту | [190] |
| 17 | *L. lactis ssp. lactic ST G45* | Сібір бекіресі *Acipenser baerii* | Өсуге ықпал етеді және иммундық реакцияны күшейтеді | [203] |
| 18 | *Lactobacillus plantarum Lactobacillus brevis*<br><br>*Bacillus subtilis* | Азиялық паралихт<br><br>*Paralichthys olivaceus* | Өсуді, қанның биохимиялық көрсеткіштерін және спецификалық емес иммунитетті жақсартады | [204] |
| 19 | *Lactobacillus delbrukei subsp. Bulgaricus* | Микижа<br><br>*Oncorhynchus mykiss* | Ас қорыту ферменттерінің белсенділігін, ішек микрофлорасын және өсу гендерінің экспрессиясын жақсарту | |
| 20 | *Lactobacillus acidophilus* | Жыланбас балық<br><br>*Channa striata* | Иммунорегуляторлық гендердің өсуі мен экспрессиясы жақсарды | [188] |
| 21 | *L. lactis* | Роху<br><br>*L. rohita* | Жақсы өсу, ақуыздың пайдасы, қоректік заттардың сақталуы және сіңімділігі | [205] |
| 22 | *L. lactic L19 E. faecalis W24* | Жыланбас балық<br><br>*Channa argus* | Өсуге, гуморальдық иммунитетке ықпал етті, иммунитетке байланысты гендердің экспрессиясын және ауруға төзімділігін реттеді | [194] |
| 23 | *Bacillus subtilis* | Жұлдызды камбала<br><br>*Platichthys stellatus* | Өсу қарқыны, спецификалық емес иммундық реакциялар және ауруға төзімділік | [175] |
| 24 | *Lc. lactis WFLU12* | Азиялық паралихт<br><br>*Paralichthys olivaceus* | | [195] |

Қорытындылай келе, пробиотикалық препараттар жануарлардың қалыпты физиологиялық жағдайын сақтау және қалпына келтіру құралы ретінде кеңінен қолданылып, микроорганизмдердің өсуін ынталандырады және дененің табиғи қорғаныс механизмдерін күшейтеді. Осыған байланысты қарқынды балық өсірудің негізгі проблемасы – қазіргі заманғы пробиотикалық препараттарды қамтитын белсенді және қауіпсіз құрама жемді пайдалана отырып, өсірудің жаңа биотехнологияларын әзірлеу.

## 2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

### 2.1 Зерттеу материалдары

Сүт қышқылды бактерияларының жоғары белсенді штамдары үшін МЕМСТ ISO 11133-2-2011 бойынша келесі қоректік орталар қолданылды [208]:

*MRS қоректік ортасы* – (1 литр дистилденген суда дайындалады). Құрамы:

Казеин пептоны 10,0; ет сығындысы 8,0; ашытқы сығындысы 4,0; глюкоза 20,0; екі алмастырылған калий фосфаты 2,0; твин-80 1,0; екі алмастырылған лимон қышқылдының аммонийі 2,0; натрий ацетаты 5,0; магний сульфаты 0,2; марганец сульфаты 0,04; агар 14,0.

20 минут 0,5 атм. қысыммен 120ºС автоклавта заласыздандырады.

*Гидролизденген сүт – с*үт қышқылды бактерияларының көбеюі үшін қоректік орта гидролизденген сүт болып табылады. Ол сүт пен сүт өнімдерін талдау кезінде бірқатар қоректік орталарға негіз болады. 1 литр қайнатылған және 45 °С дейін салқындатылған майсыздандырылған сүтке ортаның рН 7,6-7,8 орнатқаннан кейін 1 г құрғақ панкреатин ұнтағы немесе ет тартқышта ұсақталған 5 г ұйқы безі қосылады. Панкреатин алдын-ала аз мөлшерде жылы суда сұйылтылады, содан кейін ортаға қосылады. Панкреатинді қолданғаннан кейін бірнеше минуттан кейін 5 мл хлороформ қосылады. Колба кортикальды тығынмен жабылады және термостатқа 40 °С температурада 3 күнге қойылады. Колбаның хлороформ буын кетіру үшін күні бойы бірнеше рет араластырылады. Термостатта үш күндік экспозициядан кейін сұйықтық қағаз сүзгісі арқылы сүзіледі, сумен 3 есе сұйылтылады, бейтарап немесе сәл сілтілі реакция орнатылады (РН 7,0-7,2) және 120 °С температурада 15 минут зарарсыздандырылады.

*Гидролизденген сүт агары* – қатты орта алу үшін гидролизденген сүтке 1,5-2,0% майдалап туралған агар қосылады. Қоспа 15 минут ішінде 120 °С температурада автоклавта балқытылады, мақта арқылы сүзіледі, түтіктерге немесе конустарға құйылады және 10 минут ішінде 120 °С температурада зарарсыздандырылады.

*Ет – пептонды агар (ЕПА)* ортаның құрамы:

Пептон-10 г; сиыр сығындысы-3 г; Натрий хлориді-5 г; агар-20 г; тазартылған су - 1 литрге дейін. 120ºС – да 30 минуттай заласыздандырады Жұмыстың зерттеу нысаны ретінде Алматы облысының маңында орналасқан Қарасай ауданы және Талғар ауданы биелерінің бие сүті мен қымыздарынан бөлініп алынған сүтқышқылды бактериялары мен ашытқысы алынды.

### 2.2 Зерттеу объектілері

1. Зерттеу жұмысында қолданылған бие сүті, қымыз сияқты дәстүрлі сүт өнімдерінің үлгілері Алматы облысының маңында орналасқан шағын өңірлерінен жиналды.

2. Дәстүрлі сүт өнімінен (бие сүті, қымыз) бөлініп алынған штамдар 3К – *Lactobacillus fermentum,* 7К – *Lactobacillus fermentum,* 9К– *Lactobacillus*

*fermentum,* 010К – *Lactobacillus paracasei,* 11К – *Lactobacillus paracasei* қолданылды.

3. Бактериялық тест-культура ретінде: *Enterococcus faecalis, Aeromonas spp, Staphylococcus aureus, Escherichia coli (E.coli).* Тест-культуралары Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Ветеринария факультеті, Микробиология кафедрасының микроорганизмдер жинағынан алынды.

4. Левомицитин, неомицин, тетрациклин, стрептомицин, полимиксин, эритромицин, бензилпенициллин, доксициклин қағаз дискілі антибиотиктері таңдап алынды.

5. Зерттеу жұмыстары тилапия балығымен (*Oreochromis niloticus)* жалғасын тапты.

6. ALLER PERFORMA (Польша) 2 мм ақуызы жоғары құрама жем.

### 2.3 Зерттеу әдістері

Зерттеу жұмысымызда заманауи микробиологиялық, биохимиялық, биотехнологиялық және басқа зерттеу әдістері қолданылды.

#### 2.3.1 Сүт қышқылды бактериялардың таза дақылдарын бөліп алу және қасиеттерін зерттеу әдісі

Бие сүті және қымыздан сүт қышқылды бактерияларды бөліп алу кезінде 1 г сынама стерильді ерітіндіде сүртіледі және тұзды ерітіндіде 1:10 сұйылту дайындалады [206].

Сұйылту микроорганизмдердің жеке колонияларын алу үшін қолданылады. Ол үшін құрамында осы микроорганизмдер бар материалды сұйылту керек. Сұйылтуды дайындау үшін біз стерильді түтіктерге 9 мл тұзды ерітінді құямыз. Содан кейін стерильді пипетканың көмегімен біз 1 мл зерттелетін затты алып, оны 9 мл тұзды ерітіндісі бар түтікке қосамыз. Бірінші сұйылту жаңа стерильді тамшуырмен мұқият араласады. Алынған сұйылту 1 мл көлемінде екінші түтікке ауыстырылады, бұл екінші сұйылту деп аталады. Осылайша, біз қалған сұйылтуларды дайындауды жалғастырамыз, нәтижесінде сұйылтылған зат аламыз.

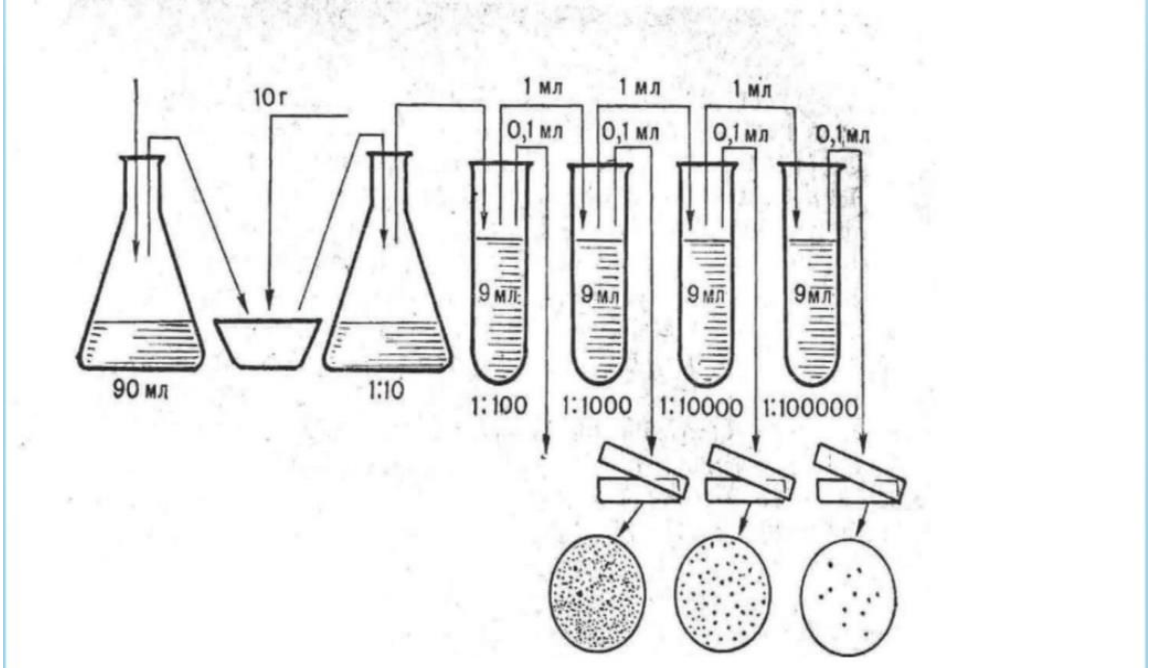
Микроорганизмдерді себу үшін қатты қоректік ортаға себудің үстірт, терең және басқа түрлері қолданылады, біз зерттеу жұмысымызда беттік себу әдісін қолдандық. Әдісті жасау үшін қатты қоректік ортасы бар Петри табақшасына 0,05 мл сұйылтылған суспензияны тамызып, оны шпатель көмегімен біркелкі жаямыз. Бұл процесс беттік егу әдісі деп аталады. Сұйық қоректік ортаға егуге алынған материалды тамшуырдың ұшымен арнайы ортада араластыру арқылы жүзеге асырылады. Қатты қоректік орталарда өсіп шыққан колонияларды санау төмендегі формуламен жүргізілді.

$$M=a\bullet 10n/v \quad (1)$$

M – 1мл – дегі микроорганизм клеткаларының саны;

a – Петри табақшасындағы микроорганизмдер колониясының орташа саны;

10 – сұйылту коэффиценті;
n – егу жүргізілген сұйылтудың реттік саны;
v – егуге алынған суспензияның көлемі;




Сурет 2 – Кох әдісі

*МЕМСТ 26670-91 сәйкес микроорганизмдер өсірілді* [207].

Бөлініп алынған пробиотикалық қасиеттері бар микроорганизмдердің үлгілері 4°С температурада сақталады. Құрылған пробиотикалық штамдардың құрамына сүт қышқылды бактериялары мен ашытқы кіреді. Осылайша, MGYP - агар орталары мен қызғылт Бенгал левомицетин агары ашытқыны, MRS (Merck) агарын лактобактерияларды, M17 (Merck) агарын сүт қышқылды кокктарын бөліп алу үшін пайдаланады. Ашытқы, сүт кокктары мен сүт қышқылды бактериялары аэробты түрде өндіріледі. MRS және M17 орталарында инкубация 37°С температурада 48 сағат ішінде, ал ашытқы 30°С температурада 2-5 күн ішінде жүзеге асырылады. Өсіп шыққан бактерияларды бояғаннан кейін (ашытқы үшін қарапайым бояу, бактериялар үшін граммен бояу және каталаза талдауы) тазарту процестері жүргізіледі. Тазартылған колониялар 25% глицерин қосу арқылы және -80 °С температурада сақталады.

*Қышқыл түзу белсенділігін анықтау әдісі*

Қышқыл түзілу белсенділігі Тернер әдісімен анықталды. Ол үшін 10 мл майсыздандырылған сүтке 0,1 мл зерттелетін ерітіндіні егіп, 37ºС температурада бірнеше сағатқа культивирледік. 6-12 24-48-72 сағат аралығында нәтижесін бақыладық. Ол үшін 1 мкл үлгіге 20 мл тазартылған су қосылады және фенолфталеин индикаторының 1-2 тамшысы тамшылайды. 10 мл ерітіндіге 20 мл дистилденген су құйып, 1-2 тамшы фенолфталеин ерітіндісін қостық. 0,1 н NaOH ерітіндісімен ашық-қызғылт түске боялғанша титрледік.

$$К = Х * 10$$
(2)

Мұндағы:
К – қышқыл түзу энергиясы;
Х – титрлеуге жұмсалған NaOH мл мөлшері;
10 – мл – ді Тернер градусына ауыстыру коэффициенті.

*Антибиотиктерге сезімталдық қасиетін зерттеу әдісі*

Антибиотиктерді таңдау сүт қышқылды бактерияларының табиғи төзімділігіне, сондай-ақ бактерияға қарсы препараттардың әртүрлі әсер ету механизмдеріне негізделген. Штамдардың антибиотиктерге сезімталдығын анықтау үшін амфениколдар – левомицин (30 мкг), поликетид – тетрациклин (30 мкг), аминогликозидті антибиотиктер – стрептомицин (30 мкг) және неомицин (30 мкг), макролид – эритромицин (15 мкг) стандартты ерітінділерімен сіңдірілген стандартты дискілер қолданылды. Сүт агары сүт қышқылды бактерияларының өсу ортасы болды. Тәжірибелерде оңтайлы температурада өсірілген бір күндік культуралар бір Петри табақшасына 0,1 мл суспензия есебінен 1 миллиард/мл жасушалық суспензия түрінде пайдаланылды. Тексерілген штамдардың өсінділері бар Петри табақшаларына еккеннен кейін, антибиотикке малынған дискілерді өсіп келе жатқан ортаның бетіне орналастырамыз. Өсіру 37°С температурада 72 сағат бойы жүргізілді. Сүт қышқылды бактерияларының антибиотиктерге сезімталдығы өсуді тежеу аймағының диаметрін өлшеу арқылы анықталды.

*Бактериялардың антагонистік белсенділігін анықтау әдісі* (диффузия әдісі)

*Enterococcus faecalis, Aeromonas spp, Staphylococcus aureus, Escherichia coli (E.coli)* дақылдары тест бактериялары ретінде қолданылды. Сынақ дақылдары әр түр үшін оңтайлы құрамы бар қоректік ортада өсірілді: агар сусласы 1:1 қатынасында МПА-мен араластырылды. Еріген және салқындатылған ортаға 0,1 мл суспензия қосылып, араластырылып, Петри табақтарына құйылды. Өсіру ортасының қабатында диаметрі 10 мм тесіктер кесіліп, оларға зерттелетін сүт қышқылды бактерияларының күнделікті дақылдарының сұйық суспензиясы қосылып, термостатқа 37°С температурада 24 сағатқа орналастырылды. 24 сағаттан кейін сыналған өсінділердің өсуін тежейтін аймақтар сүт қышқылды бактерияларымен өлшенді. Әрі қарай зерттеу үшін кең басу аймақтары бар тиісті көрсеткіштердің максималды саны бойынша ең күшті антагонистік қасиеттерді көрсететін штамдар таңдалды [209].

### 2.3.2 Сүт қышқылды бактерияын молекулалық-генетикалық әдісі арқылы идентификациялау

Ферментативті штамдардың таксономиялық сипаттамасы үшін секвенирлеу және биоинформатика жүргізілді (концентрацияднқ) бөлініп алынған және тазартылған ДНҚ.

Геномдық ДНҚ өндірушінің хаттамасына сәйкес XTerminator Purification Kit көмегімен күндізгі бактериялық дақылдардан бөлініп алынған. Үлгілердегі ДНҚ концентрациясы QubitTM dsdna HS Assay Kit (life Technologies, Орегон, АҚШ) көмегімен Qubit 2.0 флуорометрімен өлшенді.

Кесте 3 – QUBIT флоуориметрінің көрсеткіштері бойынша ДНҚ концентрациясы

| № | Сынама куәлігі | Концентрациясы | Өлшем бірлігі |
|---|---|---|---|
| 1 | **3** | 33,0 | μg/ml |
| 2 | **7** | 18,7 | μg/ml |
| 3 | **9** | 20,4 | μg/ml |
| 4 | **10** | 94,0 | μg/ml |
| 5 | **11** | 76,8 | μg/ml |

Генетикалық сәйкестендіруге жататын микроорганизмдердің ДНҚ-сы коммерциялық ДНҚ оқшаулау жинағы арқылы бөлініп алынған және сәйкес тікелей және кері праймерлерді пайдалана отырып, ұзындығы 500-900 базалық жұп (бактериялар үшін) rРНҚ генінің аймағын талдаған.

16S rДНҚ аймағының амплификациясы кезінде 8F (5'–AGAGTTTGATCCTGGCTCAG–3') және 806R (5'–GGACTACCAGGGTATCTAAT–3') жалпы бактериялық праймерлер қолданылды.

Күшейту процесінің ең маңызды қадамы - дұрыс режимді таңдау мүмкіндігі. Полимеразды тізбекті реакцияны қолдана отырып, ДНҚ күшейту реакциясын орнату бағдарламасы төмендегідей

Птр бағдарламасы:
95°C ..... 240 секундтық бастапқы денатурация
95°C ..... 30 секунд
55ºC ..... 40 секунд 30 айналым (cycles)
72°C ..... 50 секунд
72°C ..... 10 минут соңғы ұзарту фазасы

Соңғы созылу кезеңі 10 мин геномдық ДНҚ үлгілерінің гельдік электрофорезі 3K, 7k, 9k, 10k және 11K Thermo OWL easycast B2 (АҚШ) штамдарындағы 600 негізгі жұп ДНҚ концентрациясы бар бромфенол көк маркер ретінде дайындалған электрофорез буферінде бояу нәтижелері гельді бейнелеу жүйесі арқылы гельдің ультракүлгін сәулесінің астында суретке түсті uvitec DBT-08 (Кембридж, Ұлыбритания).

### 2.3.3 Іріктелген штамның биологиялық қауіпсіздігін анықтау әдісі

Штамның патогендігін анықтау «Микробиология және вирусология ғылыми–өндірістік орталығы» ЖШС зертханасында «Микробиологиялық синтез өнімдерін алуға арналған микроорганизмдер штамдарының–продуценттерінің

вируленттілігін бағалау бойынша зерттеулер қою жөніндегі әдістемелік ұсынымдар», «Зерттеудің микробиологиялық және вирусологиялық әдістері бойынша анықтамалық» (М., 1982), МН 5789/1-91 «Қоршаған орта объектілерінде микроорганизмдер-продуценттер және олардың дайын формаларын қамтитын препараттардың ШРК эксперименталды негіздеуі бойынша әдістемелік нұсқаулар» (М.,1983), Биргер М.О. «Зерттеудің микробиологиялық және вирусологиялық әдістері бойынша анықтамалық» (М.,1982) сәйкес жүргізілді [216].

### 2.3.4 Өндірісте пайдалану мақсатында іріктелген штамнан құрғақ бактериальды концентратты дайындау әдісі

Құрғақ бактериялық концентратты (немесе лиофилизатты) дайындау микроорганизмдерді өміршеңдігі мен белсенділігін минималды жоғалтумен тұрақтандырылған күйде ұстауға мүмкіндік беретін процесс. Мұндай концентрат биотехнологиялық процестерде, ғылыми зерттеулерде немесе өндірістік мақсаттарда (мысалы, вакциналар, ферменттер, диеталық қоспалар және басқа да өнімдер өндірісінде) одан әрі қалпына келтіру және қолдану үшін қолданылады.

Құрғақ бактериялық концентрат технологиясының сипаттамасы

1. Микроорганизмдер культурасын таңдау және дайындау

Бірінші кезеңде концентратты дайындау үшін қолданылатын қолайлы бактериялық культураны таңдау керек. Әдетте пробиотикалық бактериялар немесе бактериялардың өнеркәсіптік штамдары сияқты лиофилизация (мұздату арқылы кептіру) процесіне жақсы төзетін микроорганизмдер таңдалады.

Бактерияларды өсіру: бактериялардың өсуіне оңтайлы жағдай жасайтын қоректік орталарда өсіріледі (мысалы, агарда немесе сорпалар немесе қоректік ерітінділер сияқты сұйық қоректік орталарда). Максималды биомасса алу үшін дұрыс параметрлерді (температура, pH және қоректік заттардың концентрациясы) сақтау маңызды.

2. Жасуша концентрациясы

Бұл кезеңде бактериялық дақылдардың лиофилизациядан бұрын жоғары тығыздығын алу үшін жасушалардың концентрациясы жасалады. Бұл әдетте центрифугалау арқылы жүзеге асырылады.

Центрифугалау: алынған бактериялық культура жасушаларды культура сұйықтығынан бөлу үшін центрифугаланады. Супернатант (сұйық фаза) алынып тасталады және жасушалардың (түйіршіктердің) шөгінділері кейінгі өңдеу үшін қолданылады.

3. Жасушаларды жуу

Центрифугалаудан кейін жасушалар кептіруден кейін бактериялардың сақталуы мен өміршеңдігіне әсер етуі мүмкін қоректік заттардың қалдықтарын, токсиндерді немесе басқа қоспаларды кетіру үшін стерильді тұзды ерітіндімен (мысалы, NaCl тұзды ерітіндісі немесе стерильді су) жуылады.

4. Қорғаныс матрицасын дайындау

Жасушаларды мұздату және кептіру кезінде пайда болатын зақымданудан қорғау үшін қорғаныс агенттері қолданылады (мысалы, глицерин, сахароза,

маннитол, альбумин, майсыздандырылған сүт). Бұл заттар жасушалардың мембраналарын сақтауға және олардың бұзылуына жол бермеуге көмектеседі

5. Мұздату (мұздату арқылы кептіру)

Лиофилизация-бұл бактериялар қатып, содан кейін жасушалардан су сұйық күйге өтпестен төмен қысыммен шығарылатын процесс (бұл процесс сублимация деп аталады).

Мұздату: дайындалған жасушалар -40°C немесе одан төмен температурада қатып қалады.

Кептіру: мұздатылған торлар кептіру процесі жүретін мұздатқышқа орналастырылады. Сублимация (мұздатылған фазадан судың буланууы) төмен қысым мен төмен температурада жүреді.

6. Орау және сақтау

Лиофилизация аяқталғаннан кейін дайын құрғақ бактериялық концентрат (лиофилизат) ампулалар немесе вакуумдық пакеттер сияқты герметикалық контейнерлерге салынады. Бұл ылғалдың, оттегінің және бактериялардың өміршеңдігіне әсер етуі мүмкін басқа факторлардың әсерінен қорғау үшін қажет.

Қаптаманың тығыздығы: қаптаманың тығыздалуы және өнімге ылғалдың түсуіне жол бермеу маңызды, себебі бұл жасушалардың бұзылуына және олардың өміршеңдігінің жоғалуына әкелуі мүмкін.

Сақтау: мұздатылған кептірілген бактериялық концентраттар ылғалдың әсерін болдырмайтын жағдайларда, төмен температурада (мысалы, -20°C-тан -80°C-қа дейінгі температурада) сақталады, бұл сақтау мерзімін едәуір ұзартуға мүмкіндік береді.

Құрғақ бактериялық концентратты дайындау процесі культураны, жасушаларды шоғырландыруды, қорғаныс агенттерін қосуды, мұздатуды және орауды қамтитын күрделі көп сатылы процесс. Әрбір кезең микроорганизмдердің өміршеңдігін сақтау және олардың ұзақ уақыт бойы тұрақтылығын қамтамасыз ету үшін маңызды. Құрғақ бактериялық концентраттар бактериялық дақылдарды ұзақ уақыт сақтау қажет ғылыми, медициналық және өндірістік салаларда кеңінен қолданылады.

### 2.3.5 Азықтың физика-химиялық көрсеткіштерін анықтау әдістері

Негізгі азыққа 4% , 5%, 6% мөлшердегі пробиотикалық препарат қоса отырып, азықтың сапасына әсері зерттелді. Азықтық ұнтақтардан сынамаларды алу мен талдауға дайындауды МЕМСТ 13496.0-2016 «Құрама жем, құрама жем шикізаты. Сынама алу әдісі» сәйкес жүргіздік. Шикі протеиннің салмақтық үлесін МЕМСТ 13496.4-2019 «Жем, құрама жем, құрама жем шикізаты. Азот пен шикі ақуызды анықтау әдістері». Шикі майдың массалық үлесін МЕМСТ 13496.15-2016 «Жем, құрама жем, құрама жем шикізаты. Шикі майдың массалық үлесін анықтау әдістері».

## 3 НӘТИЖЕЛЕР МЕН ТАЛҚЫЛАУЛАР

### 3.1 Сүт қышқылды бактериялардың таза дақылдарын бөліп алу және морфологиялық, биохимиялық қасиеттер нәтижелері

Сүт қышқылды микроорганизмдер жүз жылдан астам уақыт бойы зерттеушілер назарында. Сүт қышқыды микроорганизмдер түрлі табиғи қайнар көздері мен сүтқышқыл өнімдерінен бөлінетіні белгілі. Біздің зерттеуімізде сүт қышқылды бактерияларын бөліп алу көздері дәстүрлі ашытылған сүт өнімдері (бие сүті және қымыз).

Сүт қышқылды микроорганизмдердің морфо-физиологиялық құрамдық сипаты бар бие сүтінен «М» және қымыздан «К» 24 бактериялық изолят бөлініп алынды. Бие сүтінің төрт үлгілерінен 1М…11М изоляттары алынды. Алты қымыз сынамасынан 1К…13К изоляттары бөлініп алынды.

