

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

«Химиялық және биологиялық технологиялар» институты

«Химиялық және биохимиялық инженерия» кафедрасы

Манкеева Сымбат Азатқызы

Табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілуден бөлінген
микроорганизмдердің өсуіне температураның әртүрлі өсуінің әсерін зерттеу

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

Мамандық 5В070100 – Биотехнология

Алматы 2021

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

«Химиялық және биологиялық технологиялар» институты

«Химиялық және биохимиялық инженерия» кафедрасы

ҚОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ
Химиялық және Биохимиялық
Инженерия
Кафедра меңгерушісі
PhD докторы, қауымд.
профессоры



Рафикова Х.С.
“18” мая 2021 ж.

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

Тақырыбы: «Табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілуден бөлінген микроорганизмдердің өсуіне температураның әртүрлі өсуінің әсерін зерттеу»

мамандығы 5B070100 – Биотехнология

Орындады

Манкеева Сымбат Азатқызы



Ғылыми жетекші

а/ш ғылымдарының канд., доцент, қауымд. профессоры



Джамалова Г.А.

Алматы 2021

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Сәтбаев Университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

Химиялық және биохимиялық инженерия кафедрасы

мамандығы 5B070100 – «Биотехнология»

БЕКІТЕМІН

Химиялық және Биохимиялық
Инженерия

Кафедра меңгерушісі

PhD докторы, қауымд.
профессоры

_____ Рафикова Х.С.

"7" декабрь 2020 ж.

**Дипломдық жұмысты орындауға
ТАПСЫРМА**

Білім алушыға: Манкеева Сымбат Азатқызы

Тақырыбы: «Табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілуден бөлінген микроорганизмдердің өсуіне температураның әртүрлі өсуінің әсерін зерттеу»

Университет Ректорының бұйрығымен бекітілген № 15–б "12" _2021 ж.

Аяқталған жұмысты тапсыру мерзімі " ____ " _____ 20__ ж.




Дипломдық жұмысқа арналған бастапқы деректер: шекті сұйылту әдістерін жүргізу негізінде алынған зертханалық микробиологиялық және биотехнологиялық зерттеулердің нәтижелері (қатты қоректік ортада колонияларды себу, культивациялау, таза дақылдарды бөлу, микроскоптау, сұйық қоректік ортада культивациялау).

Дипломдық жұмыстың қысқаша мазмұны:

- а) ғылыми әдебиеттерге шолу
- б) зерттеу объектісі, материалы және әдістемесі
- в) зерттеу нәтижелері. Қорытынды



Ұсынылатын негізгі әдебиет 57 атаудан тұрады.

**Дипломдық жұмысты дайындау
КЕСТЕСІ**

Бөлімдердің атауы, әзірленетін мәселелер тізбесі	Ғылыми жетекшіге ұсыну мерзімі	Ескерту
1 Әдеби шолу	12.04.2021	
2 Материал және зерттеу әдістемесі	19.04.2021	
3 Зерттеу нәтижелері. Қорытынды	26.04.2021	

Қолтаңбалар

жобаның тиісті бөлімдерін көрсете отырып, аяқталған дипломдық жобаның кеңесшілері мен нормативті бақылаушылары

Бөлімдер атауы	Консультанттар, А.Ә.Т (ғылыми дәрежесі, атағы)	Қол қойылған күні	Қолтаңба
Дипломдық жұмыстың 1-3 бөлімдері	Г. А. Джамалова а/ш ғылымдарының канд., доцент, қауымд. профессор		
Нормоконтролер	Нұрсұлтанов М.Е. лектор	15.05.2021	

Ғылыми жетекші



(қолы)

Джамалова Г.А.

Тапсырманы білім алушы орындауға қабылдады



Манкеева С.А.

АНДАТПА

Тақырыбы: Табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілуден бөлінген микроорганизмдердің өсуіне температураның әртүрлі өсуінің әсерін зерттеу.

Мақсаты: Табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді мумиедан бөлінген микроорганизмдердің өсуіне әртүрлі температуралардың әсерін зерттеу.

Міндеттері:

1 Табиғи тау биоорганогендік-минералды шайыр тәрізді түзілудің пайда болуын, таралуын және физика – химиялық қасиеттерін зерттеу.

2 Табиғи тау биоорганогендік-минералды шайыр тәрізді түзілуден микроорганизмдердің бөлінуі.

3 Табиғи тау биоорганогендік-минералды шайыр тәрізді түзілуден бөлінген микроорганизмдердің культуралдық қасиеттерін зерттеу.

Зерттеу әдістемесі. Мумиенің шығу тегі, таралуы және физика-химиялық қасиеттерін табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілім ретінде зерттеу теориялық зерттеулерге негізделген. Табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілім ретінде мумиедан микроорганизмдердің бөлінуі микробиологиялық зертханалық зерттеулердің шекті сұйылту әдісі (егу, қатты қоректік ортада колонияларды өсіру, колонияларды бөлу, сұйық қоректік ортада өсіру) негізінде қалыптасты. Жүргізілген теориялық зерттеулердің нәтижесінде мумиенің табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілуінің генезисі мен физика-химиялық қасиеттері зерттелді, ал зертханалық зерттеулерде мумиедан алынған микроорганизмдердің әртүрлі температураға ұшыраған кездегі культуралдық қасиеттері зерттелді.