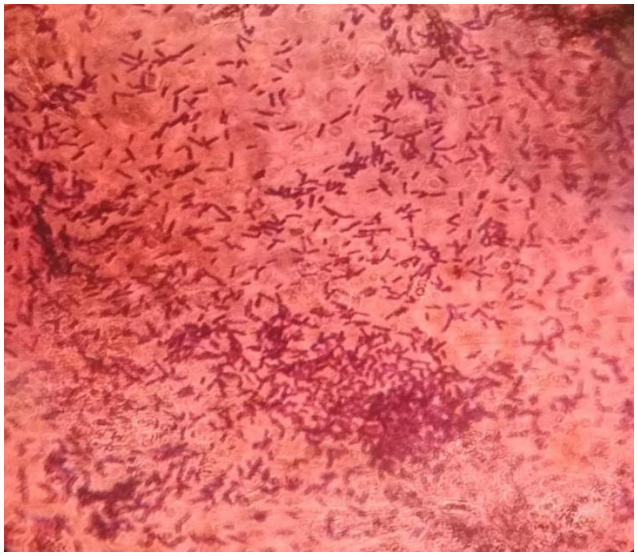
Кесте 4 – Бөлініп алынған штамдардың морфологиясы

| Штамм нөмерлері | Культуральды белгілері | Морфологиялық белгілері |
|---|---|---|
| 1М | колониялар кішкентай тегіс ағарту аймақтары бар | спора түзбейтін, грам - оң, қозғалмайтын, каталаза-теріс таяқшалар |
| 2 М | колониялар кішкентай тегіс ағарту аймақтары бар | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын, дөңгелек жиекті таяқшалар |
| 3 М | колония тегіс, ақ түсті | бір-біріне параллель орналасқан, сонымен қатар жұппен байланысқан грам - оң спора түзбейтін таяқшалар |
| 4 М | колониялар ұсақ нүктелі, беті тегіс ақ түсті | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын |
| 5 М | колония тегіс беті бар сарғыш түсті | бір-біріне параллель орналасқан грам - оң спора түзбейтін таяқшалар |
| 6 М | колониялар кішкентай тегіс ағарту аймақтары бар | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын, каталаза-теріс таяқшалар |
| 7 М | колония тегіс, ақ түсті | бір-біріне параллель орналасқан, сонымен қатар жұппен байланысқан грам - оң спора түзбейтін таяқшалар |
| 8 М | колониялар ұсақ нүктелі, беті тегіс ақ түсті | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын |
| 9 М | колония тегіс беті бар сарғыш түсті | бір-біріне параллель орналасқан грам - оң спора түзбейтін таяқшалар |
| 10 М | колониялар кішкентай тегіс ағарту аймақтары бар | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын, каталаза-теріс таяқшалар |
| 11 М | колониялар ұсақ нүктелі, беті тегіс ақ түсті | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын |

4-ші кестенің жалғасы

| | | |
|---|---|---|
| 1 К | колония тегіс беті бар сарғыш түсті | бір-біріне параллель орналасқан грам - оң спора түзбейтін таяқшалар |
| 2 К | колониялар ұсақ нүктелі, беті тегіс ақ түсті | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын |
| 3 К | колониялар кішкентай тегіс ағарту аймақтары бар | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын, каталаза-теріс таяқшалар |
| 4 К | колониялар ұсақ нүктелі, беті тегіс ақ түсті | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын |
| 5 К | колония тегіс беті бар сарғыш түсті | бір-біріне параллель орналасқан грам - оң спора түзбейтін таяқшалар |
| 6 К | колониялар кішкентай тегіс ағарту аймақтары бар | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын, каталаза-теріс таяқшалар |
| 7 К | колония тегіс беті бар сарғыш түсті | бір-біріне параллель орналасқан грам - оң спора түзбейтін таяқшалар |
| 8 К | колониялар кішкентай тегіс ағарту аймақтары бар | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын, каталаза-теріс таяқшалар |
| 9 К | колония тегіс беті бар сарғыш түсті | бір-біріне параллель орналасқан грам - оң спора түзбейтін таяқшалар |
| 10 К | колониялар кішкентай тегіс ағарту аймақтары бар | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын, таяқшалар |
| 11 К | колониялар ұсақ нүктелі, беті тегіс ақ түсті | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын |
| 12 К | колониялар кішкентай тегіс ағарту аймақтары бар | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын, каталаза-теріс таяқшалар |
| 13 К | колониялар ұсақ нүктелі, беті тегіс ақ түсті | спора түзбейтін, грам - оң қысқа, қозғалмайтын |



Сурет 3 – Сүт қышқылды микроорганизмдердің өсуі және микрофологиясы, микроскоп MOTIC BA 300 (үлкейтіп 20 х 100)

Барлық штамдардың биохимиялық сипаттамасы зерттелді. Штамдардың факультативті анаэробтар екені анықталды және барлығы Грам - оң, каталаза - теріс және қозғалмайтын, 2М, 3М, 6М, 7М, 11М және 3К, 7К, 9К, 10К, 11К жалғыз таяқша тәріді, Грам - оң және спора түзбейтін, қозғалмайтын, аэротөзімді болып келеді, сонымен қатар, каталазаға теріс әсер көрсетті. Жалпыға бірдей алынған тест негізінде изоляттар да туыстық қатынасы бойынша *Lactobacillus sp.* туысына жатқызылды.

Алынған зерттеу нәтижелері бойынша 1М, 4М, 5М, 8М, 9М, 10М және 1К, 2К, 4К, 5К, 6К, 8К, 12К, 13К кокк тәріздес құрайтыны анықталды. Олардың пішіндері негізінен жұптасқан күйінде және түрлі ұзындықты құрайтын қысқа шынжыр тәрізді болып келеді. Барлық зерттелген бактериялар жылжымайтын, грам оң және аэротөзімді. Өсу сипаттамалары бойынша штамдар *Lactococcus sp.* туысына жатқызылды.

3.1.1 Сүт қышқылды бактерияларының қышқыл түзу белсенділіктері

Сүт қышқылды бактерияларының ішінде қышқылға ең төзімді-асқазанның қышқылдық құрамына жеткілікті төзімділік дәрежесі бар лактобактериялар [214,215]. Микроорганизмдердің ең көп мөлшері тоқ ішекте байқалады. Төмен pH мәндеріне төзімділік пробиотикалық бактерияларға қойылатын талаптардың бірі болып табылады [216].

Бие сүтінен және қымыздан бөлініп алынған 24 штамдардың 17 сағаттық және 1 апталық қышқыл түзу белсенділігі майсызданған сүтте дақылдау арқылы лактобактериялардың жинақтау арқылы лактобактериялар мөлшерін Тернер әдісімен анықтадық. Бие сүтінен және қымыздан бөлініп алынған сүт қышқылды бактериялардың қышқыл түзу белсенділігін зерттеу нәтижелерін төмендегі кестеден көруге болады.



Сурет 4 – Лактобактериялардың қышқыл түзу белсенділігі

Кесте 5 – Қышқыл түзу белсенділігі [209]

| Реттік нөмері | Сүт қышқылды бактериялардың өндірістік штамдары | Бөлініп алынған өнім түрі | Қышқыл түзу белсенділігі, сағ | Белсенді қышқылдығы, ˚Т | Қышқыл түзу шегі, сүтте 1 аптадан кейін, ˚Т |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1М | Бие сүті | 12 | 130 | 180 |
| 2 | 2 М | | 8 | 110 | 220 |
| 3 | 3 М | | 7 | 110 | 240 |
| 4 | 4 М | | 7 | 110 | 180 |
| 5 | 5 М | | 16 | 130 | 220 |
| 6 | 6 М | | 9 | 110 | 210 |
| 7 | 7 М | | 7 | 110 | 240 |
| 8 | 8 М | | 15 | 110 | 220 |
| 9 | 9 М | | 8 | 110 | 240 |
| 10 | 10 М | | 7 | 110 | 240 |
| 11 | 11 М | | 7 | 110 | 240 |
| 12 | 1 К | Қымыз | 14 | 120 | 170 |
| 13 | 2 К | | 12 | 120 | 180 |
| 14 | 3 К | | 12 | 120 | 220 |
| 15 | 4 К | | 12 | 130 | 180 |
| 16 | 5 К | | 8 | 110 | 220 |
| 17 | 6 К | | 14 | 120 | 170 |
| 18 | 7 К | | 12 | 120 | 180 |
| 19 | 8 К | | 12 | 120 | 220 |
| 20 | 9 К | | 12 | 130 | 180 |
| 21 | 10 К | | 8 | 110 | 220 |
| 22 | 11 К | | 16 | 130 | 220 |
| 23 | 12 К | | 9 | 110 | 210 |
| 24 | 13 К | | 16 | 130 | 220 |

Қорыта келе, штамдар сүтті оптимальды температурада 16 сағат ішінде ұйыта алды. Сүтті біркелкі қойыртпақ түзу арқылы 3М, 4М, 10М, 11М, 5К және 10К штамдары 7-8 сағат ішінде ұйытып белсенді қышқылдығы $110^0$Т, ал шекті қышқылдығы (сүтте 5-7 тәулік дамығаннан кейін) 210-$240^0$Т көрсеткіш көрсетті.

3.1.2 Іріктелген сүт қышқылды бактериялардың pH4 және pH2 қышқылдық ортасына төзімділігі

Пробиотикалық өсінділер үшін ең маңызды қасиет, әртүрлі pH орталарға төзімділігі болып табылады. Зерттеу жұмыстары барысында өсінділердің қышқыл ортаға төзімділігі зерттелінді. Нақтылап айтсақ, қоректік ортаның pH4 және 2 кезіндегі өсінділердің өсу қабілеті зерттелінді. Нәтижелер қоректік ортаны визуальды көзбен тексеру және микроскопиялық тексеру арқылы жүргізілді.

Осылайша, асқазан сөліне ұшыраған кезде сүт қышқылды бактерияларының өмір сүруі маңызды фактор болып табылады. Содан кейін барлық штамдар 24 сағат өсіру кезінде әртүрлі pH мәндерінде (4 және 2) өміршеңдікке бағаланды. pH 4 кезінде 11 штамм өсті, оның 4 - і бие сүтінің үлгілерінен және 7-і қымыз

үлгілерінен бөлініп алынды. Алайда, 3 штамм 24 сағат ішінде pH 2-де өсе алмады. Тек 8 штамм (2M, 3M, 8M, 3K, 7K, 9K, 10K және 11K) pH 2 ($p \leqslant 0,05$) кезінде өсе алды. Зерттеуге сәйкес Azat et al. pH 3,0-де өмір сүру пробиотикалық штамдар үшін оңтайлы қышқылға төзімділік болып саналады. Нәтижелердегі айырмашылық штамдардың қышқылды реттеу механизмдері жасушаішілік pH-ны сақтай алмағандықтан және ішкі қышқылдану ферменттердің белсенділігін төмендетіп, белгілі бір ақуыздар мен ДНҚ-ны зақымдап, өлімге әкелуі мүмкін [217]. Алайда, осы зерттеуде потенциалды пробиотикалық штамдарды таңдау үшін қолданылатын pH мәні (2,0) өте селективті және қышқылға төзімділігі жоғары штамдардың бөлінуіне кепілдік береді. Бұл деректер біздің зерттеуімізде сыналған штамдардың қышқылға ең төзімді екенін және перспективалы пробиотикалық штамм ретінде пайдаланылуы мүмкін екенін көрсетеді.

Кесте 6 – Бөлініп алынған сүт қышқылды бактериялардың pH4 және pH2 қышқылдық ортасына төзімділігі

| № штамм | 0 сағат | | 3 сағат | | 24 сағат | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2 pH | 4 pH | 2 pH | 4 pH | 2 pH | 4 pH |
| 1M | - | 6,60 | - | 5,47 | - | 6,47 |
| 2 M | - | 6,81 | - | 6,39 | - | 6,17 |
| 3 M | - | 6,85 | - | 6,39 | - | 6,21 |
| 4 M | - | 6,61 | - | 6,3 | - | 6,49 |
| 5 M | - | 6,65 | - | 6,39 | - | 6,33 |
| 6 M | - | 4,78 | - | 4,36 | - | 2,81 |
| 7 M | - | 4,42 | - | 2,81 | - | 2,69 |
| 8 M | - | 5,25 | - | | - | 5,17 |
| 9 M | 4,40 | 7,79 | - | 4,84 | 3,81 | 3,17 |
| 10 M | 2,61 | 4,25 | 2,81 | 6,21 | - | 4,84 |
| 11 M | 3,18 | 4,25 | 2,81 | 6,21 | - | 4 |
| 1 K | 6,21 | 6,61 | - | 6,1 | - | 6,51 |
| 2 K | - | 6,47 | - | 6,54 | - | 6,44 |
| 3 K | - | 6,61 | - | 6,47 | - | 6,21 |
| 4 K | - | 6,21 | - | 5,30 | - | 5,49 |
| 5 K | - | 6,65 | - | 6,20 | - | 5,27 |
| 6 K | - | - | - | - | - | - |
| 7 K | - | - | - | - | - | - |
| 8 K | - | 3,25 | - | 2,81 | - | 3,17 |
| 9 K | - | - | - | | - | - |
| 10 K | 6,60 | 6,66 | 2,81 | 6,42 | 3,25 | 6,51 |
| 11 K | - | - | - | - | - | - |
| 12 K | 4,43 | 7,79 | - | 4,84 | 2,01 | 3,17 |
| 13 K | - | - | - | - | - | - |

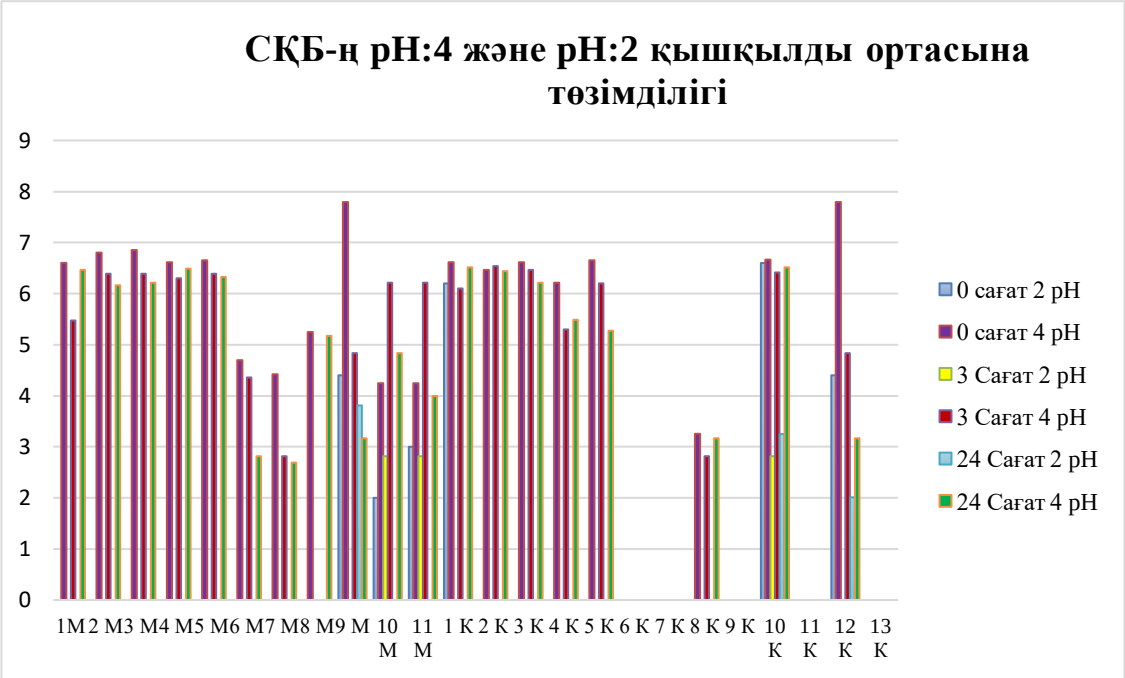



Диаграмма 1 – СҚБ-ң pH:4 және pH:2 қышқылды ортасына төзімділігі

3.1.3 Іріктелген сүт қышқылды бактериялардың өт тұздарына төзімділігі

Зерттеу сүт қышқылды бактериялардың өміршеңдігі мен функционалдылығына әсер ететін ас қорыту жүйесінің құрамдас бөлігі болып табылатын өтке қалай жауап беретінін түсінуге бағытталған. Адам ағзасындағы өт тұздарның концентрациясы орналасу орнына байланысты өзгеретіні белгілі және жеке ерекшеліктеріне байланысты болуы мүмкін. Өт қабатында өт тұздарының концентрациясы 0,2-0,6% аралығында болады. Өт он екі елі ішекке еніп, көптеген бактериялардың өліміне әкеледі, өйткені липидтер мен май қышқылдарынан тұратын жасуша мембраналары өт тұздарының ыдырауына өте сезімтал. Осыған байланысты пробиотикалық микроорганизмдердің тиімділігі олардың өт тұздарына төзімділігіне байланысты [219]. Сондықтан өт тұздарына төзімділік пробиотиктер ретінде қолдануға жарамды белсенді штамдарды таңдаудың маңызды критерийі ретінде жиі пайдаланылды [220].

Кесте 7 – Бөлініп алынған сүт қышқылды бактериялардың өт тұздарына төзімділігі

| № | № штамм | Өт тұздарына төзімділігі | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 0 сағат | 3 сағат | 24 сағат |
| 1 | 1М | 6,57 | 6,60 | 9,71 |
| 2 | 2 М | 4,69 | 4,51 | 7,60 |
| 3 | 3 М | 4,69 | 4,56 | 8,25 |
| 4 | 4 М | 4,66 | 4,44 | 8,11 |
| 5 | 5 М | 4,69 | 4,56 | 8,69 |

7-ші кестенің жалғасы

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Бутир қышқылы | 10 | Теңіз алабұғасы | Ішектің қабынуы | [137] |
| Натрий бутираты | 4 | Камбала | Иммунитетке байланысты гендердің экспрессиясы | [138] |
| Натрий бутираты | 20 | Ақ аяқты асшаяндар | Өсу, ақуыз тиімділігінің коэффициенті және ішек бактерияларының саны | [139] |
| Сірке қышқылды | 50 | Микижа | Асқорыту трактінің Рн, фосфордың сіңімділігі және геннің экспрессиясы | [140] |
| Натрий пропионаты | 5 | Сары жүзді теңіз суы | Өсу, жемді конверсиялау, қандағы гемоглобин және плазмадағы жалпы ақуыз | [141] |

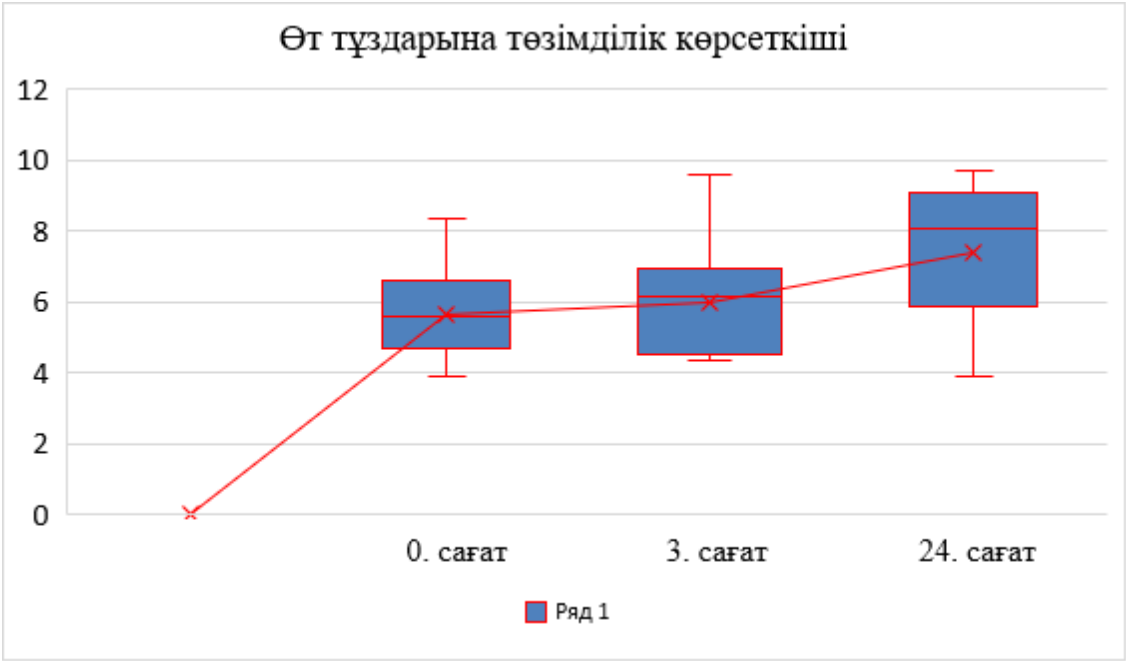



Диаграмма 2 – СҚБ Өт тұздарына төзімділік көрсеткіші

Барлық штамдар өттің 0,3% және 0,4%-дық тұздарына төзімді болды. Сонымен қатар, қышқылға төзімді 8 штамның ішінде 3М, 3К, 7К, 9К, 10К және 11К сияқты штамдар 0,5% өт төзімділігіне ие болды ($p \leqslant 0,05$).

## 3.2 Лактобактериялардың антибиотиктерге сезімталдық қасиеті

Сүт қышқылды бактерияларының антибиотиктерге қарсы сезімталдығы әртүрлі болуы мүмкін. Сондықтан таза дақылдарды таңдағанда олардың

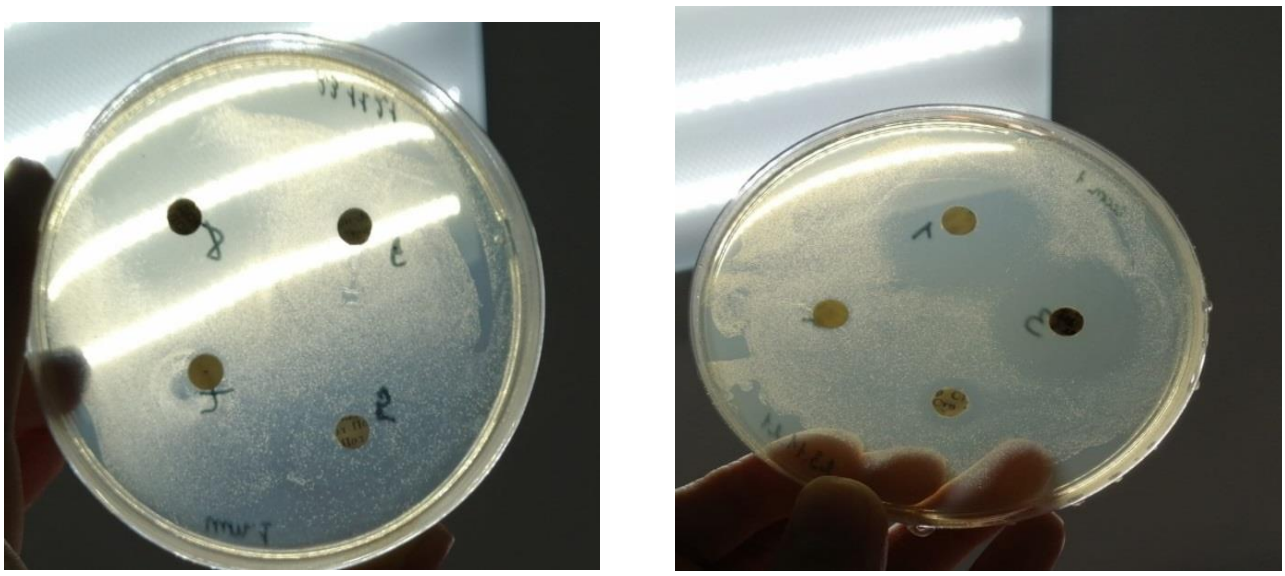
антибиотиктерге төзімділігін ескеру қажет. Антибиотиктер сүт қышқылды бактерияларының дамуына үлкен әсер етеді. Осыны ескере отырып, пробиотиктердің және олардың негізіндегі тағамдық өнімдердің құрамындағы микроорганизмдер культураларын таңдауда антибиотиктерге төзімділік сияқты қасиет маңызды рөл атқарады.

Микроорганизмдердің антибиотикке төзімділігі микробқа қарсы препараттардың тұрақты әсерімен өндіріледі. Қоздырғыштар (бактериялар, саңырауқұлақтар, вирустар және паразиттер) микробқа қарсы препараттарға (антибиотиктер, вирусқа қарсы және саңырауқұлаққа қарсы препараттар және басқа микробқа қарсы агенттер) тұрақты әсер ету арқылы төзімділікке ие болады [225,226].

Сүт қышқылды бактериялардың антибиотикалық сезімталдық қасиетін анықтау үшін левомицитин, неомицин, тетрациклин, стрептомицин, полимиксин, эритромицин, бензилпенициллин, доксициклин сияқты кең спекторлы антибиотиктерге төзімділіктері сыналды, резистенттілік аймағының өлшем бірлігі мм 8–ші кестеде көрсетілген.

Кесте 8 – Бөлініп алынған сүт қышқылды бактерияларының антибиотиктерге сезімталдығы

| Штамның нөмірі | Антибиотиктер, өсу аймақтары (мм) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Левомицитин 30 мкг | Неомицин 30 мкг | Тетрациклин 30 мкг | Стрептомицин 30мкг | Полимиксин 300ед. | Эритромицин 15мкг | Бензилпенициллин 10 ед. | Доксициклин |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 3М | 14,3 ±0,6 | 16,8 ±0,2 | 25,8 ±0,1 | 41,6 ±0,2 | 47,1 ±0,3 | 14,3 ±0,6 | 16,8 ±0,2 | 25,8 ±0,1 |
| 3К | 12,2 ±0,1 | 18,3 ±0,1 | 22,4 ±0,3 | 24,1 ±0,2 | 35,3 ±0,2 | 12,2 ±0,1 | 18,3 ±0,1 | 22,4 ±0,3 |
| 7К | - | 14,5 ±0,5 | 33,6 ±0,1 | 25,1 ±0,4 | 33,8 ±0,3 | - | 14,5 ±0,5 | 33,6 ±0,1 |
| 9К | 11,8 ±0,05 | 16,5 ±0,3 | - | 26,3 ±0,05 | 28,7 ±0,3 | 11,8 ±0,05 | 16,5 ±0,3 | - |
| 10К | - | 7,9 ±0,1 | - | 17,2 ±0,6 | 15,3 ±0,4 | - | 7,9 ±0,1 | - |
| 11К | - | - | - | 15,9 ±0,1 | 16,1 ±0,1 | - | - | - |
| *Ескерту:* басу аймақтары мм-мен өлшенді. нәтижелер үш көшірменің орташа мәні ± стандартты ауытқуы болып табылады (р ≤0,05). Мұндағы – өсу аймағы жоқ; | | | | | | | | |



Сурет 5 – Лактобактериялардың антибиотик дисктеріне қарсы қалыптастырған аймақтық диаметрін бағалау көрінісі

Біздің талдауымызда зерттелген келесі антибиотиктерге салыстырмалы түрде төзімді болды Эритромицинмен өсудің тежелуі келесі штамдарда байқалды: 3М, 3К, 7К. Тек 7К, 10К және 11К үш штамдары айтарлықтай қарсылық көрсетті ($p \leqslant 0,05$). Қысқаша айтқанда, 7К, 9К, 10К және 11К штамдары жоғарыда аталған антибиотиктерге төзімді болды.

### 3.3 Сүт қышқылды бактерияларының антогонистік белсенділігі

*Lactobacillus sp.* пен патогендердің антагонистік өзара әрекеттесуі осы штамдардың әртүрлі жұқпалы аурулардың алдын алу немесе емдеу және ішектің жалпы денсаулығын нығайту үшін потенциалды терапевтік қолданылуын көрсетеді. Дегенмен, тиімділігі *Lactobacillus sp*. нақты штамына және патогендік ағзалардың сипаттамаларына байланысты өзгеруі мүмкін.

Таңдалған изоляттарда агарға диффузиялық әдісімен антагонистік белсенділік зерттелді [223], бактериялық тест-культура ретінде : *Enterococcus faecalis, Aeromonas spp, Staphylococcus aureus, Escherichia coli (E.coli).* Бактериялық сынақтар ЕПА ортасында өсірілді. Дақылдар 37°С температурада 24 сағат бойы инкубацияланды.

Таңдалған сүт қышқылды бактерияларының бактериялық культураға қарсы антагонистік белсенділігі анықталды.

9-шы кестеде көрсетілген агар ұяшығының нәтижелері штамдардың барлық тексерілген коллонияларға қарсы елеулі антагонистік белсенділік танытқанын көрсетті, штамдар үшін тежеу аймағының диаметрі 7 мм-ден астам болды. Жеке штамдар арасында 2М тежеу аймағының диаметрі 5 мм-ден асатын жоғары антагонистік белсенділікті көрсетті. Керісінше, 8М штамы төмен антагонистік потенциалды көрсетті.



Сурет 6 – Лактобактериялардың антоганистік қасиеті

Кесте 9 – Бактериялық тест-культураларына қатысты сүт қышқылды бактерияларының бактерияға қарсы белсенділігі

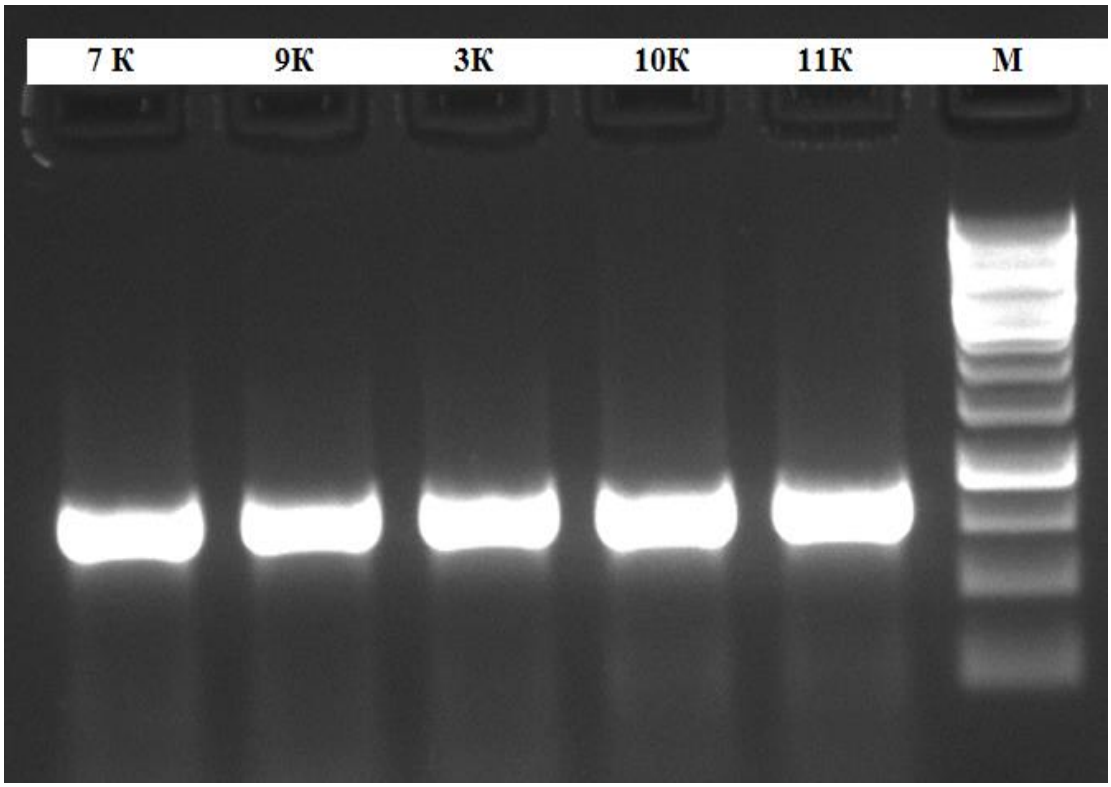
| Штамның нөмірі | *Enterococcus faecalis* | *Aeromonas spp.* | *Staphylococcus aureus* | *Escherichia coli (E. coli)* |
|---|---|---|---|---|
| 2М | - | 5,4 ±0,2 | - | - |
| 3М | - | 9,7 ±0,1 | - | 10,1 ±1,2 |
| 8М | - | - | - | 8,7 ±0,3 |
| 3К | 11,7 ±0,2 | - | 8,9 ±0,3 | - |
| 7К | 15,5 ±0,2 | 11,7 ±1,1 | 4,1 ±0,2 | 5,8 ±0,4 |
| 9К | 8,8 ±0,3 | 7,0 ±0,3 | - | 8,2 ±0,2 |
| 10К | 16,7 ±0,1 | 11,2 ±0,1 | 12,2 ±0,1 | 15,3 ±0,1 |
| 11К | 10,2 ±0,3 | 10,3 ±0,1 | 10,2 ±0,3 | 11,4 ±1,1 |
| *Ескерту:* «–» - өсу жоқ; (р ≤0,05). Тежеу аймақтары: 0 мм - нөлдік белсенділік; 1,0-4,9 мм - төмен белсенділік; 5,0-8,9 мм – орташа белсенділік; ≥ 9 мм – жоғары белсенділік | | | | |

Қортындылай келсек, 9-шы кестеде келтірілген нәтижелерден ең жоғарғы антоганистік белсенділікті 10К штамы *Escherichia coli (E. coli)* (15мм), *Staphylococcus aureus* (12мм), *Enterococcus faecalis* (11мм) және *Aeromonas spp.* (11мм) көрсетті. Ең айқын антагонистік қасиеттерге ие және оларды пробиотикалық штамдар ретінде пайдалану өте орынды деп қорытынды жасауға болады.

### 3.4 Пробиотикалық бактериялардың генетикалық талдауы және штамдардың генотиптік идентификациясы

Пробиотиктерге үміткер ретінде жоғары пробиотикалық тиімділігі бар бес сүт қышқылды бактериясы таңдалды. 16s сүт қышқылды бактерияларының

рРНҚ реттелген және анықталған. Молекулалық зерттеулер полимеразды тізбекті реакция (ПТР) әдісімен жүргізілді. 16s рРНҚ генінің фрагменті шамамен 600 б.з. д., алынған ДНҚ-дан ПТР әдісімен күшейтілді. Үлгілерді күшейту нәтижелері 7-ші суретте көрсетілген.




Сурет 7 – Гелэлектрофорез нәтижелері. Сүт қышқылды бактериялар штамдарынан бөлінген ДНҚ концентрациясы

Секвенирлеу реакциясынан кейін екінші ПТР өнімі секвенирлеу реакциясын тазарту үшін bigdye XTerminator Purification Kit жиынтығымен тазартылды.

Анықталған штамдардың 16s рРНҚ гендік тізбегі талданды және SeqaA (Applied Biosystems) бағдарламасында жалпы тізбекке біріктірілді. Ұзындығы шамамен 600 а.к. болатын тізбектер алынды.

Зерттелген штамдардың нуклеотидтік тізбегі және 16s рРНҚ гендік тізбегін филогенетикалық талдау нәтижелері MEGA6 бағдарламасында салынған ағаштар түрінде ұсынылған.

Диагностика нәтижелері :

3К – *Lactobacillus fermentum*

7К – *Lactobacillus fermentum*

9К– *Lactobacillus fermentum*

010К – *Lactobacillus paracasei*

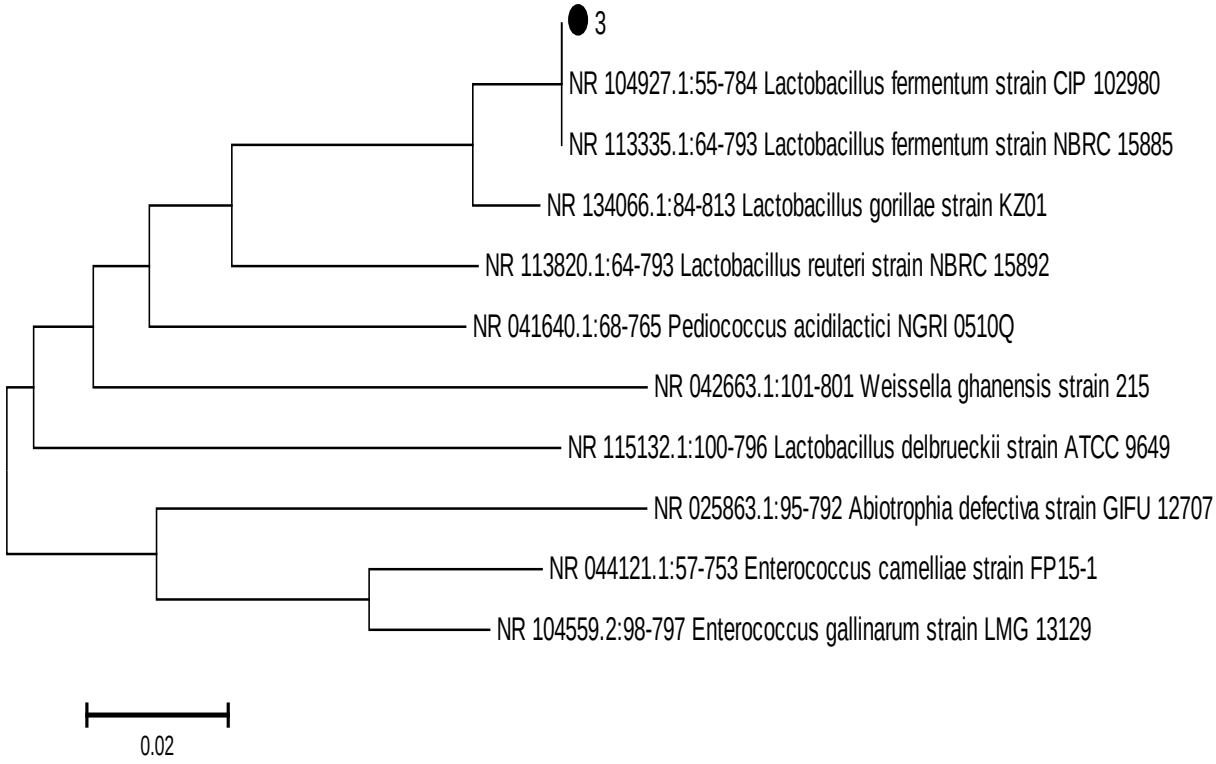
11К – *Lactobacillus paracasei*

Бие сүтімен қымыздан бөлініп алынған сүт қышқылды бактерияларының іріктелген филогенетикалық ағаштары төменде көрсетілген.

**3 – *Lactobacillus fermentum***

Нуклеотидтер тізбегі:

TGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGTGGCGGACGGGT
GAGTAACACGTAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACAACATTTGGAAA
CAGATGCTAATACCGCATAACAACGTTGTTCGCATGAACAACGCTTAAAA
GATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTT
GGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGA
CTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCCATACTCCTACGGGAGG
CAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACAC
CGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAG
AACACGTATGAGAGTAACTGTTCATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAG
TCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGC
GTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTC
TGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATA
ACTTGAGTGCAGAAGAGGGTAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATG
CGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTACCTGGTCTGC
AACTGACGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGA



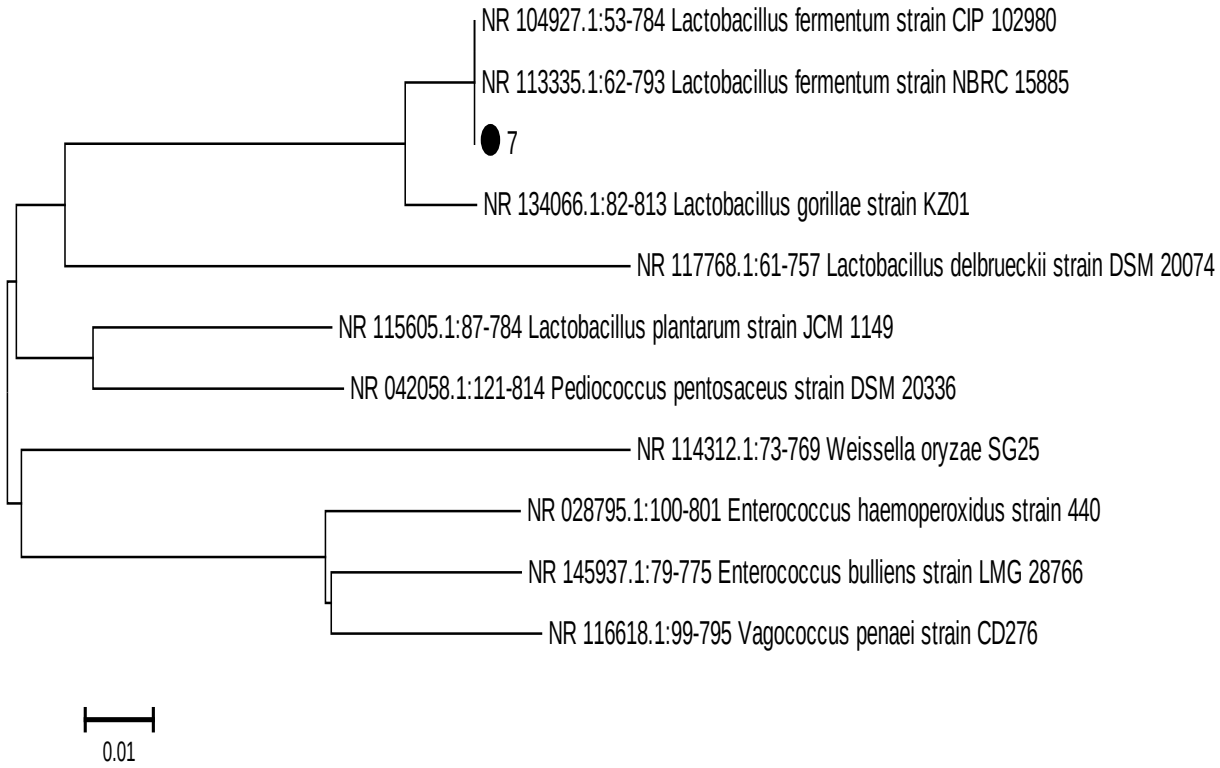

Сурет 8 – *Lactobacillus fermentum* –3 штамының филогенетикалық ағашы, негізгі 16s рДНҚ гендердің фрагменттік анализінің құрлуы

Молекулалық сәйкестендіру нәтижесінде 3 – *Lactobacillus fermentum* штамы NR 104927.1 штамымен гомология дәрежесі 100,00% ең жақын көрсеткіш көрсетті, бұл көрсеткіш микроорганизмді осы түрге жатқызуға мүмкіндік береді.

**7 – *Lactobacillus fermentum***

Нуклеотидтер тізбегі:

GGTGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGTGGCGGACGGGTGA
GTAACACGTAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACAACATTTGGAAACA
GATGCTAATACCGCATAACAACGTTGTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGA
TGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTTGG
TGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACT
GATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCCATACTCCTACGGGAGGCA
GCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCG
CGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAA
CACGTATGAGAGTAACTGTTCATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTC
ACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTT
ATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGA
TGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACT
TGAGTGCAGAAGAGGGTAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGT
AGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTACCTGGTCTGCAAC
TGACGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGA



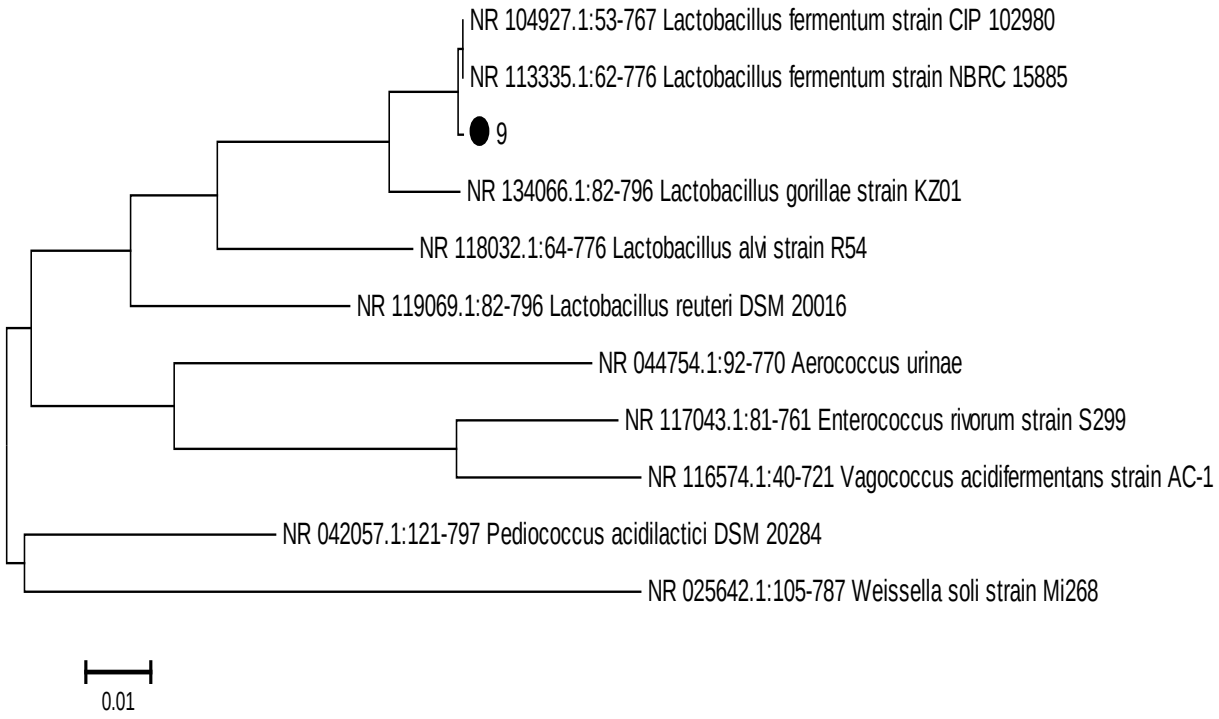

Сурет 9 – *Lactobacillus fermentum –7* штамының филогенетикалық ағашы, негізгі 16s rДНҚ гендердің фрагменттік анализінің құрлуы

Молекулалық сәйкестендіру нәтижесінде 7 – *Lactobacillus fermentum* штамы NR 113335.1 штамымен гомология дәрежесі ең жақын 99,86% көрсеткіш көрсетті, бұл көрсеткіш микроорганизмді осы түрге жатқызуға мүмкіндік береді.

**9 – *Lactobacillus fermentum***

Нуклеотидтер тізбегі:

GGTGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGTGGCGGACGGGTGA
GTAACACGTAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACAACATTTGGAAACA
GATGCTAATACCGCATAACAACGTTGTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGA
TGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTTGG
TGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACT
GATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCCATACTCCTACGGGAGGCA
GCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCG
CGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAA
CACGTATGAGAGTAACTGTTCATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTC
ACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTT
ATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGA
TGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACT
TGAGTGCAGAAGAGGGTAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGT
AGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGCCTGGTCTGCAAC
TGACGCTGAGACTCGAAAGC



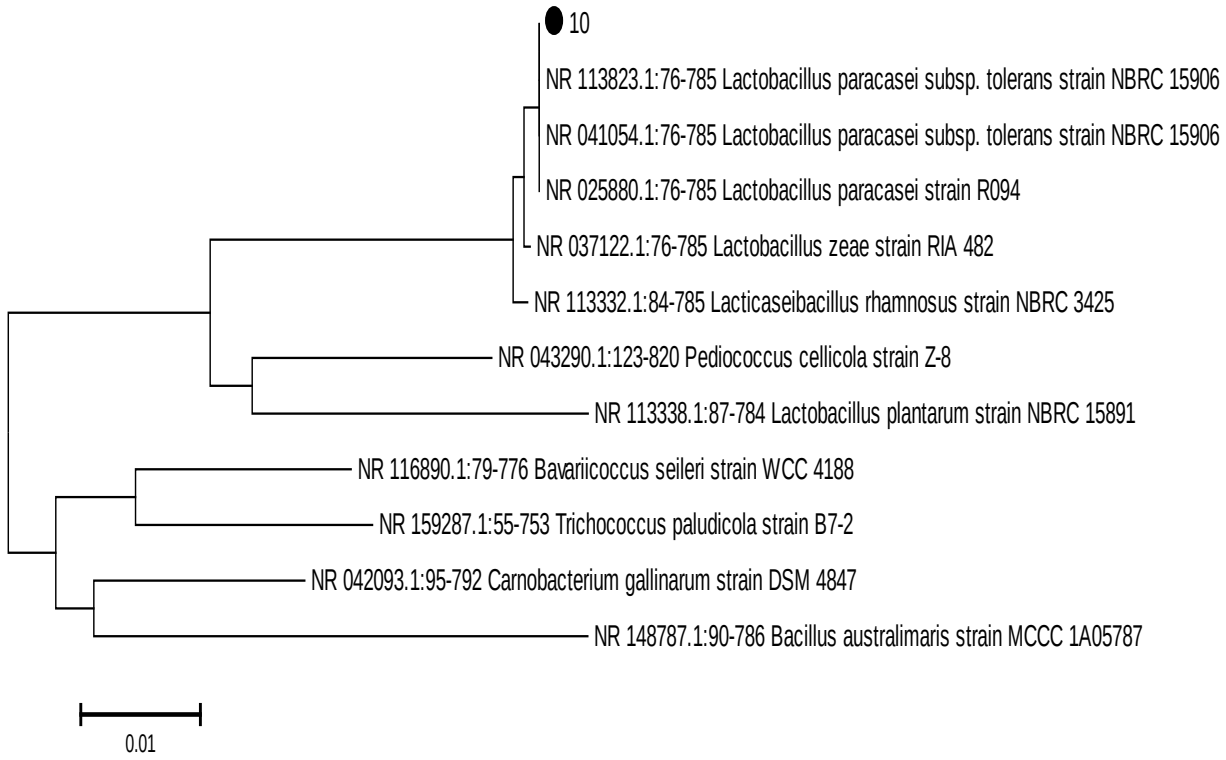

Сурет 10 – *Lactobacillus fermentum* – *9* штамының филогенетикалық ағашы, негізгі 16s рДНҚ гендердің фрагменттік анализінің құрлуы

Молекулалық сәйкестендіру нәтижесінде 9 – *Lactobacillus fermentum* штамы NR 113335.1штамымен гомология дәрежесі ең жақын 99,72% көрсеткіш көрсетті, бұл көрсеткіш микроорганизмді осы түрге жатқызуға мүмкіндік береді.

**10 – *Lactobacillus paracasei***

Нуклеотидтер тізбегі:

TCAACATGGAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGC
CCTTAAGTGGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAGATC
CAAGAACCGCATGGTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTTG
GATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGG
CGATGATACGTAGCCGAACTGAGAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGA
GACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAA
TGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCTTTCG
GGTCGTAAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAGAGTAACTGTTG
TCGGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGC
AGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTA
AAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAA
CCGAGGAAGCGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAG
TGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACC
AGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGC
ATGGGTAGCGAACAGGA



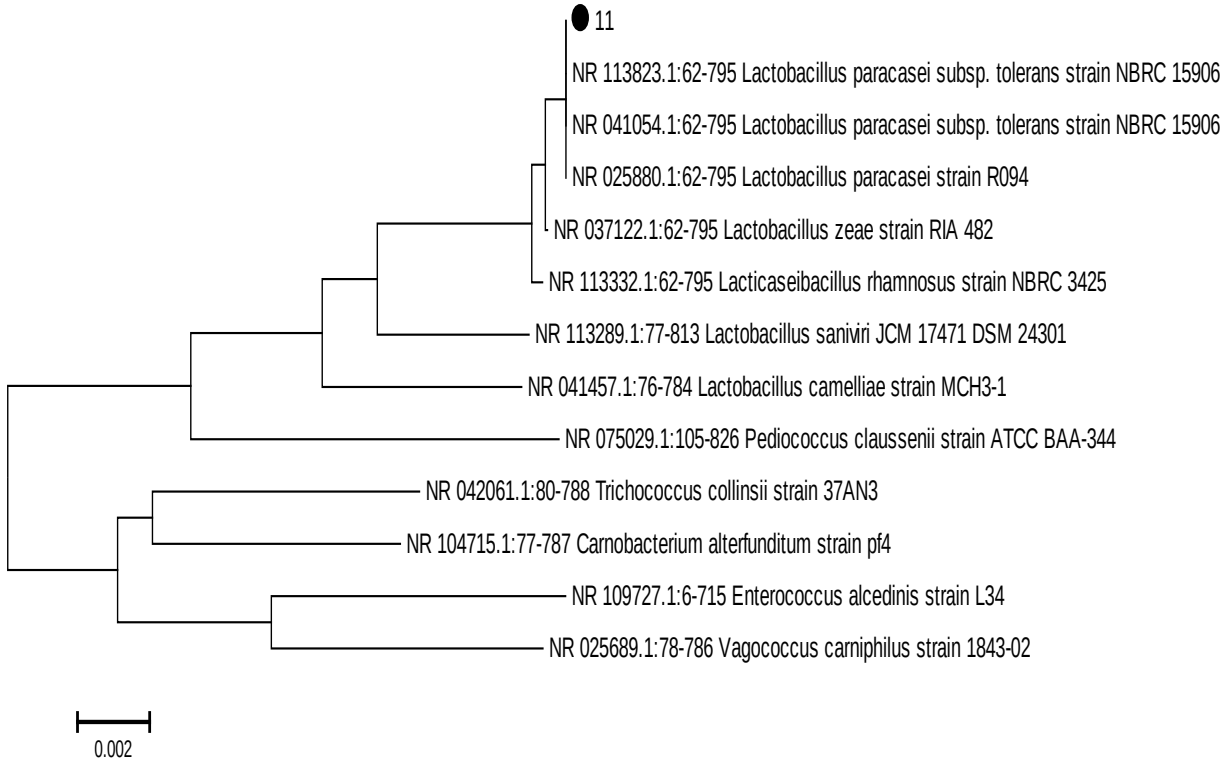

Сурет 11 – *Lactobacillus paracasei –10* штамының филогенетикалық ағашы, негізгі 16s rДНҚ гендердің фрагменттік анализінің құрлуы

Молекулалық сәйкестендіру нәтижесінде 10 – *Lactobacillus paracasei* штамы NR 113823.1штамымен гомология дәрежесі ең жақын 100,00% көрсеткіш көрсетті, бұл көрсеткіш микроорганизмді осы түрге жатқызуға мүмкіндік береді.

**11 – *Lactobacillus paracasei***

Нуклеотидтер тізбегі:

GCTTGCACCGAGATTCAACATGGAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACA
CGTGGGTAACCTGCCCTTAAGTGGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTA
ATACCGCATAGATCCAAGAACCGCATGGTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTA
AGCTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTA
ATGGCTCACCAAGGCGATGATACGTAGCCGAACTGAGAGGTTGATCGGC
CACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAG
GGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGT
GAAGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGG
CAGAGTAACTGTTGTCGGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTA
ACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGA
TTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAA
GCCCTCGGCTTAACCGAGGAAGCGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTG
CAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATAT
ATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACTGACGCT
GAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCC




Сурет 12 – *Lactobacillus paracasei – 11* штамының филогенетикалық ағашы, негізгі 16s rДНҚ гендердің фрагменттік анализінің құрлуы

Молекулалық сәйкестендіру нәтижесінде 11 – *Lactobacillus paracasei* штамы NR 113823.1 штамымен гомология дәрежесі ең жақын 100,00% көрсеткіш көрсетті, бұл көрсеткіш микроорганизмді осы түрге жатқызуға мүмкіндік береді.

## 3.5 Іріктелген штамның биологиялық қауіпсіздігін анықтау

Биотехнологиядағы өзекті биологиялық білім мен жетістіктерді пайдалану ауыл шаруашылығы секторын, ветеринарлық медицинаны, тамақ өнеркәсібін, денсаулық сақтауды фармакологияны және экожүйені басқаруды түбегейлі өзгертеді. Микробиологиядағы озық жаңалықтар мен гендік инженерияның инновациялық жетістіктері арқылы өнімділік сипаттамалары айтарлықтай жоғарылаған микроорганизмдердің ультра заманауи штамдарын жасауға мүмкіндік туды [228-231].

Мұндай дақылдарды өнеркәсіпке енгізу контекстінде негізгі аспект патогендік потенциалды, вируленттік қасиеттерді және аллергендік белсенділікті зерттеуді қамтитын олардың биологиялық қауіпсіздігін жан-жақты бағалау болып табылады [232-234].

Өнеркәсіптік микроорганизмдер үшін биоқауіпсіздікті қамтамасыз етудің жаһандық міндетінің пайда болуы штамдарды сертификаттау мен стандарттауды қамтитын заманауи нормативтік-құқықтық кеңістікті қалыптастыру қажеттілігіне байланысты. Бұл олардың өндірісте қолданылуын бақылау жүйелерін әзірлеуді, сондай-ақ осы бағыттағы әлемдік тәжірибені ескере отырып, реттеудің интеграцияланған моделін құруды қамтиды.

АҚШ ұлттық денсаулық сақтау институты, еуропалық Биотехнология Федерациясы (EuropaBio) және экономикалық ынтымақтастық және даму ұйымы (OECD) сияқты беделді ұйымдар әзірлеген микроорганизмдердің биоқауіпсіздік деңгейі бойынша халықаралық жіктелуі Биотехнология өнеркәсібіндегі микроорганизмдермен жұмысты реттеудің негізі болып табылады. Штамдардың ықтимал патогенділігін және олардың таксономиялық тиесілігін бағалауға негізделген бұл жүйе микроорганизмдерді 4 топқа бөледі – зиянсыз, аз қауіпті, орташа қауіпті және жоғары қауіпті микроорганизмдер.

Тамақ өнеркәсібінде немесе биологиялық препараттар ретінде қолданылатын пробиотикалық штамдардың қауіпсіздігін бағалау өте маңызды міндет болып табылады. Алайда, тіпті пробиотиктер үшін де қауіпсіздікті *in vitro* және in vivo зерттеулерінде мұқият бағалау қажет.

*In vitro потенциалды патогенділігін тексеру*: жұмыртқаның сарысы қосылған концентрацияланған қоректік ортадағы *in vitro* тәжірибелер (орталар сары агармен) және қанмен (орталарқан агарымен) штамм лецитиназа немесе гемолитикалық белсенділік белгілерін көрсетпейтінін көрсетті.

*Штамның уыттылығын сынау ( LD50*): *Lactobacillus paracasei* 010К штамының уыттылығын сынау $10^3$-тен $10^{11}$ CFU/см3-ке дейінгі концентрацияда сегіз жануарлар тобын (салмағы 16-18 г бес ақ тышқан) қолдана отырып, әдеттегідей жүргізілді (10–кесте).

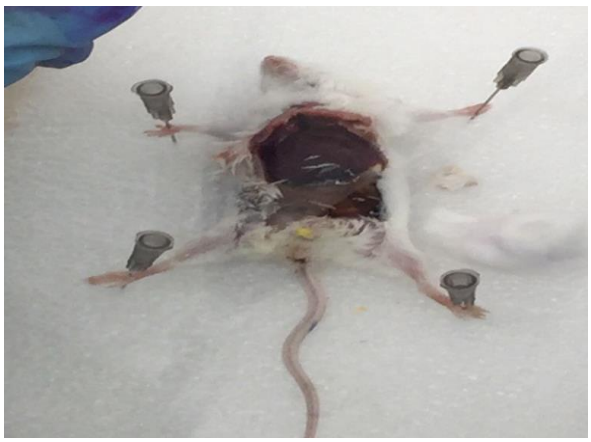
Кесте 10 – Штамның жіті уыттылығын зерттеу нәтижелері

| № | Тәжірибедегі жануарлар саны | Енгізу әдісі | КТБ/мл мөлшері | Ауруға шалдыққан жануарлар | Жануар–лардың шығымы | Аман қалған жануарлар |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | Құрсақ қуысы | $10^3$ | 0 | 0 | 5 |
| 2 | 5 | Құрсақ қуысы | $10^5$ | 0 | 0 | 5 |
| 3 | 5 | Құрсақ қуысы | $10^7$ | 0 | 0 | 5 |
| 4 | 5 | Құрсақ қуысы | $10^9$ | 0 | 0 | 5 |
| Бақылау | 5 | Құрсақ қуысы | Физ. ерітінді | 0 | 0 | 5 |
| 5 | 5 | Ауыз арқылы | $10^5$ | 0 | 0 | 5 |
| 6 | 5 | Ауыз арқылы | $10^7$ | 0 | 0 | 5 |
| 7 | 5 | Ауыз арқылы | $10^9$ | 0 | 0 | 5 |
| 8 | 5 | Ауыз арқылы | $10^{11}$ | 0 | 0 | 5 |
| Бақылау | 5 | Ауыз арқылы | Физ. ерітінді | 0 | 0 | 5 |

Тәжірибе нәтижелері көрсеткендей, құрсақ қуысы арқылы, сондай–ақ пероральді (ауыз арқылы) енгізу кезінде зерттеуге алынған штамның зерттелген дозалары тәжірибеге алынған жануарлардың өлімін тудырмады. Олардың барлығы белсенді және сау болды.

*Жануарлардың ішкі мүшелерін зерттеу кезінде морфологиялық сипаттағы өзгерістер тіркелді:* бауыр мінсіз тегіс беткі құрылымы бар қызыл қоңыр түске ие болды. Мидың және оның қыртысының құрылымы айқын көрінеді, күрделі көлемдік таралусыз консистенциясы бойынша жеңілдігімен ерекшеленеді; құрылымдарды бір-бірінен ажырату жабысқақтықтың болмауына байланысты қиындықсыз жүзеге асырылды.

*Жергілікті тітіркендіргіш әсері:* зерттелетін өсінділерді қояндардың көзінің коньюктивіне $1*10^9$ КТБ /см$^3$ дозасында енгізгенде, склера мен қасаң қабық тамырларының инъекциясы, сондай-ақ көздің бұрыштарындағы шырышты секрециялар түрінде көрінетін әлсіз оң реакция тіркелді. Бақылаудың екінші күнінде бұл құбылыстар барлық жануарларда толығымен жоғалып кетті, ал келесі 5 күн ішінде физиологиялық нормадан ауытқулар байқалмады. Осылайша, әлсіз зақымдануды тудыратын зерттелетін штамдар жергілікті тітіркендіргіш әсерге ие.




Сурет 13 – Ақ тышқан ішкі ағзаларының морфологиялық өзгерістерін бақылау барысы

*Сенсибилизациялық әсері бойынша аллергендік әсер:* орташа аллергендік дозаны белгілеу теңіз шошқаларында жүргізілді, онда зерттелетін өсінділер бір жануарға $10^3$ , $10^5$ , $10^7$ КТБ/см$^3$ мөлшерінде енгізілді. Бақылау ретінде физиологиялық ерітінді қолданылды. Реакцияны есепке алу 24 сағаттан кейін және 5 күн ішінде жүргізілді. Нәтиже келесі шкала бойынша баллмен бағаланды:

0–көрінетін реакция жоқ;

1–бүкіл аймақта немесе оның шетінде бозғылт қызғылт эритема;

2–бүкіл аймақта немесе оның шетінде ашық қызғылт эритема;

3–бүкіл қызыл эритема;

4–эритема болған немесе болмаған кезде терінің инфильтрациясы және ісінуі (тері қатпарының қалыңдауы);

5–эритема, айқын инфильтрация, фокальды жаралар (некроз), геморрагиялар, қыртыстардың пайда болуы мүмкін.

Біздің тәжірибемізде – 0 балл, ешқандай реакция жоқ. Осылайша, зерттелген штамм іс жүзінде аллергиялық емес деп танылды.

Пробиотикалық мақсатта ұсынылып отырған *Lactobacillus paracasei* – 010К штамының патогенділік және жағымсыз әсерлерінің сипатын зерттеу негізінде микрорганизмдердің қауіпсіздігіне бағалау жүргізілді. Бұл жұмыста аталған штамм өсінділік–морфологиялық ерекшеліктері, *in vitro* жағдайында потенциальды-патогенді белгілерін анықтау аллергендік әрекетін зерттеу нәтижелері ұсынылған.

Штамның жіктелуіне сәйкес (Микроорганизмдер продуценттердің, бактериялық препараттардың және олардың компоненттерінің жұмыс аймағының ауасындағы шекті рұқсат етілген концентрациясы (ШРК) ГН 2.2.6.709–98 Гигиеналық нормативтері) аталған белсенді штамм қауіптіліктің 4–класына жатқызылды (ҚОСЫМША Ә).

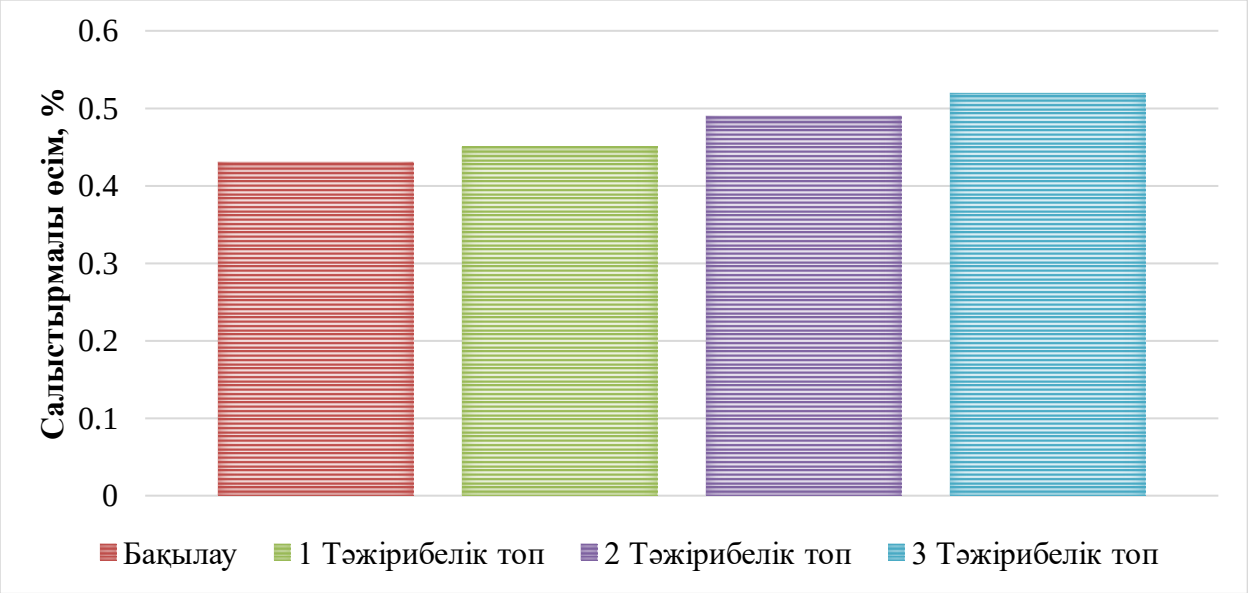
Біз токсикологиялық көрсеткіштерді бағалау үшін *Lactobacillus paracasei* – 010К штамының он ақ тышқанның массалық көрсеткіштеріне әсерін зерттедік, зерттеу нәтижелері 11-кестеде келтірілген. Жұмыс нәтижелері бойынша *Lactobacillus paracasei* - 010К штамының барлық пайдаланылған концентрациялары үшін уыттылық анықталған жоқ. Эксперимент соңында барлық тышқандар тірі қалды және олардың күйінде физиологиялық ауытқулар

байқалмады. Эксперимент барысында тышқандардың тірі салмағындағы орташа айырмашылық 0,1 г құрады, ал зерттеу аяқталғаннан кейін үшінші топтағы тышқандардың орташа салмағы 29,2±0,5 г, төртінші топта 29,4±0,4 г ($p<0,05$) болды. Сонымен қатар, *Lactobacillus paracasei* – 010К штамы қолданылмаған бақылау тобындағы тышқандардың орташа салмағы 28,3±0,8 г құрады. осылайша, эксперимент нәтижелері үшінші және төртінші топтардағы ақ тышқандардың бақылау тобымен салыстырғанда орташа салмағы жоғары екенін көрсетті.

Кесте 11 – *Lactobacillus paracasei* – 010К штамының тышқандардың салмақ көрсеткіштеріне әсері

| Топтар | Орташа тірі салмақ, г | | Өсім | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Бастапқы | Соңғы | Абсолюттік өсім, г | Орташа тәуліктік өсім, г | Салыстырмалы өсім, г |
| Бақылау | 2,2±0,6 | 28,3±0,8 | 6,1±0,2 | 0,43±0,01 | 2,2±0,6 |
| 1 Тәжірибелік топ | 22,1±0,7 | 28,4±0,7 | 6,3±0,1 | 0,45±0,01 | 22,1±0,7 |
| 2 Тәжірибелік топ | 22,3±0,6 | 29,2±0,5 | 6,9±0,2 | 0,49±0,01 | 22,3±0,6 |
| 3 Тәжірибелік топ | 22,1±0,6 | 29,4±0,4 | 7,3±0,2* | 0,52±0,01 | 22,1±0,6 |
| **Ескерту: p<0,05.** | | | | | |

Бақылау тобындағы орташа абсолюттік өсім 6,1±0,2 г, бірінші тәжірибелік топта 6,3±0,1 г, екінші тәжірибелік топта 6,9±0,2 г, үшінші тәжірибелік топта 7,3±0,2 г ($p<0,05$) құрады [233].




Сурет 14 – Тышқандардың салыстырмалы өсім көрсеткіштері, %

Суретте көрсетілгедей салыстырмалы өсім көрсеткіштері бақылау тобында 0,43±0,01% болса, 1 тәжірибелік топта 0,45±0,01%, 2 тәжірибелік топта 0,49±0,01% және 3 тәжірибелік топта 0,52±0,01% болды. Тәжірибелік топтардың өсімі бақылау тобына қарағанда жоғары, бұл эксперименттік жағдайлардың тиімділігін көрсетеді. Осыған ұқсас нәтижелер Н.А.Табаковтың зерттеулерінде де алынған, жұмысында зертханалық тышқандарды минералды элементтер қосылған азықтық қоспасымен қоректендіру кезінде бақылау тобымен салыстырғанда тышқандардың тәжірибелік топтарының салмағы едәуір артқан және азықтық қоспа тышқандардың физиологиялық жай–күйлеріне кері әсерін тигізбеген [234].

### 3.6 *Lactobacillus paracasei* – 010К штамын депонирлеу және АҚШ GENBANK деректер базасына енгізу нәтижелері

Қазіргі таңда коллекциялық орталықтарда микроорганизмдерді сақтау тәжірибесі бүкіл әлемде танымал. Депонирлеу үлгілерін тіркеу, сақтау және беру үшін микроорганизмдердің коллекцияға берілуін түсінеді. Депонирлеудің мақсаты депозиторлардың құқықтарын сақтай отырып, олардың ғылыми қоғамдастыққа қолжетімділігін қамтамасыз ету үшін табиғи көздерден бөлініп алынған немесе ғылыми қызмет процесінде зерттеушілер құрған микроорганизмдердің ең құнды штамдарының танылған коллекцияларын сақтау болып табылады.

*Lactobacillus paracasei* – 010К штамы РМК «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясы» орталық мұражайында B-RKM1009 коллекциялық нөмірмен тіркелген (ҚОСЫМША Б).

Ұлттық денсаулық сақтау институтының Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы (NSBI) құрамына кіретін АҚШ GENBANK деректер базасына енгізілді https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide. Сәйкестендірілу нөмері: PV523901.1 (ҚОСЫМША В).

### 3.7 Өндірісте ұтымды пайдалану мақсатында іріктелген штамның құрғақ бактериальды белсенді композициясын құрастыру

Кептірілген бактериялық концентраттарды дайындау процесі келесі кезеңдерді қамтиды: сүт қышқылды бактериялары мен ашытқы микроорганизмдерін өсіру, бактериялық биомассаны жинау, жасуша сұйықтықтарын кептіру, бактериялық өнімдерді кептіру.

Бактериялық препараттарды өндіру технологиясын талдау келесі кезеңдердің дамуына негіз болатын алғашқы – базалық кезеңдерді жетілдіру перспективалы екенін көрсетті. Сондықтан микроорганизмдердің биомассасының жинақталу кезеңі маңызды, оның тиімділігі көбінесе өсіру жағдайларына және штамның белсенділігіне байланысты.

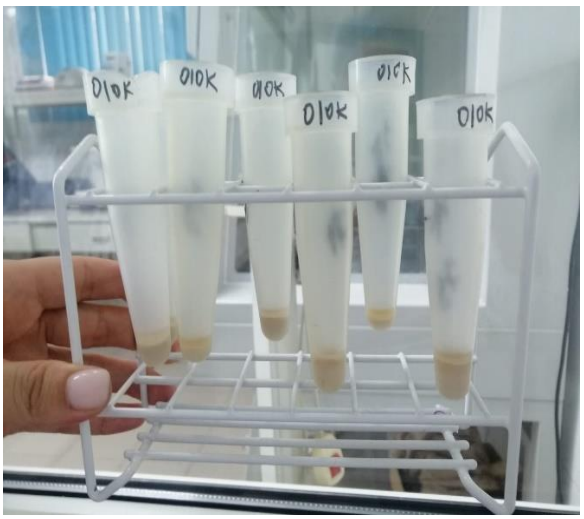
Бактериялардың өсуін күшейтудің ең көп таралған әдістерінің бірі-қоректік ортаның құрамын оңтайландыру. Бактериялық препаратты стандартты

өсіру ортасын қолдану арқылы дайындау керек. Сүт қышқылды бактерияларды яғни, *Lactobacillus paracasei* – 010К штамын өсіру үшін MRS қоректік ортасы қолданылды.

Бактериялық препараттарды қабылдаудың келесі қажетті кезеңі-биомассаны культуралық ортадан бөлу. Осы мақсатта бактофуггар қолданылады. Бұл жағдайда бактериялық жасушалардың культуралық сұйықтықтан бөлінуінің әсері жасушалардың пішінімен, қоректік ортаның тығыздығымен, бактериялардың бөліну режимімен анықталады. Алынған препараттардың белсенділігіне және олардың тұрақтылығына, жасушаларды бөлу алдында өсіру ұзақтығына айтарлықтай әсер етеді.

Бифидобактериялардың белсенділігі мен өміршеңдігін ынталандыру үшін биологиялық құнды заттармен кешенде тұратын табиғи тағамдық талшықтарды қолдану бактериялық концентраттың пробиотикалық қасиеттерін және технологиялық өңдеу мен ұзақ сақтау кезінде олардың тұрақтылығын арттыруға мүмкіндік береді. Соған орай, алынған бактериялық массаны 1:1 қатынасында қорғаныш қоректік ортасымен араластырдық.






Сурет 15 – *Lactobacillus paracasei* – 010К центрифугалау және биомасса алу кезеңі

Алынған сүт қышқылды бактерияның сұйық ерітіндісін кептіреді. Ол үшін 6-8 мм болатын құтыға 2 $см^3$ –ден өлшеп орайды. Суспензияны сублимациялық кептіруге арналған қондырғыда алдымен төменгі теріс – 35– (–45)°С температурада, қайта кептіру оң – 35– (45)°С температурада жүргізілді. Суспензияны кептіру ұзақтығы науаларда – 6–12 сағат, құтыларды 24–42 сағат.

Концентраттың 1 граммы 150–ден 300 млрд дейін клеткалардан тұрады. Ылғалдылықтың массалық үлесі 3,5% –дан аспауы қажет. 1 г–да 10 жасушадан аспайтын бөгде патогенді емес микрофлораның болуына жол беріледі.

Лиофилизация (құрғақ кептіру)

Бактерияларды ұзақ уақыт сақтаудың ең тиімді әдісі — лиофилизация (немесе мұздатылып кептіру). Бұл процесс бактерияларды өте төмен температурада мұздатып, кейін вакуумда су буын алып тастау арқылы

жүргізіледі. Лиофилизация бактериялар клеткаларының құрылымын сақтап, олардың өміршеңдігін қамтамасыз етеді.

Лиофилизацияның артықшылықтары:

- Құрғақ күйде бактериялардың белсенділігі жоғары сақталады.
- Ұзақ уақыт сақтауға мүмкіндік береді.
- Көліктеу мен сақтау кезінде температура өзгерістеріне төзімді.Осы орайда әлемдік зерттеу жұмыстарының нәтижелеріне сүйене отырып, сүт қышқылды бактериялар үшін қорғаныш орта ретінде майсыздандырылған сүт қолданылды.

LyoBeta мұздатқыш кептіргіш эксперименттік, биологиялық, фармацевтикалық және азық-түлік зерттеулерінде және «масштабын ұлғайту» жұмыстарында қолдануға, сондай-ақ ғылыми орталықтарда технологиялар трансфертін жеңілдетуге арналған. GLP (Good Laboratory Practice) дизайны бар жоғары өнімді құрылғы LyoBeta барлық процесс қадамдарын дәл бақылау арқылы лиофилизация процесін толығымен автоматты түрде жүргізуге мүмкіндік береді.




Сурет 16– LyoBeta, лиофилизаторы

Лиофилизация жұмыстары Lyobeta – 4 ps, Испания қондырғысында төмендегі 12-ші кестеде көрсетілген режимде жүргізілді.

Кесте 12 – Жүргізілген лиофилизация үрдісінің режимі

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 01 | Мұздату | –50 С | | 7:0 мин |
| 02 | Бастапқы кептіру | –30 | 300 | 7:0 |
| 03 | Бастапқы кептіру | –30 | 500 | 3:0 |
| 04 | Екіншілік кептіру | 40,0 | | 7:0 |
| 05 | Екіншілік кептіру | 37,0 | | 6:30 |

№ 1 үлгі: *Lactobacillus paracasei* – 010К 1:1 қатынасында қорғаныш ортасы ретінде қолданылып отырған майсыздандырылған сүтте егілді.

№ 2 үлгі: *Lactobacillus paracasei* – 010К, *Torulopsis sphaeerica* – 105k штамдарының 1:1 қатынасында қорғаныш ортасы ретінде қолданылып отырған майсыздандырылған сүтте егілді, себебі бактерияларды лиофильді кептіру процесінде қажетті қоректік заттарды сақтауын қамтамасыз етіп, олардың тіршілігін ұзақ уақытқа сақтауға мүмкіндік береді.

Зерттеу жұмысы Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университетінің, «Микробиоценоз және пробиотиктерді құрастыру» ғылыми–зерттеу зертханасында жүргізілді.

Құрғақ пробиотикалық препараттарды әзірлеуде қолданылатын штамдардың биологиялық және техникалық сипаттамаларын кешенді салыстырмалы зерттеу негізінде бірінші үлгідегі *Lactobacillus paracasei* - 010К штамынан тұратын биологиялық препарат және екінші үлгідегі *Lactobacillus paracasei* - 010К мен *Torulopsi ssphaerica*-105К штамдары бар бактериялық құраммен біріктірілген пробиотикалық препараттың эксперименттік рецептурасы әзірленді. Бұл жағдайда негізгі критерий бір қоректік ортадағы белсенді штамдардың өміршеңдігі болды.

Кесте 13 – Құрастырылған биологиялық препараттардың сапалық көрсеткіштері

| Тәжірибелік сынамалар | Көрсеткіштер атауы | Тәжірибе нәтижесі |
|---|---|---|
| № 1 үлгі | Өміршең клеткалардың саны, млн,кл:<br>*Lactobacillus paracasei* – 010К | 3,1±0,2 |
| | Бөтен микрофлорамен | ластануы жоқ |
| | Антагонистік белсенділігі | жоғары |
| № 2 үлгі | Өміршең клеткалардың саны, млн,кл:<br>*Lactobacillus paracasei* – 010К,<br>*Torulopsis sphaeerica* – 105k | <br><br>3,4±0,2<br>4,2±0,2 |
| | Бөтен микрофлорамен | ластануы жоқ |
| | Антагонистік белсенділігі | жоғары |

Нәтижелер ұсынылған қоректік ортаның сүт қышқылды бактериялары өсуіне айтарлықтай ынталандырушы әсер ететінін көрсетеді, осылайша олардың өнімділігі мен ұзақ мерзімді сақтау кезінде өмір сүруін арттырады.

ҚР №7343 «Ауыл шаруашылығы жануарларының, құстардың және балықтардың асқазан-ішек ауруларының алдын алуға және емдеуге арналған пробиотикалық препаратты алу үшін пайдаланылатын *Lactobacillus paracasei* – 010К сүт қышқылды бактерияларының штамы» пайдалы модельге патент алынды (ҚОСЫМША Г).

ҚР №36625 «Балықтың өсуін ынталандыруға, ауруларын алдын алуға және емдеуге арналған пробиотикалық препарат» өнертабысқа патент алынды (ҚОСЫМША Ғ).

### 3.8 Биологиялық препараттар қосылған азықтың физика-химиялық көрсеткіштерін анықтау

Балықтарға арналған жасанды құрама азық өндірісі қазіргі заманғы балық өсіруде негізгі сипатқа ие болуда, өйткені өнеркәсіптік аквакультурада балықты азықтандыру маңызды технологиялық элемент болып табылады [236-238].

Біздің зерттеу жұмысымыздың қойылған міндеттеріне сәйкес пробиотикалық препарат қосылған азықтық ұнтақтардың тәжірибелік үлгілерінің физика-химиялық қасиеттері зерттелінді. Жұмыстың барысында негізгі азыққа 4%, 5%, 6% мөлшердегі пробиотикалық препарат қоса отырып азықтын сапасын көрсеткішін зерттедік. Азықтық ұнтақтар, соның ішінде ұнтаққа пробиотикалық препараттың әртүрлі мөлшері қосылған тәжірибелік үлгілері мен бақылау тобының нәтижелері төменгі кестеде берілген.

Құрама азықтардың сапасы, сондай-ақ олардың құрамы, тепе – теңдігі, азықтандыру технологиясының ерекшеліктері балық өсірудің маңызды биологиялық көрсеткіштеріне-өсіп келе жатқан кезеңдегі балықтардың өмір сүруіне (әсіресе шабақ өсіру кезеңінде), өсу жылдамдығына, жаппай жинақталуына және жалпы физиологиялық жағдайына айтарлықтай әсер етеді [239].

Негізгі құрама азыққа қосымша компонент ретінде әртүрлі азықтық қоспаларды, атап айтқанда екі үлгідегі биологиялық препараттарды қолдану балық ағзасына ынталандырушы әсер етеді.

Бұл пробиотиктерді тилапия балықтарының азықтық рационында қолдану өте маңызды, өйткені бұл заттар дамудың алғашқы кезеңдерінде жасанды құрама азықты тұтынуға тез бейімделуге ықпал етеді.

Кесте 14 – Пробиотикалық препарат қосылған балық азығының физика-химиялық көрсеткіштері

| Көрсеткіштер | Бақылау және тәжірибелік топтар | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Бақылау | 1 үлгі | | | 2 үлгі | | |
| | | 4% | 5% | 6% | 4% | 5% | 6% |
| Ылғал, % | 7,4 | 7,2 | 7,2 | 7,1 | 7,1 | 7,0 | 7,0 |
| Ақуыз, % | 39,7 | 4,0 | 4,4 | 40,6 | 41,0 | 41,3 | 41,4 |
| Май, % | 5,8 | 6,9 | 7,0 | 7,1 | 7,3 | 7,5 | 7,6 |
| Күл, % | 6,2 | 6,7 | 6,7 | 6,8 | 7,0 | 7,1 | 7,4 |

14 кестедегі берілген мәлімет бойынша екі үлгідегі биологиялық препараттар қосылған азық үлгілерінің түсі қоңыр мен қоңыр-сары аралығанда

болды. Азыққа қосылған тәжірибелік топтарындағы ақуыздың мөлшері бақылау тобында 39,7%, ал тәжірибелік топта ақуыз мөлшерінің 41,7% өскендігін байқап отырмыз.



а) ALLER PERFORMA 2 мм ақуызы жоғары құрама жем;

б) ALLER PERFORMA 2 мм ақуызы жоғары құрама жем және пробиотикалық препарат;

Сурет 17 – Құрама жем түрлері

### 3.9 Дайын биологиялық препараттардың тилапия балықтарының биологиялық көрсеткіштеріне әсері

Дайын биологиялық препараттардың әсерін "TENGRY FISH" жауапкершілігі шектеулі серіктесінде жүргізілді.

Құрама азық рецептурасын әзірлеудегі негізгі міндеттер өнімнің қасиеттерін арттыру, арзандату, тапшы немесе қымбат компоненттерді дәстүрлі емес шикізатпен алмастыру арқылы оларды жетілдіру болып табылады.

Сондықтан балық өсіру кезінде қымбат азықтың орнына сүт қышқылды бактериялары мен ашытқыларға негізделген пробиотиктерді қолдану мүмкіндігін зерттеу қызығушылық тудырды.

Ол үшін 100 литрлік аквариумдар қолданылды.

Зерттеуге арналған материал тилапия орташа салмағы 23 грамм. болатын ағынды емес, су температурасы 26–28º С аквариумдарда ұсталып, стандартты азықмен азықтандырылды. Бейімделуден кейін балықтар үш топқа бөлінді: екі тәжірибелі және бақылау, әр топта 50 балықты құрады.

Зерттеу барысында келесі көрсеткіштер зерттелді:

– балық санының сақталуы;

– тәжірибенің басында және тәжірибенің соңында тірі массасы;

– абсолютті өсім, абсолютті орташа тәуліктік өсім.

Тәжірибелі топтардың балықтары күнделікті рационның жалпы көлемінен 5% пробиотиктерді азықпен бірге, ал бақылау тобындағы балықтар тек азық алды. Тәжірибенің ұзақтығы бір айды құрады.

Дайындалған азықтар бөлме температурасында кептірілген, полиэтилен пакеттерге салынған және тәжірибелік балықтарды азықтандыру алдында микроорганизмдердің өміршеңдігін сақтау үшін 4°С температурада салқындатылды. Зерттеу кезінде тәжірибелік кезең азықтарда пробиотиктердің жоғары деңгейі сақталуын қамтамасыз ету үшін әр апта сайын жаңа азықтар дайындалды. Жалпы балық биомассасының 5% мөлшерінде күніне 5 рет қолмен тамақтандырылды. Аптасына 2 рет нәжіс пен тамақ қалдықтарын кетіру арқылы суды техникалық ауыстыру жүргізілді. Балықтарды азықтандыру үшін ALLER PERFORMA 2 мм (Польша) ақуызы жоғары құрама жем қолданылды.

1– бақылау тобы - негізгі рационды қабылдады;

2– 1 үлгі - негізгі рацион + *Lactobacillus paracasei* – 010К;

3– 2 үлгі - негізгі рацион + *Lactobacillus paracasei* – 010К+ *Torulopsis sphaeerica* – 105k.

Кесте 15 – Зерттеу схемасы

| № | Зерттеу түрі | Азықтандыру түрі | Балық саны |
|---|---|---|---|
| 1 | Бақылау тобы | 100% НА | 50 |
| 2 | Тәжірибелік топ | 95% НА + 5% бірінші үлгі | 50 |
| 3 | Тәжірибелік топ | 95% НА + 5% екінші үлгі | 50 |
| Ескерту: НА– негізгі азықтандыру (азық) | | | |

Тәжірибе соңында биологиялық препараттардың тилапия балығының ағзасына жасанды жағдайда әсер ету тиімділігін бағалау үшін әр 10 күн сайын өлшеніп, бағаланды. Төменде көрсетілген балықтардың нәтижелері алынды.

Кесте 16 – Дайын биологиялық препараттардың тилапия балықтарының тірі салмақ мөлшеріне әр 10 күн сайынғы әсері

| Тәжірибелер тобы | Көрсеткіштер | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Балықтардың бастапқы салмағы, гр | 10 күн | 20 күн | 30 күн |
| Бақылау тобы 100% НА | 23 | 27±0,2 | 38±0,2 | 45±0,2 |
| 95% НА + 5% бірінші үлгі | 23 | 30±0,2 | 40±0,2 | 55±0,2 |
| 95% НА + 5% екінші үлгі | 23 | 45±0,2 | 55±0,2 | 64±0,2 |

Биологиялық препаратын азыққа енгізудің ең жақсы өсу ынталандырушы әсерін байқаймыз. Сонымен, бұл нұсқадағы балық массасының абсолютті өсуі бақылаудан жоғары болды.

Биологиялық препараттармен өсірілген балықтардың биологиялық көрсеткіштері нормативтерге сәйкес болды. Абсолютті және орташа тәуліктік өсу мәндері аздап ерекшеленді: бақылау тобымен салыстырғанда бірінші үлгі-22%, ал екінші үлгімен азықтандырылған балықтар 42% массалық үлес қосты.

Биологиялық препарттармен өсірілген балықтардың биологиялық көрсеткіштері 17-ші кестеде келтірілген.

Кесте 17 – Биологиялық препараттардың тилапия балықтарының биологиялық көрсеткіштеріне әсері

| Көрсеткіштер | Тәжірибелер тобы | | |
|---|---|---|---|
| | Бақылау тобы 100% НА | 95% НА + 5% бірінші үлгі | 95% НА + 5% бірінші үлгі |
| Отырғызу тығыздығы дана / 100 л | 50 | 50 | 50 |
| Балықтың бастапқы жеке салмағы, г | 23 | 23 | 23 |
| Балықтың соңғы жеке массасы, г | 45±0,2 | 55±0,2 | 64±0,2 |
| Абсолютті өсім, г | 22 | 32 | 41 |
| Орташа тәуліктік өсім, г | 0,7 | 1 | 1,3 |
| Өмір сүру деңгейі, % | 90,0 | 98,0 | 100 |
| Өсіру кезеңі, күн | 30 | 30 | 30 |

Айырмашылықтар $p < 0,05$

Тәжірибе топтарында 1–ші (*Lactobacillus paracasei* – 010К) және 2–ші (*Lactobacillus paracasei* – 010К + *Torulopsis sphaeerica* – 105k) үлгілердегі биологиялық препараттармен азықтандырылған балықтардың тірі салмағының жалпы өсімі 1–ші (бақылау) топқа қарағанда жоғары болды. Олардың ішінде 3–ші топ ең үлкен тірі салмақ жинады, яғни екінші үлгідегі биологиялық препаратын қолданған топта ($p<0,05$).

Балықтың соңғы жеке массасы бойынша бірінші тәжірибелік тобында 22,22% өсім, ал 2 тәжірибелік тобында 42,22% өсім байқалады. Абсолютті өсім бойынша бірінші тәжірибелік тобында 45,45% өсім, ал 2 тәжірибелік тобында 86,36% өсім байқалады. Орташа тәуліктік өсім бойынша бірінші тәжірибелік тобында 42,86% өсім, ал 2 тәжірибелік тобында 85,71% өсім байқалады. Өмір сүру деңгейі бойынша бірінші тәжірибелік тобында 8,89% өсім, ал 2 тәжірибелік тобында 11,11% өсім байқалады. Қорыта айтқанда биологиялық препаратымен азықтандырылған топтарда барлық көрсеткіштер бойынша айтарлықтай жоғары өсім байқалды.

Массаның жинақталу коэффициентінің жоғарылауы балыққа азықтың сіңімділігінің жақсарғанын көрсетеді. Пробиотиктердің балық өміршеңдігіне, өсу жылдамдығына және балық өнімділігіне оң әсері жоғарыдағы кестеде көрсетілген. Нәтижесінде биологиялық препараттармен азықтандырылған

балықтардың өсу қарқыны бақылау тобына қарағанда жоғары екенін көрсетті (ҚОСЫМША Д).

## 4 Дайын биологиялық препараттардың тилапия балықтарының ішек микрофлорасына сандық және сапалық әсері

Азықтандыру кезеңінің соңында балықтарды ішек қозғалысын қамтамасыз ету үшін 24 сағат бойы аштыққа ұшырата отырып және әр емдеуден кейін 3 балықтан кездейсоқ үлгісі алынды. Балықты бірінші өлтіріп, бойлап кесіп шықтық. Дайын суспензия стерильді нейлон торының (100 мкм) көмегімен електен өткізілді. Гомогенаттар 9 мл көлемінде стерильді 0,85% тұзды ерітіндісін 10–4 дейін сұйылттық. Жалпы санау триптон соя агарына (TSA) әр гомогенаттың 0,1 мл қолдану және 16 сағат ішінде 37°C температурада инкубациялау арқылы жүргізілді.

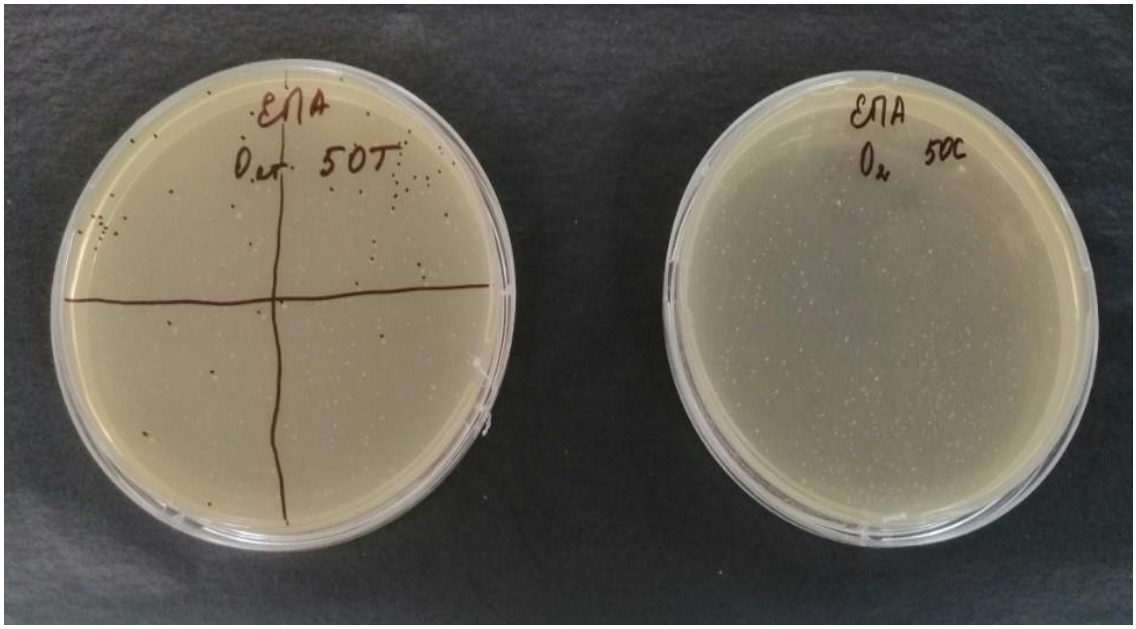
Ашытқы жасушаларын санау Сабуро агарына 0,1 мл гомогенат қолдану арқылы жүргізілді. Пластиналар 25°C температурада инкубацияланды, 5 күн ішінде ашытқы жасушалары колониялық есептегішпен есептелді. Доминантты колониялар биохимиялық сынақтар мен лактобактерияларды оқшаулаудың стандартты әдістерін қолдана отырып, морфологиялық сипаттамалар мен өсу параметрлері негізінде тазартылды және анықталды. Бактериялар мен ашытқы жасушаларының саны ішектің КТБ/г 18-ші кестеде көрсетілген.



Сурет 18 – Зерттеу барысы

Ішек микробиотасы эксперименттің соңында барлық Петри табақшасында бактериялардың жалпы санының ең жоғары деңгейі екінші экспериментте тіркелді, яғни биологиялық препаратымен қоректенетін балықтарда (2,05 *$10^{-4}$ КТБ/ см3), ал ең төменгі көрсеткіш бақылау тобында болды. Сонымен қатар, бұл бақылау тобымен салыстырғанда ішекте биологиялық препараттармен қоректенетін барлық балықтарда айтарлықтай жоғары болды. Балықтың ішек

микрофлорасынан алынған сүт қышқылды бактерияларының орташа мәні 2–ші тәжірибе тобына жататын балықтарда жоғары болды.

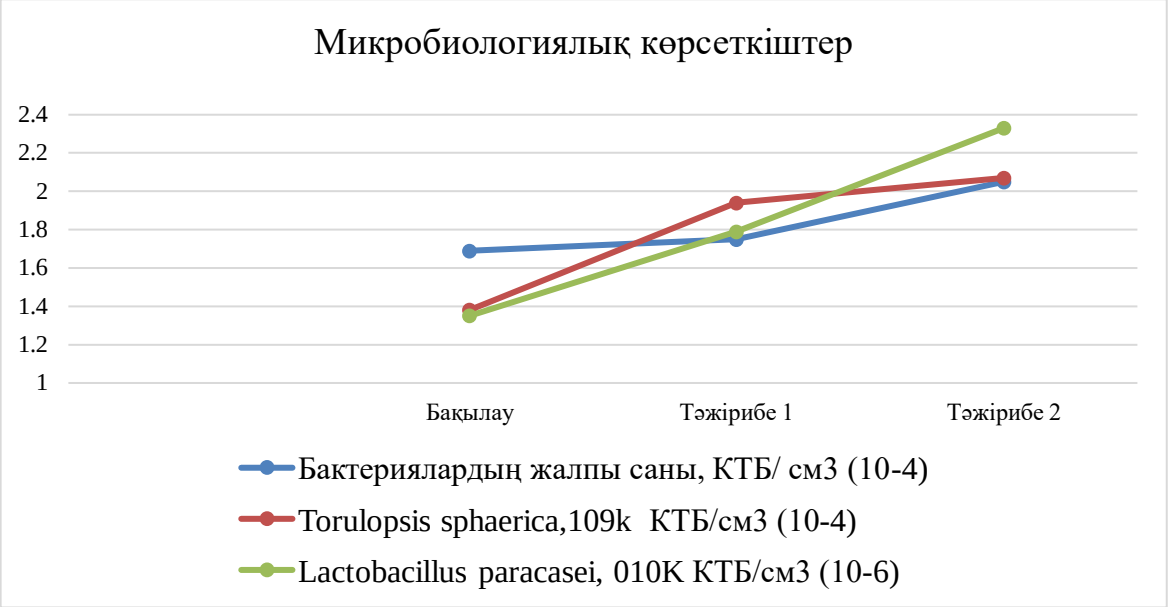



Сурет 19 – Бактериялардың қоректік ортада өсуі және санау процесі

Тәжірибе нәтижесінде биологиялық препараттармен азықтандырылған екі топтағы балықтар жақсы жалпы клиникалық жағдайды көрсетті.

Кесте 18 – Дайын биологиялық препараттармен қоректендірілгеннен кейінгі балықтардың ішек микрофлорасының сандық және сапалық көрсеткіштері, КТБ/см$^3$

| Топтар | Микробиологиялық көрсеткіштер | | |
|---|---|---|---|
| | Бактериялардың жалпы саны КТБ/ см$^3$ ($10^{-4}$) | Ашытқы, КТБ/см$^3$ ($10^{-4}$) | *Lactobacillus*, КТБ/см$^3$ ($10^{-6}$) |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Бақылау | 1,69 ± 0,06 | 1,38 ± 0,02 | 1,35 ± 0,02 |
| Тәжірибе 1 | 1,75 ± 0,02 | 1,94 ± 0,02 | 1,79 ± 0,03 |
| Тәжірибе 2 | 2,05 ± 0,07 | 2,07 ± 0,12 | 2,33 ± 0,05 |




Сурет 20 – Дайын биологиялық препараттармен қоректендірілгеннен кейінгі балықтардың ішек микрофлорасының сандық және сапалық көрсеткіштері, КТБ/см$^3$

Кесте нәтижелері бойынша, тәжірибе 2 тобы барлық көрсеткіштер бойынша ең жоғары мәндерді көрсетті, бұл зерттеу жағдайының микроорганизмдердің өсуіне әсерін айқындайды. Тәжірибе 1 де бактериялар мен ашытқылардың санын арттырса да, көрсеткіштер тәжірибе 2-мен салыстырғанда төмен болды. Осылайша, тәжірибе топтарында көрсеткіштердің өсуі бақылау тобымен салыстырғанда байқалады, бұл зерттеліп отырған факторлардың микроорганизмдердің санын ұлғайтуға әсер еткенін көрсетеді. Бақылау тобында *Lactobacillus sp.* 1,35 ± 0,02 КТБ/см³ болды, ал тәжірибе топтарында бұл көрсеткіштің өсуі байқалды, әсіресе тәжірибе 2-де 2,33 ± 0,05 КТБ/см³ айтарлықтай жоғары (72,59%).

Екі тәжірибелік топтағы балықтар бақылау тобына қарағанда жоғары көрсеткіш көрсетті. Аквакультураның тиімділігі негізінен пайдаланылатын азықтың сапасы мен санымен анықталады. Азық-түлік шығындарының төмендеуі балық шаруашылығының кірістілігін арттыратын негізгі экономикалық факторлардың бірі болып табылады [242]. Жемге қосылған пробиотиктер балықтың өсу бірлігіне жемді тұтынуға айтарлықтай әсер етеді, өйткені олар олардың толық сіңуіне, жеммен бірге келетін микотоксиндерді бейтараптандыруға балық ағзасының жалпы төзімділігін арттыруға ықпал етеді [243]. Эксперимент барысында алынған нәтижелерге сүйене отырып, балық шаруашылығында пробиотиктерді қолданудың экономикалық тиімділігін болжауға болады.

Қазіргі заманғы балық шаруашылығы қарқынды технологияларға, соның ішінде жабық су қондырғыларына негізделген, олардың ерекшелігі шектеулі жерлерде отырғызудың жоғары тығыздығы болып табылады, бұл қауіпті инфекциялардың қоздырғыштарымен балықты жұқтыру қаупі едәуір арттырады

[244]. Әр түрлі функционалды топтардың антибиотиктері жұқпалы ауруларға қарсы профилактикалық және емдік агент ретінде қолданылады [245,246].

Зерттеу соңында барлық петри табақтарындағы бактериялардың жалпы санының ең жоғары деңгейі екінші экспериментте тіркелді, яғни биологиялық препаратпен қоректенетін балықтарда ($2,05*10^{-4}$ КТБ/$см^3$, ал ең төменгі көрсеткіш бақылау тобында болды. Сонымен қатар, бұл бақылаумен салыстырғанда ішекте биологиялық препараттармен қоректенген барлық балықтарда айтарлықтай жоғары болды. Балықтың ішек микрофлорасынан алынған сүт қышқылды бактерияларының орташа мөлшері 2-ші тәжірибе тобына жататын балықтарда жоғары болды.Тәжірибе нәтижесінде биологиялық препараттармен қоректенген екі топтағы балықтар жақсы клиникалық жағдай көрсетті.

Сүт қышқылды бактерияларымен қоректенетін балықтардың ішектерінде патогендік бактериялар аз болды, бұл иммунитеттің жоғарылауының белгісі. Ішек микробиотасы көбінесе патогендердің ішек колонизациясының алдын алуда маңызды рөл атқарады. Зерттеу нәтижелеріне сүйене отырып, бұл патогендік бактерияларға қарсы әрекет ете алатын және иммундық жүйені ынталандыруға және ішектің микробтық тепе – теңдігін жақсартуға әкелетін *Lactobacillus paracasei* – 010К антагонистік әсерін көрсеткен алдыңғы зерттеулеріміздің нәтижелерін растайды.

# ҚОРЫТЫНДЫ

1. Дәстүрлі ашытылған сүт өнімдерінен (бие сүті және қымыз) 24 СҚБ бөлініп алынып, олардың пробиотикалық потенциалы анықталды. Пробиотикалық потенциалдары pH 2, pH 4 қышқылды орталарына, өт тұздарына, антибиотиктерге және *Enterococcus faecalis, Aeromonas spp, Staphylococcus aureus, Escherichia coli (E.coli)* патагенді штамдарына қарсы антагонистік әсерлерін зерттеу арқылы жүзеге асты. Жұмыс нәтижесінде 24 сүтқышқылды бактериясынан 11 бактерия ғана пробиотикалық қасиетке ие екені анықталды.

2. Алынған деректер негізінде жоғары пробиотикалық қасиет көрсеткен 5 сүт қышқыды бактериясы заманауи молекулалық әдіспен 16s рДНҚ сериясының ұқсастығы анықталып, идентификацияланды. Диагностика нәтижелері бойынша 5 штамм 3К – *Lactobacillus fermentum*, 7К – *Lactobacillus fermentum*, 9К– *Lactobacillus fermentum,* 010К – *Lactobacillus paracasei*, 11К – *Lactobacillus paracasei* болып анықталды. Соның ішінде Lactobacillus paracasei – 010К штамы GenBank деректер базасында тіркелді және «Микроорганизмдердің республикалық коллекциясына» енгізілді.

3. Штамдардың жіктелуіне сәйкес белсенділік көрсеткен штамдар лиофилизациялау арқылы кептірілді. Пробиотиктің 2 тәжірибелік композициясы құрастырылып, 1-ші композиция *Lactobacillus paracasei* – 010К штаммынан тұратын биологиялық препарат және 2-ші композиция *Lactobacillus paracasei* – 010К және *Torulopsis sphaeerica* – 105k штамдарынан тұратын биологиялық препарат болып құрастырылды.

4. Жұмыстың барысында негізгі азыққа 4%, 5%, 6% мөлшердегі пробиотикалық препарат қоса отырып азықтын сапасын көрсеткіші зерттелді. Зертттеу нәтижелеріне сүйене отырып, балықтардың негізгі рационына 5% енгізілді. Зерттеу жұмысының нәтижесінде 1 пайдалы модельге және 1 өнертабысқа патенттері алынды.

5. Биологиялық препараттың балық ішек микрофлорасына әсері азық құрамына пробиотикалық препараттарын қолдану арқылы анықталды. Биологиялық препаратты қолдану нәтижесінде балықтардың ішек микрофлорасында пайдалы микроорганизмдер санының көбейгені, яғни бақылау тобына қарағанда 1 тәжірибелік топта 32,6 % және 2 тәжәрибелік топта 72,59 % жоғары болғаны анықталды. Биологиялық жағдайына әсерін зерттеу нәтижесінде биологиялық препараттарды енгізудің оңтайлы дозасы күнделікті рационның жалпы көлемінен 5% құрады. Зерттеу нәтижелеріне келетін болсақ, құрама азық балықтың өсуін яғни, биологиялық көрсеткіштерін арттырды (абсолютті өсім 32-41 г, орташа тәуліктік өсу қарқыны 1-1,3 г дейін, өмір сүру деңгейі 98-100% дейін.

## ТӘЖІРИБЕЛІК ҰСЫНЫСТАР

1. *Lactobacillus paracasei – 010K* пробиотигін балықтардың асқазан-ішек ауруларының алдын алуға және есдеуге арналған пробиотикалық препаратты (5%) дозада пайдалану мақсатында қолдану бойынша ұсыныстар әзірленді (Пайдалы модельге патент).

2. Балықтың өсуін ынталандыруға арналған биологиялық препараты алынды (Өнертабысқа патент).

## ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ


1 19. Quinto E.J., Jiménez P., Caro I. et al. Probiotic Lactic Acid Bacteria: A Review // Food and Nutrition Sciences. 2014. Vol. 5. P. 1765–1775.

2 Ludwig W., Schleifer K.H, Whitman W.B. Revised road map to the phylum Firmicutes // Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Firmicutes. New York, Springer-Verlag, USA, 2009. Vol. 3. P. 1–17.

3 Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G. R., Merenstein D. J., Pot B., Sanders M.E. Expert consensus document: the international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic // Nature reviews Gastroenterology & hepatology. – 2014. – V. 11. – P. 506 – 514.

4 Zielińska D., Sionek B., Kołożyn–Krajewska D. Safety of probiotics // Diet, microbiome and health. – 2018. – P. 131–161.

5 Mathipa-Mdakane M. G., Thantsha M. S. *Lacticaseibacillus rhamnosus*: a suitable candidate for the construction of novel bioengineered probiotic strains for targeted pathogen control // Foods. – 2022. – V. 11. – №. 6. – P. 785.

6 He M., Shi B. Gut microbiota as a potential target of metabolic syndrome: the role of probiotics and prebiotics // Cell & bioscience. – 2017. – V. 7, № 1. – P. 1–14.

7 Azad M. A. K., Sarker M., Li T., Yin J. Probiotic species in the modulation of gut microbiota: an overview // BioMed research international. – 2018. – V. 2018.

8 Mekadim C., Killer J., Mrázek J., Bunešová V., Pechar R., Hroncová Z., Vlková E. Evaluation of the infB and rpsB gene fragments as genetic markers intended for identification and phylogenetic analysis of particular representatives of the order Lactobacillales // Archives of microbiology. – 2018. – V. 200. – P. 1427–1437.

9 Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz C. M., Harris H. M., Mattarelli P., Lebeer S.A Taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus Lactobacillus Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae* // International journal of systematic and evolutionary microbiology. – 2020. – V. 70. – №. 4. – P. 2782– 2858.

10 Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz C. M., Harris H. M., Mattarelli P., Lebeer S.A Taxonomic note on the genus Lactobacillus: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae* // International journal of systematic and evolutionary microbiology. – 2020. – V. 70. – №. 4. – P. 2782– 2858.

11 Yadav M., Verma M. K., Chauhan N. S. A review of metabolic potential of human gut microbiome in human nutrition // Archives of microbiology. 2018. – V. 200 – № 2. – P. 203–217.

12 Rossi F., Amadoro C., Colavita G. Members of the *Lactobacillus* genus complex (LGC) as opportunistic pathogens: a review // Microorganisms. – 2019. – V. 7 – № 5.– P. 126.

13 Macfarlane S., Macfarlane G. Composition and metabolic activities of bacterial biofilms colonizing food residues in the human gut // Applied and Environmental Microbiology. – 2006. – V. 72 – № 9. – P. 6204–6211.
14 Hoxha R., Todorov D., Hinkov A., Shishkova K., Evstatieva Y., Nikolova D. In vitro screening of antiviral activity of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented foods // Microbiology Research. – 2023. – V. 14. – №. 1. – P. 333–342.
15 Utami M. M. D., Wahyono N. D. Supplementation of probiotic and prebiotic on the performance of broilers // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. –2018. – V. 207 – № 1. – P. 012024.
16 Boirivant M., Strober W. The mechanism of action of probiotics // Current Opinion in Gastroenterology. – 2007. – V. 23. – P. 679–692.
17 Lebeer S., Vanderleyden J., De Keersmaecker S. C. J. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action // Microbiology and molecular biology reviews. – 2008. – V. 72 – № 4. – P. 728–7647.
18 Van Tassell M. L., Miller M. J. Lactobacillus adhesion to mucus // Nutrients. – 2011. – V. 3. – P. 613–636.
19 Akiba Y., Guth P. H., Engel E., Nastaskin I., Kaunitz J. D. Dynamic regulation of mucus gel thickness in rat duodenum // The American Journal of PhysiologyGastrointestinal and Liver Physiology. – 2000. – V. 279. – P. G437–G447.
20 Grondin J. A., Kwon Y. H., Far P. M., Haq S., Khan W. I. Mucins in intestinal mucosal defense and inflammation: learning from clinical and experimental studies // Frontiers in immunology. – 2020. – V. 11. – P. 2054.
21 Van Tassell M. L., Miller M. J. Lactobacillus adhesion to mucus // Nutrients. – 2011. – V. 3. – P. 613–636.
22 Farid W., Masud T., Sohail A., Ahmad N., Naqvi S. S., Khan S., Ali A., Khalifa S. A., Hussain A., Ali S., Saghir S. M., Siddeeg A., Manzoor M. F. Gastrointestinal transit tolerance, cell surface hydrophobicity, and functional attributes of Lactobacillus acidophilus strains isolated from Indigenous Dahi // Food Science & Nutrition. – 2021. – V. 9. – №. 9. – P. 5092–5102.
23 MacKenzie D. A., Tailford L. E., Hemmings A. M., Juge N. Crystal structure of a mucus binding protein repeat reveals an unexpected functional immunoglobulin binding activity // Journal of Biological Chemistry. – 2009. – V. 284. – P. 32444–32453.
24 Etienne–Mesmin L., Chassaing B., Desvaux M., De Paepe K., Gresse R., Sauvaitre T., Forano E., Wiele Van de T., Schüller S., Juge N., Blanquet–Diot S. Experimental models to study intestinal microbes–mucus interactions in health and disease // FEMS microbiology reviews. – 2019. – V. 43 – № 5. – P. 457–489.
25 Encarnacao, P., 2016. Functional feed additives in aquaculture feeds. Aquafeed Formulation. Academic Press, pp. 217–237.
26 Green, W.W., Zielinski, D.S., 2014. Chemoreception. In: Evans, D.H., Clabiome. J.B., Currie. S. (Eds.), The Physiology of Fishes, fourth ed. CRC Press, Boca Raton, pp.345–373.

27 Al–Souti, A., Gallardo, W., Claereboudt, M., Mahgoub, 0, 2019. Attractability and palatabil¬ity of formulated diets incorporated with chicken feather and algal meals for juvenile gilthead seabream, Sparus aurata. Aquac. Rep. 14, 100199.
28 Nunes, A.J., SA, M.V., Andriola–Neto, F.F., Lemos, D., 2006. Behavioral response to selected feed attractants and stimulants in Pacific white shrimp, Litopenaeus vannamei. Aquaculture 260 (1–4), 244–254.
29 Kader, M.A., Bulbul, M., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Nguyen, B.T., et al., 2012. Effect of complete replacement of fishmeal by dehulled soybean meal with crude attractants supplementation in diets for red sea bream, Pagrus major. Aquaculture 350, 109–116.
30 Hardy, R.W., Barrows, F.T., 2002. Diet formulation and manufacturing. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish nutrition, third ed. Academic Press, Inc., New York, pp. 505–600.
31 Kasumyan, A.O., Daving, K.B., 2003. Taste preferences in fishes. Fish Fish. 4 (4), 289–347.
32 Li, P., Gatlin HI, D.M., 2006. Nucleotide nutrition in fish: current knowledge and future applications. Aquaculture 251 (2–4), 141–152.
33 Dabrowski, K., Rusiecki, M., 1983. Content of total and free amino acids in zooplanktonic food of fish larvae. Aquaculture. 30, 31–42.
34 Adron, J.W., Mackie, A.M., 1978. Studies on the chemical nature of feeding stimulants for rainbow trout Salmo gairdneri Richardson. J. Fish Biol. 12, 303–310.
35 Mackie, A.M., 1981. Identification of the gustatory feeding stimulants. In: Hara, T.J. (Ed.), Chemoreception in fishes. Elsevier, Amsterdam, pp. 275–291.
36 Saglio, P., Fauconneau, B., Blanc, J.M., 1990. Orientation of carp, Cyprinus carpio L., to free amino acids from Tubifex extract in an olfactometer. J. Fish Biol. 37, 887–889.
37 Harpaz, S., 2005. L–carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition – A review. Aquaculture 249, 3–21.
38 Ozorio, R.O.A., Booms, G.H.R., Huisman, E.A., Verreth, J.A.J., 2002. Changes in amino acid composition in the tissues of African catfish (Clarias gariepinus) as a consequence of dietary t.–carnitine supplements. J. Appl. Ichthyol. 18, 140–147.
39 Mohseni, M.R., Ozorio, 0.A., Pourkazemi, M., Bai, S.C., 2008. Effects of dietary L–carnitine supplements on growth and body composition in beluga sturgeon (Huso huso) juveniles. J. Appl. Ichthyol. 24, 646–649.
40 Keshavanath, P., Renulca, P., 1998. Effect of dietary ircarnitine on growth and body compo¬sition of fingerling rohu, Labeo rohita (Hamilton). Aquac. Nutr. 4, 83–87.
41 Carr, W.E.S., Chaney, T.B., 1976. Chemical stimulation of feeding behavior in the pinfish, Lagodon rhomboides: characterization and identification of stimulatory substances extracted from shrimp. Comp. Biochem. Physiol. A Physiol. 54 (4), 437–441.

42 Adron, J.W., Mackie, A.M., 1978. Studies on the chemical nature of feeding stimulants for rainbow trout Salmo gairdneri Richardson. J. Fish Biol. 12, 303–310.
43 Adams, M.A., Johnsen, P.B., Zhou, H., 1988. Chemical enhancement of feeding for the her–bivorous fish Tilapia zillii. Aquaculture. 72, 95–107.
44 Meatus, K.J., 1986. Sensitivity of brown trout Salmo trutta L. and Atlantic salmon Salmo salar L. fry to amino acids at the start of exogenous feeding. Aquaculture 55, 191–200.
45 Xue, M., Cui, Y., 2001. Effect of several feeding stimulants on diet preference by juvenile gibel carp (Carassius auratus &Mello), fed diets with or without partial replacement of fish meal by meat and bone meal. Aquaculture 198 (3), 281–292.
46 Can, W.E.S., Netherton III, J.C., Gleeson, R.A., Derby, C.D., 1996. Stimulants of feeding behavior in fish: analyses of tissues of diverse marine organisms. Biol. Bull. 190, 149–160.
47 Ismail, T., Hegazi, E., Dawood, M.A., Nassef, E., Bala, A., Paray, B.A., et al., 2020. Using of betaine to replace fish meal with soybean or/and corn gluten meal in Nile tilapia (Oreochromis niloticus) diets: histomorphology, growth, fatty acid, and glucose–related gene expression traits. Aquac. Rep. 17, 100376.
48 Lim, L.S., Chor, W.K., Tuzan, A.D., Shapawi, R., Kawamura, G., 2016. Betaine is a feed enhancer for juvenile grouper (Epinephelus fuscoguttatus) as determined behaviourally. J. Appl. Anim. Res. 44 (1), 415–418.
49 Sun, C.X., Xu, W.N., Zhang, D.D., Li, X.F., Li, P.F., Jiang, G.Z., et al., 2018. Different pref–erence is modulated by the feeding stimulants supplementation in different Chinese soft–shelled turtle (Pelodiscus sinensis) basic diets. Aquac. Nutr. 24 (1), 195–203.
50 Gaylord, T.G., Gatlin, D.M., 2000. Dietary lipid level but not L–carnitine affects growth per–formance of hybrid striped bass (Morone chrysops M. saxatilis). Aquaculture 190, 237 –246.
51 Dias, J., Arzel, G., Kaushik, J., 2001. Effect of dietary L–carnitine supplementation on growth and lipid metabolism in European seabass (Dicentrarchus labrax). Aquac. Res. 32, 206–215.
52 Ozorio, R.O., Uktoseja, J.L., Huisman, E.A., Verreth, J.A., 2001. Changes in fatty acid con–centrations in tissues of African catfish, Clarias gariepinus Burchell, as a consequence of dietary carnitine, fat and lysine supplementation. Br. J. Nutr. 86 (05), 623–636.
53 Schlechtriem, C., Bresler, V., Fishelson, L., Rosenfeld, M., Becker, K., 2004. Protective effects of dietary L–carnitine on tilapia hybrids *(Oreochromis niloticus X Oreochromis aureus)* reared under intensive pond–culture conditions. Aquac. Nutr. 10, 55–63.
54 Carr, W.E.S., Chaney, T.B., 1976. Chemical stimulation of feeding behavior in the pinfish, Lagodon rhomboides: characterization and identification of stimulatory substances extracted from shrimp. Comp. Biochem. Physiol. A Physiol. 54 (4), 437–441.

55 Adams, M.A., Johnsen, P.B., Zhou, H., 1988. Chemical enhancement of feeding for the her–bivorous fish Tilapia zillii. Aquaculture. 72, 95–107.
56 Meatus, K.J., 1986. Sensitivity of brown trout *Salmo trutta* L. and Atlantic salmon *Salmo salar* L. fry to amino acids at the start of exogenous feeding. Aquaculture 55, 191–200.
57 Xue, M., Cui, Y., 2001. Effect of several feeding stimulants on diet preference by juvenile gibel carp (Carassius auratus &Mello), fed diets with or without partial replacement of fish meal by meat and bone meal. Aquaculture 198 (3), 281–292.
58 Can, W.E.S., Netherton III, J.C., Gleeson, R.A., Derby, C.D., 1996. Stimulants of feeding behavior in fish: analyses of tissues of diverse marine organisms. Biol. Bull. 190, 149–160.
59 Li, P., Gatlin HI, D.M., 2006. Nucleotide nutrition in fish: current knowledge and future applications. Aquaculture 251 (2–4), 141–152.
60 Xia, S., Zhao, W., Li, M., Zhang, D., Nan, L., Qian, H., et al., 2020. Influence of 5'-inosine monophosphate and 5'-guanosine monophosphate on growth, feed digestibility and activity of digestive enzymes in turbot *Scophthalmus maximus*. Aquac. Nutr. 26 (1), 165-173.
61 Bae, J., Hamidoghli, A., Won, S., Choi, W., Lim, S.G., Kim, K.W., et al., 2020. Evaluation of seven different functional feed additives in a low fish meal diet for olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture 735333.
62 NRC, 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academies Press, Washington DC.
63 Mackie, A.M., Adron, J.W., Grant, RT., 1980. Chemical nature of feeding stimulants for the juvenile Dover sole, Solea solea L. J. Fish Biol. 16, 701–708.
64 Mendoza, R., Montemayor, J., Verde, J., 1997. Biogenic amines and pheromones as feed attractants for the freshwater prawn Macrobrachium rosenbergii. Aquae. Nutr. 3, 167–173.
65 Toften, H., Amesen, A.M., Jobling, M., 2003. Feed intake, growth and ionoregulation in Atlantic salmon (Salmo salar L.) smolts in relation to dietary addition of a feeding stim¬ulant and time of seawater transfer. Aquaculture 217 (1–4), 647–662.
66 Lackner, R., 1998. "Oxidative stress" in fish by environmental pollutants. In: Braunbeck, T., Hinton, D.E., Streit, B. (Fels.), Fish ecotoxicology. Birkhauser, Switzerland, pp. 203–224.
67 Currie, S., Schulte, P.M., 2014. Thermal stress. In: Evans, D.H., Claiborne, J.B., Currie, S. (Eds.), The Physiology of Fishes, fourth ed. CRC Press, Boca Raton, pp. 257–287.
68 Gatlin III, D.M., Bai, S.C., Erickson, M.C., 1992. Effects of dietary vitamin E and synthetic antioxidants on composition and storage quality of channel catfish, lctalurus punctatus. Aquaculture 106 (3–4), 323–332.

69 Gasco L Gai, F., Maricchiolo, G., Genovese, L., Ragonese, S., Bottari, T., et al., 2018. Supplementation of vitamins, minerals, enzymes and antioxidants in fish feeds. Feeds for the Aquaculture Sector. Springer, Cham, pp. 63–103.
70 Dawood, M.A., Koshio, S., Esteban, M.A., 2018. Beneficial roles of feed additives as immu–nostimulants in aquaculture: a review. Rev. Aquac 10 (4), 950–974.
71 Ozmen, I., Bayir, A., Cengiz, M., Sirkecioglu, A.N., Atamanalp, M., 2004. Effects of water reuse system on antioxidant enzymes of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss W., 1792). Vet. Med. — Czech 49, 373–378 (Czech Republic).
72 Yonar, S.M., 2019. Growth performance, haematological changes, immune response, antioxi¬dant activity and disease resistance in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fed diet sup–plemented with ellagic acid. Fish Shellfish Immunol. 95, 391–398.
73 Yaakob, Z., Ali, E., Zainal, A., Mohamad, M., Takriff, M.S., 2014. An overview: biomolecules from microalgae for animal feed and aquaculture. J. Biol. Res.–Thessalon. 21 (1), 6.
74 Moure A. et al. Antioxidant activity of extracts from Gevuina avellana and Rosa rubiginosa defatted seeds //Food Research International. – 2001. – Т. 34. – №. 2-3. – С. 103-109.
75 Gatlin HI, D.M., 2002. Nutrition and fish health. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish nutrition. Academic Press, San Diego, CA, pp. 671–702.
76 Marusich W. L. et al. Effect of supplemental vitamin E in control of rancidity in poultry meat //Poultry Science. – 1975. – Т. 54. – №. 3. – С. 831-844.
77 Rethwill C. E. et al. Influence of dietary fat source and vitamin E on market stability of turkeys //Poultry Science. – 1981. – Т. 60. – №. 11. – С. 2466-2474.
78 Lin Z. Y. et al. An avian muscle factor related to MyoD1 activates muscle-specific promoters in nonmuscle cells of different germ-layer origin and in BrdU-treated myoblasts //Genes & development. – 1989. – Т. 3. – №. 7. – С. 986-996.
79 Frigg M., Prabucki A. L., Ruhdel E. U. Effect of dietary vitamin E levels on oxidative stability of trout fillets //Aquaculture. – 1990. – Т. 84. – №. 2. – С. 145-158.
80 Murata, H., Yamauchi, K., 1989. Relationship between the 2–thiobarbituric acid values of some tissues from cultured red sea bream and its dietary a–tocopherol. Nippon Suisan Gakkaishi 55, 1435–1439.
81 Gatlin III, D.M., Bai, S.C., Erickson, M.C., 1992. Effects of dietary vitamin E and synthetic antioxidants on composition and storage quality of channel catfish, lctalurus punctatus. Aquaculture 106 (3–4), 323–332.
82 Sherwin, E.R., 1990. Antioxidants. In: Branen, A.L., David–son, P.M., Salminen, S. (Eds.), Food Antioxidants. Marcel Dekker Inc, New York.
83 Wanasundara, U.N., Shahidi, F., 1998. Antioxidant and prooxidant activity of green tea extracts in marine oils. Food Chem. 63, 335–342.
84 Shahidi, F., Metasalach, B., Brown, J.A., 1998. Caratenoids pigments in seafoods and aquaculture. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.36, 1–67.

85 Shahidi, F., Metasalach, B., Brown, J.A., 1998. Caratenoids pigments in seafoods and aqua–culture. Crit. Rev. Food Sci. Nutr.36, 1–67.
86 Gupta, S.K., Jha, A.K., Pal, A.K., Venkateshwarlu, G., 2007. Use of natural carotenoids for pigmentation in fishes. Nat. Prod. Rad 6 (1), 46–49.
87 Chien, Y.H., Jeng, S.C., 1992. Pigmentation of kuruma prawn, Penaeus japonicus Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. Aquaculture. 102, 333–346.
88 Torrissen, O.J., Christiansen, R., 1995. Requirements for carotenoids in fish diets. J. Appl. Ichthyol. 11, 225–230.
89 Izquierdo, M.S., Fernandez–Palacios, H., Tacon, A.G.J., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture 197 (1–4), 25–42.
90 Carboni, S., Hughes, A.D., Atack, T., Tocher, D.R., Migaud, H., 2015. Influence of brood–stock diet on somatic growth, fecundity, gonad carotenoids and larval survival of sea urchin. Aquae. Res. 46 (4), 969–976.
91 Kitahara, T., 1984. Behaviour of carotenoids in the chum salmon (Oncorhynchus keta) during anadromous migration. Comp. Biochem. Physiol. 76B, 97–101.
92 Lorenz, R.T., Cysewski, R.G., 2000. Commercial potential for Haematococcus microalgae as a natural source of astaxanthin. Trands. Biotech. 18 (4), 160–167.
93 Schmidt, I., Schewe, H., Gassel, S., Jin, C., Buckingham, J., Humbelin, M., et al., 2011. Biotechnological production of astaxanthin with Phaffia rhodozymaiXanthophyllomyces dendrorhous. Appl. Microbiol. Biotechnol. 89, 555–571.
94 Kim, S.K., Lee, J.H., Lee, C.H., Yoon, Y.C., 2007. Increased carotenoid production in Xanthophyllomyces dendrorhous G276 using plant extracts. J. Microbiol. 45 (2), 128–132.
95 Hardy, R.W., Barrows, F.T., 2002. Diet formulation and manufacturing. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish nutrition, third ed. Academic Press, Inc., New York, pp. 505–600.
96 Breithaupt, D., 2008. Xanthophylls in poultry feeding. In: Britton, G., Liaaen–Jensen, S., Pfander, H. (Eds.), Carotenoids, Natural Functions, vol. 4. Birkhauser Verlag, Basel.
97 Higuera–Ciapara, I., Felix–Valenzuela, L., Goycoolea, F.M., 2006. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 46 (2), 185–196.
98 Lorenz, R.T., Cysewski, R.G., 2000. Commercial potential for Haematococcus microalgae as a natural source of astaxanthin. Trands. Biotech. 18 (4), 160–167.
99 Torrissen, O.J., Christiansen, R., Strulcsnws, G., Estermann, R., 1995. Astaxanthin deposition in the flesh of Atlantic salmon, Salmo salar L., in relation to dietary astaxanthin concen¬tration and feeding period. Aquac. Nutr. 1, 77–84.
100 D'Abramo, L.R., Perez, E.I., Sangha, R., Puello–Cruz, A., 2006. Successful culture of larvae of Litopenaeus vannamei fed a microbound formulated diet exclusively from either stage PZ2 or Ml to PL1. Aquaculture 261, 1356–1362.

101 Torrissen, O.J., Christiansen, R., 1995. Requirements for carotenoids in fish diets. J. Appl. Ichthyol. 11, 225–230.
102 Torrissen, O.J., 1995. Strategies for salmonid pigmentation. J. Appl. Ichthyol. 11 (3–4), 276–281.
103 Chen, J., Sun, R., Pan, C., Sun, Y., Mai, B., Li, Q.X., 2020. Antibiotics and food safety in aquaculture. J. Agr. Food Chem. 68 (43), 11908–11919.
104 Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. Int. J. Food Microbial. 94, 223–253
105 Nychas, G.J.E., Skandamis, P., Tassou, C.C., 2003. Antimicrobials from herbs and spices. Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods. In: Roller, S. (Ed.), Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, pp. 176–200.
106 Hsieh, C.–E., Marko, M., Rath, B.K, Fleischer, S., Wagenknecht, T., 2001. Cryo–electron tomography of isolated triad junctions from skeletal muscle. Microsc. Microanal. 7, 94–95.
107 Prabha, D., Wahidulla, S., Kamat, T., D'Souza, L., 2011. Screening marine organisms for antimicrobial activity against clinical pathogens. Ind. J. Geo Mar. Sci. 40, 338–346.
108 Ravichandran, S., Wahidullah, S., D' Souza, L., Anbuchezhian, R.M., 2011. Antimicrobial activity of marine sponge Clathriaindica (Dendy, 1889). Russ. J. Bioorg. Chem. 37, 428–435.
109 Vatsos, I.N., Rebours, C., 2015. Seaweed extracts as antimicrobial agents in aquaculture. J. Appl. Phycol. 27 (5), 2017–2035.
110 Manning, B.B., 2015. Mycotoxin contamination of fish feeds. Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ, pp. 237–248.
111 Halver, J.E., 1969. Aflatoxicosis and trout hepatoma. In: Goldblatt, LA. (Ed.), Aflatoxin; Scientific Background, Control and Implications. Academic Press, New York, pp. 265–306.
112 Encarnacao, P., 2016. Functional feed additives in aquaculture feeds. Aquafeed Formulation. Academic Press, pp. 217–237.
113 Binder, E.M., 2007. Managing the risk of mycotoxins in modem feed production. Anim. Feed Sci. Technol. 133, 149–166.
114 Ramos, A.J., Hernandez, E., 1997. Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs: a review. Anim. Feed Sci. Tech. 65 (1–4), 197–206.
115 Ghasemi, Z., Sourinejad, I., Kazemian, H., Rohani, S., 2018. Application of zeolites in aqua–culture industry: a review. Rev. Aquae 10 (1), 75–95.
116 Hussain, D., Mateen, A., Gatlin III, D.M., 2017. Alleviation of aflatoxin B1 (AFB1) toxicity by calcium bentonite clay: effects on growth performance, condition indices and bioac–cumulation of AFB1 residues in Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Aquaculture 475, 8–15.
117 Encarnacao, P., 2016. Functional feed additives in aquaculture feeds. Aquafeed Formulation. Academic Press, pp. 217–237.

118 Lim, C., Liicicstadt, C., Webster, CD., Kesius, P., 2015. Organic acids and their salts. Dietary
119 Ng, W.K., Koh, C.B., 2017. The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals. Rev. Aquae 9 (4), 342–368.
120 Nutrients, Additives, and Fish Health. Wiley–Blackwell, Hoboken, NJ, pp. 305–320.
121 Alp, M., Kocabagli, N., Kahraman, R., Bostan, K., 1999. Effects of dietary supplementation with organic acids and zinc bacitracin on ileal microflora, pH and performance in broi¬lers. Trop. J. Vet. Anim. Sci. 23, 451–455.
122 Partanen, K., Siljander–Rasi, H., Alaviuhkola, T., Suomi, K., Fossi, M., 2002. Performance of growing–finishing pigs fed medium– or high–fibre diets supplemented with avilamycin, formic acid or formic acid–sorbate blend. Livest. Prod. Sci. 73 (2–3), 139–152.
123 Kluge, H., Broz, J., Eder, K., 2006. Effect of benzoic acid on growth performance, nutrient digestibility, nitrogen balance, gastrointestinal micro flora and parameters of microbial metabolism in piglets. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 90, 316–324.
124 Defoirdt, T., Sorgeloos, P., Bossier, P., 2011. Alternatives to antibiotics for the control of bacterial disease in aquaculture. Curr. Opin. Microbiol. 14, 251–258.
125 Da Silva, B.C., Vieira, F.N., Mourino, J.L.P., Ferreira, G.S., Seiffert, W.Q., 2013. Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. Aquaculture. 384, 104–110.
126 Lackstadt, C., 2008. Effect of organic acid containing additives in worldwide aquaculture sustainable production the non–antibiotic way. Acidifiers in Animal Nutrition. Nottingham University Press, Nottingham, pp. 71–77.
127 Castillo, S., Rosales, M., Pohlenz, C., Gatlin III, D.M., 2014. Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile red drum Sciaenops ocellatus. Aquaculture. 433, 6–12.
128 Hossain, M.A., Pandey, A., Satoh, S., 2007. Effects of organic acids on growth and phospho¬rus utilization in red sea bream Pagrus major. Fish Sci. 73 (6), 1309–1317.
129 Pandey, A., Satoh, S., 2008. Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in rainbow trout Oncorhynchus mykiss. Fish. Sci. 74 (4), 867–874.
130 Chuchird, N., Rorkwiree, P., Rairat, T., 2015. Effect of dietary formic acid and astaxanthin on the survival and growth of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) and their resistance to Vibrio parahaemolyticus. SpringerPlus. 4 (1), 440.
131 Castillo, S., Rosales, M., Pohlenz, C., Gatlin III, D.M., 2014. Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile red drum Sciaenops ocellatus. Aquaculture. 433, 6–12.
132 Hossain, M.A., Pandey, A., Satoh, S., 2007. Effects of organic acids on growth and phospho¬rus utilization in red sea bream Pagrus major. Fish Sci. 73 (6), 1309–1317.

133 Pandey, A., Satoh, S., 2008. Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in rainbow trout Oncorhynchus mykiss. Fish. Sci. 74 (4), 867–874.
134 Su, X., Li, X., Leng, X., Tan, C., Liu, B., Chai, X., et al., 2014. The improvement of growth, digestive enzyme activity and disease resistance of white shrimp by the dietary citric acid. Aquac. Int. 22 (6), 1823–1835.
135 Chuchird, N., Rorkwiree, P., Rairat, T., 2015. Effect of dietary formic acid and astaxanthin on the survival and growth of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) and their resistance to Vibrio parahaemolyticus. SpringerPlus. 4 (1), 440.
136 Morken, T., Kraugerud, 0.F., Barrows, FT., Sorensen, M., Storebakken, T., Overland, M., 2011. Sodium diformate and extrusion temperature affect nutrient digestibility and phys¬ical quality of diets with fish meal and barley protein concentrate for rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquaculture 317 (1–4), 138–145.
137 Reyshari, A., Mohammadiazarm, H., Mohammadian, T., Torfi Mozanzadeh, M., 2019. Effects of sodium diformate on growth performance, gut microflora, digestive enzymes and innate immunological parameters of Asian sea bass (Lates calcanfer) juveniles. Aquae. Nutr. 25 (5), 1135–1144.
138 Yong, A.S.K., Shapawi, R., Zhuo, L.C., Lin, Y.H., 2020. Physiological changes of giant grouper (Epinephelus lanceolatus) fed with high plant protein with and without supple¬mentation of organic acid. Aquac. Rep 18, 100499.
139 Bae, J., Hamidoghli, A., Won, S., Choi, W., Lim, S.G., Kim, K.W., et al., 2020. Evaluation of seven different functional feed additives in a low fish meal diet for olive flounder, Paralichthys olivaceus. Aquaculture 735333.
140 Da Silva, B.C., Vieira, F.D.N., Mouriiio, J.L.P., Bolivar, N., Seiffert, W.Q., 2016. Butyrate and propionate improve the growth performance of Litopenaeus vannamei. Aquae. Res. 47 (2), 612–623.
141 Sugiura, S.H., Roy, P.K., Ferraris, R.P., 2006. Dietary acidification enhances phosphorus digestibility but decreases H + /K + –ATPase expression in rainbow trout. J. Exp. Biol. 209, 3719–3728.
142 Sangari, M., Sotoudeh, E., Bagheri, D., Morammazi, S., Mozanzadeh, M.T., 2020. Growth, body composition, and hematology of yellowfin seabream (Acanthopagrus latus) given feeds supplemented with organic acid salts (sodium acetate and sodium propionate). Aquae. Int. 29, 1–13.
143 Morken, T., Kraugerud, 0.F., Barrows, FT., Sorensen, M., Storebakken, T., Overland, M., 2011. Sodium diformate and extrusion temperature affect nutrient digestibility and phys¬ical quality of diets with fish meal and barley protein concentrate for rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquaculture 317 (1–4), 138–145.
144 Reyshari, A., Mohammadiazarm, H., Mohammadian, T., Torfi Mozanzadeh, M., 2019. Effects of sodium diformate on growth performance, gut microflora, digestive enzymes and innate immunological parameters of Asian sea bass (Lates calcanfer) juveniles. Aquae. Nutr. 25 (5), 1135–1144.

145 Encarnacao, P., 2016. Functional feed additives in aquaculture feeds. Aquafeed Formulation. Academic Press, pp. 217–237.
146 Abdel–Latif, H.M., Abdel–Tawwab, M., Dawood, M.A., Menanteau–Ledouble, S., El–Matbouli, M., 2020. Benefits of dietary butyric acid, sodium butyrate, and their protected forms in aquafeeds: a review. Rev. Fish. Sci. Aquae. 28, 1–28.
147 Bae, J., Hamidoghli, A., Won, S., Choi, W., Lim, S.G., Kim, K.W., et al., 2020. Evaluation of seven different functional feed additives in a low fish meal diet for olive flounder, Paralichthys olivaceus. Aquaculture 735333.
148 Yong, A.S.K., Shapawi, R., Zhuo, L.C., Lin, Y.H., 2020. Physiological changes of giant grouper (Epinephelus lanceolatus) fed with high plant protein with and without supple¬mentation of organic acid. Aquac. Rep 18, 100499.
149 Katya, K., Park, G., Bharadwaj, A.S., Browdy, C.L., Vazquez–Anon, M., Bai, S.C., 2018.Organic acids blend as dietary antibiotic replacer in marine fish olive flounder, Paralichthys olivaceus. Aquac. Res. 49 (8), 2861–2868.
150 De Wet, L., 2005. Organic acids as performance enhancers. Aqua Feeds Formul. Beyond 2, 12–14.
151 Goosen, J.N., Gorgezns, J.F., De Wet, L.F., Chenia, H., 2011. Organic acids as potential growth promoters in the South African abalone, Haliotis midae. Aquaculture 321, 245 – 251.
152 Anuta, D.J., Buentello, A., Patnaik, S., Lawrence, A.L., Mustafa, A., Hume, M., et al., 2011. Effect of dietary supplementation of acidic calcium sulfate (Vitoxal) on growth, sur¬vival, immune response and gut microbiota of the Pacific white shrimp, Litopenaeus vannamei. J. World Aquac. Soc. 42, 834–844.
153 Lim, C., Liicicstadt, C., Webster, CD., Kesius, P., 2015. Organic acids and their salts. Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health. Wiley–Blackwell, Hoboken, NJ, pp. 305–320.
154 Hai, NN., 2015. The use of probiotics in aquaculture. J. Appl. Microbiol. 119 (4), 917–935.
155 Maqsood, S., Singh, P., Samoon, M.H., Munir, K., 2011. Emerging role of immunostimulants in combating the disease outbreak in aquaculture. Int. Aquat. Res. 3, 147–163.
156 Elumalai, P., Kurian, A., Lakshmi, S., Faggio, C., Esteban, M.A., Ring0, E., 2021. Herbal immunomodulators in aquaculture. Rev. Fish Sci. Aquac. 29, 33–57.
157 Kiron, V., 2012. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. Anim. Feed Sci. Technol. 173, 111–133.
158 Encarnacao, P., 2016. Functional feed additives in aquaculture feeds. Aquafeed Formulation. Academic Press, pp. 217–237.
159 Hoseinifar, S.H., Yousefi, S., Van Doan, H., Ashouri, G., Gioacchini, G., Maradonna, F., et al., 2020. Oxidative stress and antioxidant defense in fish: the implications of probi¬otic, prebiotic, and synbiotics. Rev. Fish Sci. Aquac. 1–20.

160 Harikrishnan, R., Kim, Ju–S., Balasundaram, C., Heo, M.–S., 2012. Immunomodulatory effects of chitin and chitosan enriched diets in Epinephelus bruneus against Vibrio alginolyticus infection. Aquaculture 326, 46–52.
161 Bricknell, I., Dalmo, R.A., 2005. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture.Fish Shellfish Immunol. 19 (5), 457–472.
162 Serikbaeva A., Abdigaliyeva T. Probiotics and their application in aquaculture for improving growth and immunity of fish. «Bulletin of L.N. Gumilyov Eurasian National University» №1 (142) 2023., pp.16-25.
163 Ringø E, Van Doan H, Lee SH, Soltani M, Hoseinifar SH, Harikrishnan R, et al. Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. Journal of Applied Microbiology 2020; 129(1):116–136. https://doi.org/10.1111/jam.14628.
164 Ang CY, Sano M, Dan S, Leelakriangsak M, Lal TM. Postbiotics Applications as Infectious Disease Control Agent in Aquaculture. Biocontrol Science 2020; 25(1):1–7. https://doi.org/10.4265/BIO.25.1.
165 Wanka KM, Damerau T, Costas B, Krueger A, Schulz C, Wuertz S. Isolation and characterization of native probiotics for fish farming. BMC Microbiology 2018; 18(1):119. https://doi.org/10.1186/s12866–018–1260–2.
166 López Nadal A, Ikeda–Ohtsubo W, Sipkema D, Peggs D, McGurk C, Forlenza M, et al. Feed, Microbiota, and Gut Immunity: Using the Zebrafish Model to Understand Fish Health. Frontiers in Immunology 2020;11:114. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00114.
167 Chuphal N, Singha KP, Sardar P, Sahu NP, Shamna N, Kumar V. Scope of Archaea in Fish Feed: a New Chapter in Aquafeed Probiotics? Probiotics and Antimicrobial Proteins 2021. https://doi.org/10.1007/s12602–021–09778–4. Epub ahead of print.
168 Hai N V. The use of probiotics in aquaculture. Journal of Applied Microbiology 2015;119(4):917–35. https://doi.org/10.1111/jam.12886.
169 Banerjee G, Ray AK. The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries. Research in Veterinary Science 2017; 115:66–77. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.01.016.
170 Ringø, E.; Van Doan, H.; Lee, SH; Soltani, M.; Hoseinifar, SH; Harikrishnan, R.; Song, SK Пробиотики, молочнокислые бактерии и бациллы: интересные добавки для аквакультуры. J. Appl. Microbiol. 2020, 129, 116–136.
171 Медина, А.; Гарсиа-Маркес, Х.; Мориньиго, магистр искусств; Арихо, С. Влияние потенциального пробиотика Vibrio proteolyticus DCF12.2 на иммунную систему Solea senegalensis и защиту от Photobacterium damselae subsp. piscicida и Vibrio harveyi. Рыбы 2023, 8, 344.
172 Ahire JJ, Mokashe NU, Chaudhari BL. Effect of Dietary Probiotic Lactobacillus helveticus on Growth Performance, Antioxidant Levels, and Absorption of Essential

Trace Elements in Goldfish (Carassius auratus). Probiotics and Antimicrobial Proteins 2019; 11(2):559–568. https://doi.org/10.1007/s12602–018–9428–5.
173 Moustafa MM, Mohamed M. The influence of some probiotics on the growth performance and intestinal microbial flora of O. niloticus. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 2008.
174 Williams NT. Probiotics. American Journal of Health–System Pharmacy 2010; 67(6):449–58. https://doi.org/10.2146/ajhp090168.
175 Sarao LK, Arora M. Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2017; 57(2):344–371. https://doi.org/10.1080/10408398.2014.887055.
176 Park Y, Moniruzzaman M, Lee S, Hong J, Won S, Lee JM, et al. Comparison of the effects of dietary single and multi–probiotics on growth, non–specific immune responses and disease resistance in starry flounder, Platichthys stellatus. Fish and Shellfish Immunology 2016; 59:351–357. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.11.006.
177 Elshaghabee FMF, Rokana N, Gulhane RD, Sharma C, Panwar H. Bacillus as potential probiotics: Status, concerns, and future perspectives. Frontiers in Microbiology 2017; 10;8:1490. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01490.
178 Elisashvili V, Kachlishvili E, Chikindas ML. Recent Advances in the Physiology of Spore Formation for Bacillus Probiotic Production. Probiotics and Antimicrobial Proteins 2019; 11(3):731–747. https://doi.org/10.1007/s12602–018–9492–x.
179 Mingmongkolchai S, Panbangred W. Bacillus probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production. Journal of Applied Microbiology 2018; 124(6):1334–1346. https://doi.org/10.1111/jam.13690.
180 Kuebutornye FKA, Abarike ED, Lu Y, Hlordzi V, Sakyi ME, Afriyie G, et al. Mechanisms and the role of probiotic Bacillus in mitigating fish pathogens in aquaculture. Fish Physiology and Biochemistry 2020; 46(3):819–841. https://doi.org/10.1007/s10695–019–00754–y.
181 Yanbo W, Zirong X. Effect of probiotics for common carp (Cyprinus carpio) based on growth performance and digestive enzyme activities. Animal Feed Science and Technology 2006; 231:108724. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.09.003.
182 Liu CH, Chiu CH, Wang SW, Cheng W. Dietary administration of the probiotic, Bacillus subtilis E20, enhances the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, Epinephelus coioides. Fish and Shellfish Immunology 2012; 33(4):699 – 706. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.06.012.
183 Zhou C, Wang H, Li X, Luo Y, Xie M, Wu Z, et al. Regulatory effect of Bacillus subtilis on cytokines of dendritic cells in grass carp (Ctenopharyngodon idella). International Journal of Molecular Sciences 2019; 20(2):389. https://doi.org/10.3390/ijms20020389.
184 Opiyo MA, Jumbe J, Ngugi CC, Charo–Karisa H. Different levels of probiotics affect growth, survival and body composition of Nile tilapia (Oreochromis niloticus) cultured in low input ponds. Scientific African 2019; 4; e00103. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00103.

185 Gupta A, Gupta P, Dhawan A. Dietary supplementation of probiotics affects growth, immune response and disease resistance of Cyprinus carpio fry. Fish and Shellfish Immunology 2014; 41(2):113–9. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.08.023.
186 Hatti–Kaul R, Chen L, Dishisha T, Enshasy H El. Lactic acid bacteria: From starter cultures to producers of chemicals. FEMS Microbiology Letters 2018; 365(20). https://doi.org/10.1093/femsle/fny213.
187 Teame T, Wang A, Xie M, Zhang Z, Yang Y, Ding Q, et al. Paraprobiotics and Postbiotics of Probiotic Lactobacilli, Their Positive Effects on the Host and Action Mechanisms: A Review. Frontiers in Nutrition 2020;7: 570344. https://doi.org/10.3389/fnut.2020.570344.
188 Giraffa G, Chanishvili N, Widyastuti Y. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. Research in Microbiology 2010; 161(6):480 – 7. https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.03.001.
189 Munir MB, Hashim R, Chai YH, Marsh TL, Nor SAM. Dietary prebiotics and probiotics influence growth performance, nutrient digestibility and the expression of immune regulatory genes in snakehead (Channa striata) fingerlings. Aquaculture 2016; 460; 59–68. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.03.041.
190 Avella MA, Olivotto I, Silvi S, Place AR, Carnevali O. Effect of dietary probiotics on clownfish: A molecular approach to define how lactic acid bacteria modulate development in a marine fish. American Journal of Physiology – Regulatory Integrative and Comparative Physiology 2010; 298(2):R359–71. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00300.2009.
191 Dawood MAO, Koshio S, Ishikawa M, El–Sabagh M, Esteban MA, Zaineldin AI. Probiotics as an environment–friendly approach to enhance red sea bream, Pagrus major growth, immune response and oxidative status. Fish and Shellfish Immunology 2016; 57:170–178. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.08.038.
192 Yu L, Zhai Q, Zhu J, Zhang C, Li T, Liu X, et al. Dietary Lactobacillus plantarum supplementation enhances growth performance and alleviates aluminum toxicity in tilapia. Ecotoxicology and Environmental Safety 2017; 143:307–314. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.023.
193 Pourgholam MA, Khara H, Safari R, Sadati MAY, Aramli MS. Dietary Administration of Lactobacillus plantarum Enhanced Growth Performance and Innate Immune Response of Siberian Sturgeon, Acipenser baerii. Probiotics and Antimicrobial Proteins 2016; 8(1):1–7. https://doi.org/10.1007/s12602–015–9205–7.
194 Soltani M, Pakzad K, Taheri–Mirghaed A, Mirzargar S, Shekarabi SPH, Yosefi P, et al. Dietary Application of the Probiotic Lactobacillus plantarum 426951 Enhances Immune Status and Growth of Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) Vaccinated Against Yersinia ruckeri. Probiotics and Antimicrobial Proteins 2019; 11(1):207–219. https://doi.org/10.1007/s12602–017–9376–5.
195 Kong Y, Gao C, Du X, Zhao J, Li M, Shan X, et al. Effects of single or conjoint administration of lactic acid bacteria as potential probiotics on growth, immune

response and disease resistance of snakehead fish (Channa argus). Fish and Shellfish Immunology 2020; 102; 412–421. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.003.
196 Nguyen TL, Park C Il, Kim DH. Improved growth rate and disease resistance in olive flounder, Paralichthys olivaceus, by probiotic Lactococcus lactis WFLU12 isolated from wild marine fish. Aquaculture 2017; 471;113–120. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.01.008.
197 Mohammadian T, Nasirpour M, Tabandeh MR, Heidary AA, Ghanei–Motlagh R, Hosseini SS. Administrations of autochthonous probiotics altered juvenile rainbow trout Oncorhynchus mykiss health status, growth performance and resistance to Lactococcus garvieae, an experimental infection. Fish and Shellfish Immunology 2019; 86;269–279. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.11.052.
198 Wang YB, Tian ZQ, Yao JT, Li W fen. Effect of probiotics, Enteroccus faecium, on tilapia (Oreochromis niloticus) growth performance and immune response. Aquaculture 2008; 277(3–4);203–207. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.03.007.
199 Abd El–Rhman AM, Khattab YAE, Shalaby AME. Micrococcus luteus and Pseudomonas species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, Oreochromis niloticus. Fish and Shellfish Immunology 2009; 27;175–180. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.03.020.
200 Zhou X, Tian Z, Wang Y, Li W. Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (Oreochromis niloticus) growth performance and immune response. Fish Physiology and Biochemistry 2010;36(3):501–509. https://doi.org/10.1007/s10695–009–9320–z.
201 Aly SM, Mohamed MF, John G. Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in Tilapia nilotica (Oreochromis niloticus). Aquaculture Research 2008;39(6);647–656. https://doi.org/10.1111/j.1365–2109.2008.01932.x.
202 Ramakrishnan CM, Haniffa MA, Manohar M, Dhanaraj M, Arockiaraj AJ, Seetharaman S, et al. Effects of probiotics and spirulina on survival and growth of juvenile common carp (Cyprinus carpio). Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh 2008;60(2),128–133.
203 Suzer C, Çoban D, Kamaci HO, Saka Ş, Firat K, Otgucuoğlu Ö, et al. Lactobacillus spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (Sparus aurata, L.) larvae: Effects on growth performance and digestive enzyme activities. Aquaculture 2008;280(1–4);140–145. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.04.020.
204 Geraylou Z, Souffreau C, Rurangwa E, De Meester L, Courtin CM, Delcour JA, et al. Effects of dietary arabinoxylan–oligosaccharides (AXOS) and endogenous probiotics on the growth performance, non–specific immunity and gut microbiota of juvenile Siberian sturgeon (Acipenser baerii). Fish and Shellfish Immunology 2013;35(3):766–75. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.06.014.
205 Harikrishnan R, Kim M.C., Kim J.S., Balasundaram C, Heo M.S. Probiotics and herbal mixtures enhance the growth, blood constituents, and nonspecific immune

response in Paralichthys olivaceus against Streptococcus parauberis. Fish and Shellfish Immunology 2011;31(2):310–7. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.05.020.
206 Mohapatra S., Chakraborty T, Prusty A.K., Das P., Paniprasad K., Mohanta KN. Use of different microbial probiotics in the diet of rohu, Labeo rohita fingerlings: Effects on growth, nutrient digestibility and retention, digestive enzyme activities and intestinal microflora. Aquaculture Nutrition 2012;18(1);1–11. https://doi.org/10.1111/j.1365–2095.2011.00866.x.
207 Степаненко П. П. Микробиология молока и молочных продуктов.-М.: Лира, 2002.-413с.
208 МЕМСТ 26670-91 – Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов.
209 МЕМСТ ISO 11133-2-2011. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по эксплуатационным испытаниям культуральных сред. Часть 2. Практические руководящие указания по эксплуатационным испытаниям культуральных сред.
210 Sagymbek F. et al. Comparative characterization of strains of lactic acid bacteria isolated from Kazakhstan mare's milk and koumiss to create probiotic preparation //Slovak Journal of Food Sciences/Potravinarstvo. – 2023. – Т. 17. – №. 1.
211 Глушанова Н.А., Блинова А.И., Бахаева В.В. Об антагонизме пробиотических лактобацилл // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2004. - № 6. – С. 37-39.
212 Лиходед В.Г., Бондаренко В.М. Антиэндотоксиновый иммунитет в регуляции численности эшерихиозной микрофлоры кишечника. -М.:Медицина. - 2007. – 216 с.
213 Новокшонов А.А. Физиологические функции лактобактерий в организме и эффективность их применения в составе пробиотиков в педиатрической практике [Текст]/ Новокшонов А.А., Соколова Н.В.// Эффективная фармакотерапия. – 2012. – №53. – С. 52-57.
214 Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования /Под ред М.О. Биргер– М.: Медицина. – 1982. – 462 с.
215 Stanton C. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites [text]/ Stanton C., Ross R.P., Fitzgerald G.F., Van Sinderen D.// Curr. Opin. Biotechnol. – 2005. – №16. – С. 198–203.
216 Чернякова В.И., Смирнова Т.В. Влияние желчи на интестинальные аэробные бактерии // Врач. дело. – 1978. - № 10. – С. 87-91
217 Saarela M., Mogensen G., Fonden R., Matto J. and Matilla S. T. Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology. - 2000. -№ 84. -P. 197-215.
218 Azat, R., Liu, Y., Li, W., Kayir, A., Lin, D., Zhou, W., & Zheng, X. (2016). Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented

Xinjiang cheese. In Journal of Zhejiang University- SCIENCE B (Vol. 17, Issue 8, pp. 597–609). Zhejiang University Press. https://doi.org/10.1631/jzus.b1500250

219 Danova, S., Petrov, K., Pavlov, P., & Petrova, P. (2005). Isolation and characterization of Lactobacillus strains involved in koumiss fermentation. In International Journal of Dairy Technology (Vol. 58, Issue 2, pp. 100–105). Wiley. https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00194.x

220 Hamad, I., Cardilli, A., Côrte-Real, B. F., Dyczko, A., Vangronsveld, J., & Kleinewietfeld, M. (2022). High- Salt Diet Induces Depletion of Lactic Acid-Producing Bacteria in Murine Gut. In Nutrients (Vol. 14, Issue 6, p. 1171). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/nu14061171

221 Padmavathi, T., Bhargavi, R., Priyanka, P. R., Niranjan, N. R., & Pavitra, P. V. (2018). Screening of potential probiotic lactic acid bacteria and production of amylase and its partial purification. In Journal of Genetic Engineering and Biotechnology (Vol. 16, Issue 2, pp. 357–362). Springer Science and Business Media LLC. https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.03.005

222 Kasimin, M. E., Mohd. Faik, A. A., Jani, J., Abbasiliasi, S., B. Ariff, A., & Jawan, R. (2020). Probiotic properties of antimicrobial-producing lactic acid bacteria isolated from dairy products and raw milk of sabah (northern borneo), malaysia. In Malaysian Applied Biology (Vol. 49, Issue 3, pp. 95–106). Persatuan Biologi Gunaan Malaysia. https://doi.org/10.55230/mabjournal.v49i3.1580

223 Pal, A., & Bhowal, S. (2021). An in vitro comparative analysis of properties of probiotic bacteria present in beverages. In Journal of Advanced Scientific Research (Vol. 12, Isuue 03, pp. 76–81) https://doi.org/10.55218/JASR.202112344

224 Айтжанова А.А., Саубенова М.Г., Мунье Дж., Олейникова Е.А., Бержанова Р. Ж. Выделение штаммов микроорганизмов из казахских кисломолочных продуктов с антагонистической активностью в отношении дрожжей рода Candida // Вестник КазНУ. Сер. биологическая. – 2019. – No2(79). – С. 54-63.

225 Кулмагамбетов И.Р., Треножникова Л.П., Нурманбетова Ф.Н., Сарсенбаева С.С., Международные программы профилактики и борьбы с антибиотикорезистентностью // Известия НАН РК: серия биологическая и медицинская. - 2014. - №6(306). - С. 65-72.

226 Саданов А.К., Березин В.Э., Треножникова Л.П., Балгимбаева А.С. , Ултанбекова Г.Д. Микозы человека и противогрибковые препараты: Монография, Алматы: Kausar Studio, 2016. – 289 с.

227 Biotechnology Congress 2020. Poster Abstracts: Volume 35, 2021. - Pages: S62-128. Published online: 26 Feb 2021. https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13102818.2020.1871545

228 Камалова А.А. Обоснование и результаты применения пробиотиков при гастродуоденальной патологии // Практическая медицина -2011. - № 1 (49). - С.86—88.

229 Егорова Т.А., Клунова С.М. «Основы биотехнологии», 3–изд. М.: Академия. – 2006. – 208 с.

230 Сазыкин Ю.О., Орехов С.Н., Чакалева И.И. «Биотехнология» М.: Академия. – 2006. – 254с.
231 Дудикова Г.Н. Биотехнологические основы использования лактобацилл для защиты зерновых продуктов от бактериальной контаминации: Дисс. докт. биол. Наук. – Алматы. – 2002. – 320 с.
232 Каталог культур микроорганизмов. – Астана. – 2003. – 186с.
233 Руководство к практическим занятиям по микробиологии/ Под ред. Н.С. Егорова – М.: Московский университет. – 1995. – 220 с.
234 Sagymbek F. G., Serikbaeva A.D., Abdigalieva T. B. Evaluation of the biosafety of the lactobacillus paracasei 010K strain //Bulletin of Shakarim University. Technical Sciences series. – 2024. - t. 1. – №. 4 (16). – P. 263-269.
235 Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим исследованиям. – М:Медицина, 1982. – 462с.
236 Табаков Н.А., Савченко Т.Ю. Источники нетрадиционных кормовых добавок и их полезные свойства // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2020. –№ 5 (158). – 125–129 с.
237 Абросимова Н. А., Лобзакова Т. В. Особенности кормления годовиков осетровых для формирования маточного стада // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: сб. материалов III Междунар. науч.-практ. конф. – Астрахань: Альфа-АСТ, 2004. – С. 230–231.
238 Пономарёва Е. Н., Бахарева А.А. Оптимизация состава стартовых комбикормов для молоди осетровых рыб // Современные проблемы Каспия: материалы Междунар. конф., посвященной 105-летию КаспНИРХ. – Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2002. – С. 265–268.
239 Технологии выращивания и кормления объектов аквакультуры юга России / С.В. Пономарев [и др.]. - Астрахань: «Нова-плюс», 2002. - 264 с.
240 Floris R., Sanna G., Mura L., Fiori M., Culurgioni J., Diciotti R., Rizzo C., Lo Giudice A., Laganà P., Fois N. Выделение и идентификация бактерий с поверхностной и антибактериальной активностью из кишечника средиземноморских серых кефалей. Микроорганизмы. 2021;9:2555. doi: 10.3390/microorganisms9122555. [ DOI ] [ Бесплатная статья PMC ] [ PubMed ] [ Google Scholar ]
241 Biswas, G., Korenaga, H., Nagamine, R., Kawahara, S., Takeda, S., Kikuchi, Y., Dashnyam, B., Yoshida, T., Kono, T., & Sakai, M. (2013). Cytokine mediated immune responses in the Japanese pufferfish (Takifugu rubripes) administered with heat-killed Lactobacillus paracasei spp. paracasei (06TCa22) isolated from the Mongolian dairy product. International immunopharmacology, 17(2), 358–365. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.06.030
242 Ringø, E., Van Doan, H., Lee, S. H., Soltani, M., Hoseinifar, S. H., Harikrishnan, R., & Song, S. K. (2020). Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. Journal of applied microbiology, 129(1), 116–136. https:// doi.org/10.1111/jam.14628

243 Aguilar-Toalá, J. E., Arioli, S., Behare, P., Belzer, C., Berni Canani, R., Chatel, J. M., D'Auria, E., de Freitas, M. Q., Elinav, E., Esmerino, E. A., García, H. S., da Cruz, A. G., González-Córdova, A. F., Guglielmetti, S., de Toledo Guimarães, J., Hernández-Mendoza, A., Langella, P., Liceaga, A. M., Magnani, M., Martin, R., … Zhou, Z. (2021). Postbiotics - when simplification fails to clarify. Nature reviews. Gastroenterology & hepatology, 18(11), 825–826. https://doi.org/10.1038/s41575-021-00521-6

244 Kader, M.A., Bulbul, M., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Nguyen, B.T., et al., 2012. Effect of complete replacement of fishmeal by dehulled soybean meal with crude attractants supplementation in diets for red sea bream, Pagrus major. Aquaculture 350, 109–116.

245 Hardy, R.W., Barrows, F.T., 2002. Diet formulation and manufacturing. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish nutrition, third ed. Academic Press, Inc., New York, pp. 505–600.

# ҚОСЫМША А

Lactobacillus paracasei – 010К штамына паспорт

«УТВЕРЖДАЮ»
Ректор АО «АТУ»
_____ Кулажанов Т.К
«03» 02 2022 г.

**ПАСПОРТ**
**ШТАММА (АССОЦИАЦИИ),**
**МИКРООРГАНИЗМА (ОВ)**

1. Видовое название культуры (ассоциации): Lactobacillus paracasei
2. Номер штамма и обозначение: 010К.
3. Автор (ы) и год описания: Сағымбек Ф.Ғ., Абдигалиева Т.Б., 2022г.
4. Способ получения/выделения штамма (ассоциации): найден в естественных условиях, где, когда, кем, получен селекционным путем, получен как мутант и т.п.: найден в естественных условиях, Алматинская обл. Талгарский район, Сағымбек Ф.Ғ., выделен из кумыса.
5. Где (наименование организации и ее адрес) идентифицирован штамм или ассоциацию микроорганизмов: АО «Алматинский технологический университет», Научно-исследовательский институт пищевой безопасности.
6. Культурально-морфологические особенности и физиолого-биохимические свойства штамма (ассоциации): температура (мин. 20˚С, опт. - 39˚С, макс. - 45˚С), pH (мин. pH4, опт. pH6, макс. pH6,5), отношение к кислороду (аэроб/анаэроб/факультативный анаэроб) и др..

а) бактерии: форма, размеры, очертания концов микробной клетки, окраска по Граму, кислотоустойчивость, спорообразование;

Представляет собой палочки с тупыми концами размером 2,7-3,1 х 0,9 мкм, имеет тенденцию к образованию цепочек. Грамположительные, каталазоотрицательные, аспорогенные, неподвижные, кислотоустойчивые.

Колонии на плотной питательной среде (размер, форма, край, консистенция, пигментообразование);

Среда молочно-гидролизованный агар, 1 сут., pH 5,5-6; 37-39˚С, размер мелкие, плоские, лопастным краем, прозрачные с сероватым оттенком.

Среда MRS, 1 сут., pH 5,5-6; 37-39˚С, размер мелкие, плоские, лопастным краем, белые с сероватым оттенком.

Рост в жидкой среде (пленка, кольцо, осадок, помутнение, рост по стенке пробирки, изменение цвета среды, запах, флуоресценция).

Среда MRS, 37-39˚С, осадок, помутнение. Изменения среды подкисление, выпадение осадка.

7. Область применения штамма (ассоциации) рыбоводство.
8. Продукт, синтезируемый штаммом (ассоциацией) молочная кислота, антибиотические вещества.
9. Активность (продуктивность) штамма (ассоциации) с указанием условий культивирования, методов, сред, а также производственные показатели MRS, гидролизованное молоко.
10. Способ, условия и состав сред для длительного хранения штамма (ассоциации) Молочно-гидролизованный агар с мелом, 37-39˚С, 1 сут., культура, штрих, сроки пересева 1раз в месяц, ˚Т хранения +4˚С.

MRS, 1 сут., pH 5,5-6; 37-39˚С, 1 сут., культура, штрих, сроки пересева 1раз в месяц, ˚Т хранения +4˚С.

Молочно-гидролизованный полужидкий (0,3%) агар с мелом, 37-39˚С, 3 сут., культура, укол, сроки пересева в год 1 раз, ˚Т хранения +4˚С.

MRS полужидкий (0,3%) агар с мелом, 37-39˚С, 3 сут., культура, укол, сроки пересева в год 1 раз, ˚Т хранения +4˚С.

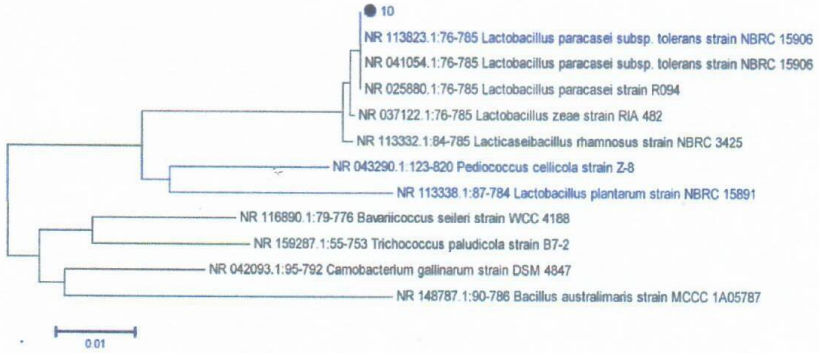
11. Условия и состав среды для ферментации штамма (ассоциации) обезжиренное молоко, pH6.

12. Генетические особенности штамма (ассоциации) анализ нуклеотидной последовательности гена 16 (18)S рРНК, ITS – области, белковые профили методом масс-спектрометрии, ПЦР с видоспецифичными праймерами (данные, на основании которых было сделано заключение о родовой/видовой принадлежности микроорганизма должны прилагаться к паспорту на каждую культуру)

**010К – *Lactobacillus paracasei***

Последовательность нуклеотидов:

TCAACATGGAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTTAAG
TGGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAGATCCAAGAACCGCATG
GTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATTA
GCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGATGATACGTAGCCGAACTGAGAGG
TTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGT
AGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGA
AGGCTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAGAGTAACTGT
TGTCGGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCG
CGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCA
GGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAAGCGCATCGGA
AACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAA
TGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACTG
ACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGA




Степень гомологии с ближайшим штаммом NR 113823.1:76-785 ***Lactobacillus paracasei*** *subsp. tolerans* strain NBRC 15906 составила 100,00%, что позволяет отнести данный микроорганизм к этому виду.

13. Литературные ссылки, публикации нет

14. Исследование класса опасности (патогенности) не патогенный

15. Форма депонирования: хранение, гарантийное хранение, национальное патентное депонирование.

А) для формы депонирования «хранение»:

Депозитор информирован о том, что штамм будет исследован и включен в общую коллекцию. Информация о штамме будет помещена в каталог/базу данных коллекционных культур, а сам штамм может выдаваться по запросу третьих лиц **Да**.

Б) для формы депонирования «гарантийное хранение»:

Срок гарантийного хранения __(указать количество лет);

Депозитор информирован о том, что после окончания оговоренного срока, если нет иных указаний, штамм переводится в категорию «хранение».

В) для формы депонирования «патентное депонирование»:

Депозитор обязуется:

- сообщать в коллекцию информацию о подаче заявки на патент, касающийся депонированного штамма (ассоциации), о получении патента по заявке или об отказе выдаче патента, а также о прекращении действия патента **Да**;
- по просьбе коллекции, в случае необходимости, осуществлять проверку жизнеспособности депонированного штамма (ассоциации) **Да**;
- возобновлять штамм (ассоциации) в коллекции в случае утери их жизнеспособности **Да**.

16. Депозитор

| Депозитор(ы) | ФИО | Подпись(и) депозитора(ов) |
|---|---|---|
| АО «Алматинский технологический университет», Научно-исследовательский институт пищевой безопасности | Сағымбек Ф.Ғ. | |
| | Абдигалиева Т.Б. | |

| | |
|---|---|
| Наименование организации-депозитора | Акционерное общество «Алматинский технологический университет» |
| Почтовый адрес депозитора | 050012, г. Алматы, ул. Толе би, 100 |
| Контактный телефон | +7 (727) 2 93 52 87 |
| Электронная почта | info@atu.kz |

Дата заполнения паспорта 25.02.2022 г.

Кем составлен паспорт Сағымбек Ф.Ғ.

М.П.

# ҚОСЫМША Ә

Профилактикалық және емдік әсерге ие іріктелген Lactobacillus paracasei –010К штамының биоқауіпсіздігі

**«СОГЛАСОВАНО»**
**Заместитель генерального директора**
**по научнойработе ТОО «НПЦ микробиологии и вирусологии»**

**Баймаханова Б.Б.**
«04» шаурез 20 22 г.

**«УТВЕРЖДАЮ»**
**Исполнительный директор**
**ТОО «НПЦ микробиологии и вирусологии»**

**Мусабеков Ж.К.**
«04» шаурез 2022 г.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ № 109**
**(исследование безопасности штамма)**

1. Родовое и видовое название культуры: ***Lactobacillus paracasei***
2. Номер или наименование штамма: **010 К**
3. Авторы: и год описания: Сағымбек Ф. Ғ., Абдигалиева Т.Б., 2022г.
4. Способ получения штамма: Найден в естественных условиях, в Алматинской обл., Талгарский р-он, выделен из кумыса.
5.Где идентифицирована культура: АО «Алматинский технологический университет», Научно-исследовательский институт пищевой безопасности.

Изучены основные культурально-морфологические, биохимические и физиологические признаки штамма.

Проведен молекулярно-генетический анализ нуклеотидных последовательностей по 16S РНК. Степень гомологии с ближайшим штаммом составила 100% (см.паспорт на штамм).

Изучение вирулентности штамма ***Lactobacillus paracasei*** **010К**: Исследование вирулентности штамма проводились общепринятым методом на 8 группах животных, в концентрациях от $10^3$ до $10^{11}$ КОЕ/мл

**Результаты исследования острой токсичности штамма *Lactobacillus paracasei* 010К при внутрибрюшинном и пероральном введении.**

| №№ | К-во животных в опыте | Способ введения | Доза КОЭ/мл. | Заболело животных | Летальность животных | Кол-во выживших животных |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | В/брюшинно | $10^3$ | 0 | 0 | 5 |
| 2 | 5 | В/брюшинно | $10^5$ | 0 | 0 | 5 |
| 3 | 5 | В/брюшинно | $10^7$ | 0 | 0 | 5 |
| 4 | 5 | В/брюшинно | $10^9$ | 0 | 0 | 5 |
| Контроль | 3 | В/брюшинно | Физ.р-р | 0 | 0 | 3 |
| 5 | 5 | Перорально | $10^5$ | 0 | 0 | 5 |
| 6 | 3 | Перорально | $10^7$ | 0 | 0 | 3 |
| 7 | 3 | Перорально | $10^9$ | 0 | 0 | 3 |
| 8 | 4 | Перорально | $10^{11}$ | 0 | 0 | 4 |
| Контроль | 2 | Перорально | Физ.р-р | 0 | 0 | 2 |

Контрольным животным вводили физиологический раствор. По результатам опытов токсических проявлений у животных не наблюдалось. В этот период все животные оставались активными, хорошо поедали пищевые рационы, прибавляли в весе, физиологические отправления и поведенческие реакции у них не изменялись. Как следует из проведенных исследований культуры штамма *Lactobacillus paracasei* 010К не вирулентна.

**Аллергенное действие по сенсибилизирующему эффекту**: Определение среднеаллергенной дозы проводились на морских свинках, которым на выстриженные участки тела путем аппликации наносили исследуемую культуру в концентрациях $10^3$,$10^5$,$10^7$КОЕ/мл на одно животное, а контрольным животным наносили на

выстриженные участки щеточкой физиологический раствор. Учет реакции проводился через 24 часа и в течение 5дней. Результат оценивали в баллах по следующей шкале:
0 - видимой реакции нет;
1 - бледно-розовая эритема по всему участку или по его периферии;
2 - ярко- розовая эритема по всему участку или по его периферии;
3 - красная эритема по всему участку;
4 - инфильтрация и отек кожи (утолщение кожной складки) при наличии или отсутствии эритемы;
5 - эритема, выраженная инфильтрация, очаговые изъязвления (некроз), возможны геморрагии, образование корочек.
В нашем опыте – 0 баллов, видимой реакции нет.

**Местно-раздражающее действие:** При введении исследуемой культуры в виде взвеси количеством 1,0 мл в коньюнктиву глаза кролика весом 3-3,5кг с концентрацией $1x10^9$/мл реакция в виде инъекции сосудов склеры и роговицы, слизистых выделений в углах глаза не наблюдалось. Таким образом, исследуемый штамм не обладает местно-раздражающим действием

**Морфологические изменения внутренних органов:** Результаты вскрытия животных показали: печень темно-красного цвета, доли не увеличены. Селезенка не увеличена. «Рисунок» мозгового и коркового вещества четкий. Легкие в N.
Таким образом, этот штамм не обладает аллергенным действием.

**Заключение**

Полученные данные свидетельствуют о безопасности культуры *Lactobacillus paracasei* 010К и данный штамм относится к 4-классу опасности, непатогенен.
Исследования безопасности штамма проводили согласно «Методическим рекомендациям к постановке исследований по оценке вирулентности штаммов продуцентов микроорганизмов, предназначенных для получения продуктов микробиологического синтеза» (М.,1982); Методических указаний «Постановка исследований для обоснования ПДК производственных штаммов и на основе готовых форм препаратов в воздухе рабочей зоны» (М.,1983); Методических указаний «По экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды» (М,1993), Биргер М.О.; «Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования» (М.,1982)
При выполнении экспериментов на животных руководствовались «Правилами гуманного обращения с лабораторными животными» (СП №1045-73, 2003).
Заключение составлено в соответствий представленному паспорту на штамм.

**К.б.н., с.н.с** **Байдалинов А.И.**

# ҚОСЫМША Б

*Lactobacillus paracasei – 010К* штамын депонирлеу

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІНІҢ
«МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
КОЛЛЕКЦИЯСЫ» ШАРУАШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУ
ҚҰҚЫҒЫНДАҒЫ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
МЕМЛЕКЕТТІК КӘСІПОРНЫ

РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ НА ПРАВЕ ХОЗЯЙСТВЕННОГО
ВЕДЕНИЯ «РЕСПУБЛИКАНСКАЯ
КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ»
КОМИТЕТА НАУКИ МИНИСТЕРСТВА
ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

010000, Нұр-Сұлтан қ., Ш. Уәлиханов, 13/1
тел./факс: + 7 (7172) 20 10 32
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БСН 061140003586

010000, г. Нур-Султан, ул. Ш. Уалиханова, 13/1
тел./факс: + 7 (7172) 20 10 32
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БИН 061140003586

29.04.2022 № 09112-71
№ ге

## СВИДЕТЕЛЬСТВО
## О ДЕПОНИРОВАНИИ МИКРООРГАНИЗМА

Кому: **Сағымбек Ф.Ғ., Абдигалиевой Т.Б.**
**(имя и/или наименование организации и адрес** депозитора, которым выдается свидетельство о депонировании)
**АО «Алматинский технологический университет»**

### 1. НАЗВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМА

***Lactobacillus paracasei***

| Опознавательная ссылка (номер, ссылкаи т.п., присвоенный штамму депозитором) | Коллекционный номер, присвоенный коллекцией |
|---|---|
| **010К** | **B- RKM 1009** |

### 2. НАУЧНОЕ ОПИСАНИЕ И/ИЛИ ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМА

Род: ***Lactobacillus***
Вид: ***paracasei***

Микроорганизмы, поименованные в пункте 1, сопровождаются ходатайством о депонировании, включающем

[+] [1] Паспорт

[+] [1] Заключение об исследовании класса опасности

### 3. ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИНЯТИЕ

Настоящим утверждается, что микроорганизм бактериальной культуры, поименованный в пункте 1, **депонирован в Республиканской коллекции микроорганизмов с целью национального патентного депонирования.**

**Дата депонирования**
**28.04.2022 г.**

002110

**4. КОЛЛЕКЦИЯ**

**РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов»**

Название коллекции:
**РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» МЗ РК**

**Заведующий Биобанком промышленных микроорганизмов**

**Генеральный директор**

Подпись лица, уполномоченного, представлять коллекцию, или полномочного должностного лица:

_____ **Искакова А.Н.**

_____ **Сармурзина З.С.**

«28» 04 2022 г.

Адрес коллекции:

**010000, г.Нур-Султан,**
**ул. Ш. Уэлиханова, 13/1**
**факс 8 (7172) 20-10-32**
**e-mail: rcm-info@mail.ru**

Печать организации (гербовая)

# ҚОСЫМША В

АҚШ GENBANK деректер базасындағы сәйкестендіру нөмері



An official website of the United States government

Here's how you know

Nucleotide

GenBank

## Lacticaseibacillus paracasei strain 010K 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: PV523901.1

FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       PV523901               906 bp    DNA     linear   BCT 21-APR-2025
DEFINITION  Lacticaseibacillus paracasei strain 010K 16S ribosomal RNA gene,
            partial sequence.
ACCESSION   PV523901
VERSION     PV523901.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Lacticaseibacillus paracasei
  ORGANISM  Lacticaseibacillus paracasei
            Bacteria; Bacillati; Bacillota; Bacilli; Lactobacillales;
            Lactobacillaceae; Lacticaseibacillus.
REFERENCE   1  (bases 1 to 906)
  AUTHORS   Sagymbek,F.
  TITLE     Direct Submission
  JOURNAL   Submitted (16-APR-2025) Department of Technology and safety of food
            products, Kazakh National Agrarian Research University, Abai,
            Almaty 050060, Kazakhstan
COMMENT     ##Assembly-Data-START##
            Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
            ##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
     source          1..906
                     /organism="Lacticaseibacillus paracasei"
                     /mol_type="genomic DNA"
                     /strain="010K"
                     /db_xref="taxon:1597"
                     /geo_loc_name="Kazakhstan"
                     /collection_date="25-Feb-2022"
     rRNA            <1..>906
                     /product="16S ribosomal RNA"
ORIGIN
        1 ggcgtaaagc gagcgcaggc ggttttttaa gtctgatgtg aaagccctcg gcttaaccga
```

# ҚОСЫМША Г

*Lactobacillus paracasei – 010K* штамының белсенді композициясын құрастырып, бактериальды концентрант алу

БЕКІТЕМІН
«Ветеринария» факультетінің деканы
_____ Т. Жанабекова
«____» _____ 2022ж.

«ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ АГРАРЛЫҚ ЗЕРТТЕУ УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ «ВЕТЕРИНАРИЯ» ФАКУЛЬТЕТІ

АКТ

Біз, төменде қол қоюшылар: Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті "Микробиология, вирусология және иммунология" кафедрасының меңгерушісі, в.ғ.д., профессор Киркимбаева Ж.С., в.ғ.к., профессор Мықтыбаева Р.Ж., б.ғ.к., қауым. профессор Кожахметова З.А., Алматы технологиялық университетінің PhD докторанты Сағымбек Ф.Ғ. 2022 жылы мамыр айының 23-30 аралығында «Микробиоценоз және пробиотиктерді құрастыру» ғылыми-зерттеу зертханасында өндірісте ұтымды пайдалану мақсатында іріктелген штаммның Lact.paracasei 010K белсенді композициясын құрастырып және құрғақ бактериальды концентраттын алғанын растап, қол қойдық.

Құрғақ пробиотикалық препаратты әзірлеу кезінде қолданылатын лактобактерияның өндірістік штаммдардың биологиялық және технологиялық қасиеттерінің жиынтығын салыстырмалы зерттеу негізінде кешенді пробиотикалық препаратқа арналған Lact.paracasei 010K, Torulopsis sphaeerica 105k штаммдарын қамтитын 1 бактериялық композициядағы тәжірибелік препарат құрастырылды. Бұл ретте белсенді штаммдардың бір қоректік ортада өміршеңдік көрсету критериі басты есепке алынды. Құрғақ түрде кептірілген бактериялық композиция құрастыру бактерия өсінділерін тұрақтандырудан бастау алды.

Композиция Lact.paracasei 010K, Torulopsis sphaerica 105k штаммдарының 1:1 қатынасында қорғаныш ортасы ретінде қолданылып отырған майсыздандырылған сүтте егілді. Лиофилизация жұмыстары Lyobeta – 4 ps, Испания қондырғысында төмендегі 1- кестеде көрсетілген режимде жүргізілді.

Кесте 1 – Жүргізілген лиофилизация үрдісінің режимі

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 01 | Мұздату | -50 С | | 7:0 мин |
| 02 | Бастапқы кептіру | -30 | 300 | 7:0 |
| 03 | Бастапқы кептіру | -30 | 500 | 3:0 |
| 04 | Екіншілік кептіру | 40,0 | | 7:0 |
| 05 | Екіншілік кептіру | 37,0 | | 6:30 |

Алынған нәтижелер ұсынылып отырған қоректік орта сүт қышқылды микроорганизмдердің өсуіне айқын ынталандырушы әсерге ие екенін

көрсетеді, бұл олардың шығуын және ұзақ уақыт сақтау үшін өміршеңдігін арттыруға мүмкіндік береді.

Кесте 2 – Құрастырылған сынама препараттың сапалық көрсеткіштері

| Тәжірибелік сынамалар | Көрсеткіштер атауы | Тәжірибе нәтижесі |
|---|---|---|
| Композиция | Өміршең клеткалардың саны, млн,кл:<br>Lact. Paracasei 010 K,<br>Torulopsis sphaeerica 109k | <br><br>3,4±0,2<br>4,2±0,2 |
| | Бөтен микрофлорамен | ластануы жоқ |
| | Антагонистік белсенділігі | жоғары |

Препарат құрамындағы өсінділердің антагонистік белсенділігі мен бөтен микрофлорамен ластануы кейінге қалдырылған антагонизм әдісімен (Н.С.Егоров, 1986) жүргізілді. Сапалық көрсеткіштер бойынша тәжірибелік композиция жақсы көрсеткіштер көрсетіп, оған «Экопробиотик» деген атау берілді.

«Микробиология, вирусология және иммунология» кафедрасының меңгерушісі, профессор — Ж.Киркимбаева

Ветеринария ғылымдарының кандидаты, профессор — Р.Мықтыбаева

Биология ғылымдарының кандидаты, қауым.профессор — З.Кожахметова

Ізденуші, PhD докторант — Ф.Сағымбек

**ҚОСЫМША Ғ**

ҚР №7343 пайдалы модельге патент

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ 7343

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL

(21) 2022/0421.2

(22) 16.05.2022

(45) 12.08.2022

(54) Ауыл шаруашылығы жануарларының, құстардың және балықтардың асқазан-ішек ауруларының алдын алуға және емдеуге арналған пробиотикалық препаратты алу үшін пайдаланылатын Lactobacillus paracasei 010K сүт қышқылы бактерияларының штаммы
Штамм молочнокислых бактерий Lactobacillus paracasei 010K, используемый для получения пробиотического препарата, предназначенного для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных, птиц и рыб
A strain of lactic acid bacteria Lactobacillus paracasei 010K used to obtain a probiotic preparation intended for the prevention and treatment of gastrointestinal diseases of farm animals, poultry and fish

(73) Сағымбек Фатима Габитқызы (KZ)
Sagymbek Fatima Gabitkyzy (KZ)

(72) Сағымбек Фатима Габитқызы (KZ)
Sagymbek Fatima Gabitkyzy (KZ)
Абдигалиева Толкын Бакытовна (KZ)
Abdigaliyeva Tolkyn Bakytovna (KZ)
Махмаден Калима (KZ)
Makhmaden Kalima (KZ)
Зетбек Гаухар Саматқызы (KZ)
Zetbek Gaukhar Samatkyzy (KZ)
Икомбаев Талгат Дюсюмбекович (KZ)
Ikombayev Talgat Dyusyumbekovich (KZ)
Уразбекова Гульжан Ералыевна (KZ)
Urazbekova Gulzhan Yeralyevna (KZ)
Кожахметова Зубайра Амирбековна (KZ)
Kozhakhmetova Zubaira Amirbekovna (KZ)

ЭЦҚ қол қойылды — Е. Оспанов
Подписано ЭЦП — Е. Оспанов
Signed with EDS — Y. Ospanov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE

**ҚОСЫМША Д**

ҚР №36625 өнертабысқа патент

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

# ПАТЕНТ
# PATENT

**№ 36625**

**ӨНЕРТАБЫСҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION**

**(21)** 2022/0745.1

**(22)** 23.11.2022

**(45)** 01.03.2024

**(54)** Балықтың өсуін ынталандыруға, ауруларын алдын алуға және емдеуге арналған пробиотикалық препарат
Пробиотический препарат для стимуляции роста, профилактики и лечения заболеваний рыб
Probiotic drug for growth stimulation, prevention and treatment of fish diseases

**(73)** Сағымбек Фатима Габитқызы (KZ)
Sagymbek Fatima Gabitkyzy (KZ)

**(72)**

| | |
|---|---|
| Сағымбек Фатима Габитқызы (KZ) | Sagymbek Fatima Gabitkyzy (KZ) |
| Серикбаева Асия Демеухановна (KZ) | Serikbayeva Assiya Demeukhanovna (KZ) |
| Орақбаева Айнұр Дюсембекқызы (KZ) | Orakbayeva Ainur Dyusembekkyzy (KZ) |
| Сансызбаева Бибігүл Қуатжанқызы (KZ) | Sansyzbayeva Bibigul Kuatzhankyzy (KZ) |
| Омарова Аккенже Бердихановна (KZ) | Omarova Akkenzhe Berdikhanovna (KZ) |
| Икомбаев Талгат Дюсюмбекович (KZ) | Ikombayev Talgat Dyusyumbekovich (KZ) |
| Уразбекова Гульжан Ералыевна (KZ) | Urazbekova Gulzhan Yeralyevna (KZ) |
| Абдигалиева Толкын Бакытовна (KZ) | Abdigaliyeva Tolkyn Bakytovna (KZ) |

ҚР ҰЛТТЫҚ ЗИЯТКЕРЛІК МЕНШІК ИНСТИТУТЫ РМК

ЭЦҚ қол қойылды А. Артыкова
Подписано ЭЦП А. Артыкова
Signed with EDS A. Artykova

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директорының м.а.
И.о. директора РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Executive director of RSE «National institute of intellectual property»

**ҚОСЫМША Е**

"TENGRY FISH" ЖШС *Lactobacillus paracasei – 010K* штамы мен биологиялық препаратының балықтарға салымтырмалы зерттеу жүргізу

**УТВЕРЖДАЮ**
Директор ТОО «TENQRY FISH»
_____ Танжарық Ж.
«23» 09 2022 г.

**АКТ**

Мы нижеподписавшиеся, лабоарнт по зоотехнии Әбдірақым Е. с одной стороны и доктор биологических наук, профессор кафедры «Технология и безопасность пищевых продуктов» НАО «КАЗНАИУ» Серикбаева А.Д., ассоц. профессор кафедры «Пищевая биотехнология» АО «АТУ» Т.Б. Абдигалиева, PhD докторант Ф.Ғ. Сағымбек составили настоящий акт о нижеследующем, что с 25 августа по 23 сентября 2022 года, были проведены эксперименты по изучению действия пробиотика из штамма 010К – Lactobacillus paracasei в ТОО «TENQRY FISH» в аквариальных условиях.

Одним из факторов эффективного развития товарного рыбоводства является кормление рыб. Комбикорма для рыб, выпускаемые на комбикормовых заводах, требуют улучшения качества для получения более высокого биологического и экономического эффекта.

Основными задачами в разработке рецептур комбикормов являются их совершенствование путем повышения продуктивных свойств, удешевления, замены дефицитных или дорогостоящих компонентов нетрадиционным сырьем.

Поэтому представляло интерес, изучение возможности использования пробиотиков на основе молочнокислых бактерий и дрожжей взамен дорогостоящего корма при выращивании рыб.

Для этого были использованы аквариумы объемом 100 литров.

Материалом для исследования служили африканские тиляпия средней штучной массой 23 грамма.

Рыб содержали в непроточных аквариумах с температурой воды 26-28°, которых кормили стандартным рационом.

После адаптации рыб делили на три группы: два опытных и контрольная по 50 особей в каждой группе.

В ходе исследования были изучены следующие показатели:

- сохранность поголовья;
- живая масса в начале опыта и в конце опыта;
- абсолютный прирост, абсолютный среднесуточный прирост.

Исследования проведены по схеме, представленной в табл. 1.

Рыбы опытных групп получали вместе с кормом 5% пробиотиков от общего объема суточного рациона, а рыбы контрольной группы получали только корм. Продолжительность опыта составил один месяц.

Корм с препаратами готовили непосредственно перед употреблением. Для этого корм увлажняли теплой кипяченной водой, после чего его размешали с сухими препаратами. Полученную влажную мешанку скармливали рыбе породы африканская тиляпия, находившимся в аквариумах.

Таблица –1. Схема проведения исследования

| № | Вариант опыта | Особенности кормления | Количество рыб |
|---|---|---|---|
| I | Контрольный | 100% ОР | 50 |
| | 1 опытный | 95% ОР + 5% 010К – Lactobacillus paracasei | 50 |
| | 2 опытный | 95% ОР + 5% пробиотик «Экопробиотик» | 50 |
| П р и м е ч а н и е: сокращение: ОР – основной рацион. | | | |

Увеличение коэффициента массонакопления говорит об улучшении усвояемости корма рыбами.

Показано положительное влияние пробиотиков на жизнеспособность рыб, скорости их роста и рыбопродуктивность. Здесь показатели выше, чем в контрольной группе.

Полученные положительные данные экспериментальных исследований дают основание использовать вышеперечисленные препараты в производственных условиях при выращивании рыб.

На основании полученных данных комиссия считает возможным и целесообразным использование кормовых добавок на основе биопрепарата в рыбоводстве.

Лаборант по зоотехнии _____ Әбдірақым Е.

Научный руководитель, д.б.н., профессор _____ Серикбаева А.Д.

Научный консультант, ассоц.профессор _____ Абдигалиева Т.Б.

PhD докторант _____ Сағымбек Ф.Ғ.

# ҚОСЫМША Ё

*Lactobacillus paracasei – 010K* штамы мен биологиялық препаратының балық ішек микрофлорасына сандық және сапалық әсері

БЕКІТЕМІН
«Ветеринария» факультетінің деканы
Г. Жанабекова
«____» _____ 2022ж.

«ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ АГРАРЛЫҚ ЗЕРТТЕУ УНИВЕРСИТЕТІ» «ВЕТЕРИНАРИЯ» ФАКУЛЬТЕТІ

АКТ

Біз, төменде қол қоюшылар: Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті "Микробиология, вирусология және иммунология" кафедрасының меңгерушісі, в.ғ.д., профессор Киркимбаева Ж.С., в.ғ.к., профессор Мықтыбаева Р.Ж., б.ғ.к., қауым. профессор Кожахметова З.А., Алматы технологиялық университетінің PhD докторанты Сағымбек Ф.Ғ. 2022 жылы қыркүйек айының 26-30 аралығында «Микробиоценоз және пробиотиктерді құрастыру» ғылыми-зерттеу зертханасында салыстырмалы түрде берілген Lactobacillus paracasei, 010K штаммы және «Экопробиотик» пробиотикалық препараттарымен қоректендірілген тилапия балығының ішек микрофлорасына сандық және сапалық әсерін зерттеу мақсатында тәжірибе жүргізілгенін растап, қол қойдық.

Тәжірибе үш топта жүргізілді. Тәжірибеге әрқайсысы 10 балықтан тұратын 30 балық, бақылау және 2 тәжірибелік топтар қатысты.

Кесте 1 - Lactobacillus paracasei, 010K штаммы және "Экопробиотик" пробиотикалық препараттарымен қоректендірілгеннен кейінгі балықтардың ішек микрофлорасының сандық және сапалық көрсеткіштері, КТБ/см$^3$

| Топтар | Микробиологиялық көрсеткіштер | | |
|---|---|---|---|
| | Бактериялардың жалпы саны КТБ/ см$^3$ ($10^{-4}$) | Torulopsis sphaerica,109k КТБ/см$^3$ ($10^{-4}$) | Lactobacillus paracasei, 010K КТБ/см$^3$ ($10^{-6}$) |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Бақылау | 1.69 ± 0.06 | 1.38 ± 0.02 | 1.35 ± 0.02 |
| Тәжірибе 1 | 1.75 ± 0.02 | 1.94 ± 0.02 | 1.79 ± 0.03 |
| Тәжірибе 2 | 2.05 ± 0.07 | 2.07 ± 0.12 | 2.33 ± 0.05 |

Эксперимент соңында барлық петри табақтарындағы бактериялардың жалпы санының ең жоғары деңгейі екінші экспериментте тіркелді, яғни "Экопробиотик" пробиотигімен қоректенетін балықтарда (2,05×10$^{-4}$ КТБ/см$^3$, ал ең төменгі көрсеткіш бақылау тобында болды. Сонымен қатар, бұл бақылаумен салыстырғанда ішекте Lactobacillus paracasei, 010K штаммымен қоректенетін барлық балықтарда айтарлықтай жоғары болды. Балықтың ішек микрофлорасынан алынған сүт қышқылы бактерияларының орташа мөлшері 2-ші тәжірибе тобына жататын балықтарда жоғары болды.

Тәжірибе нәтижесінде Lactobacillus paracasei, 010K штаммымен және "Экопробиотик" пробиотикалық препаратымен емделген екі топтағы балықтар жақсы жалпы клиникалық жағдайды көрсетті.

| | | |
|---|---|---|
| «Микробиология, вирусология және иммунология» кафедрасының меңгерушісі, профессор | | Ж.Киркимбаева |
| Ветеринария ғылымдарының кандидаты, профессор | | Р.Мықтыбаева |
| Биология ғылымдарының кандидаты, қауым.профессор | | З.Кожахметова |
| Ізденуші, PhD докторант | | Ф.Сағымбек |

**ҚОСЫМША Ж**

2022 жылдың қазан айының 10-31 күндер аралығында Түркия мемлекетіндегі «Испарта қолданбалы ғылымдар университетінде» шетелдік тағылымдама

ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ

**CERTIFICATE**

This the certify that **Fatima Sagymbek**, a doctoral student of the Almaty Tecnological University, Kazakhstan, Almaty has successfully completed from 10th October to 31st October, 2022 long internship programme at Isparta University Of Applied Sciences, Faculty of Agriculture.

**Prof.Dr. MEVLÜT GÜL**

**Dean of the Faculty of Agriculture**

**Certificate №** 001

**Date certified «** 26 **»** October **2022**

www.isparta.edu.tr