Түйінді сөздер: мумие, культураларды егу, қоректік орта, культивирлеу, температура.

Дипломдық жұмыстың құрылымы. 34 беттерде баяндалған дипломдық жұмыстың құрылымы кіріспеден және үш тараудан, ғылыми, ғылыми-әдістемелік және оқу әдебиеттеріне, зерттеу объектісі мен әдістеріне шолудан, сондай-ақ жеке зерттеулердің нәтижелерінен тұрады. Дипломдық жұмыс қорытынды мен алынған нәтижелер туралы қорытындымен аяқталады. Дипломдық жұмыста 57 зерттелген әдебиеттің тізімі берілген. Жұмыстың мәтіні 12 кестелермен және 7 суреттермен көрсетілген.

АННОТАЦИЯ

Тема: Изучение влияния разных температур на рост микроорганизмов, выделенных из природного горного биоорганогенно-минерального смолоподобного образования.

Цель: Изучение влияния разных температур на рост микроорганизмов, выделенных из мумиё – природного горного биоорганогенно-минерального смолоподобного образования.

Задачи:

1 Изучение происхождения, распространения и физико-химических свойств природного горного биоорганогенно-минерального смолоподобного образования.

2 Выделение микроорганизмов из природного горного биоорганогенно-минерального смолоподобного образования.

3 Изучение культуральных свойств микроорганизмов, выделенных из природного горного биоорганогенно-минерального смолоподобного образования.

Методика исследований. Изучение происхождения, распространения и физико-химических свойств мумиё, как природного горного биоорганогенно-минерального смолоподобного образования, было основано на проведении теоретических исследований. Выделение микроорганизмов из мумиё, как природного горного биоорганогенно-минерального смолоподобного образования, складывался из проведенных на основе метода предельного разведения (посев, культивирование колоний на твердой питательной среде, выделение колоний, культивирование на жидкой питательной среде) микробиологических лабораторных исследований.

В результате проведенных теоретических исследований изучены генезис и физико-химические свойства мумиё, как природного горного биоорганогенно-минерального смолоподобного образования, а при лабораторных исследованиях изучены культуральные свойства, полученных из мумиё, микроорганизмов при воздействии на них разных температур.

Ключевые слова: мумиё, посев культур, питательная среда, культивирование, температура.

Структура дипломной работы. Структура дипломной работы, изложенная на 34 страницах, состоит из введения и трех глав, обзора научной, научно-методической и учебной литературы, объекта и методов исследований, а также результатов собственных исследований. Дипломная работа завершается заключением и выводами о полученных результатах. В дипломной работе представлен список из 57 изученной литературы. Текст работы иллюстрирован 12 таблицами и 7 рисунками.

ANNOTATION

Topic: Study of the effect of different temperatures on the growth of microorganisms isolated from a natural mountain bio-organo-mineral resin-like formation.

Purpose: To study the effect of different temperatures on the growth of microorganisms isolated from mumiyo – a natural mountain bio-organo-mineral resin-like formation.

Tasks:

1 Study of the origin, distribution, and physico-chemical properties of a natural mountain bio-organo-mineral resin-like formation.

2 Isolation of microorganisms from a natural mountain bio-organo-gene-mineral resin-like formation.

3 Study of the cultural properties of microorganisms isolated from a natural mountain bio-organo-gene-mineral resin-like formation.

Research methodology. The study of the origin, distribution and physical and chemical properties of mumiyo, as a natural mountain bio-organo-mineral resin-like formation, was based on theoretical research. The isolation of microorganisms from mumiyo, as a natural mountain bio-organic-mineral resin-like formation, consisted of microbiological laboratory studies conducted on the basis of the method of limiting dilution (sowing, cultivation of colonies on a solid nutrient medium, isolation of colonies, cultivation on a liquid nutrient medium) microbiological laboratory studies.

As a result of the theoretical studies, the genesis and physico-chemical properties of mumiyo as a natural mountain bioorganogenic-mineral resin-like formation were studied, and in laboratory studies, the cultural properties of microorganisms obtained from mumiyo were studied when they were exposed to different temperatures.

Key words: mumiyo, sowing of crops, nutrient medium, cultivation, temperature.

The structure of the thesis. The structure of the thesis, presented on 34 pages, consists of an introduction and three chapters, a review of scientific, scientific-methodological and educational literature, the object and methods of research, as well as the results of their own research. The thesis ends with a conclusion and conclusions about the results obtained. The thesis contains a list of 57 studied literature. The text of the work is illustrated with 12 tables and 7 figures.

МАЗМҰНЫ

Кіріспе	9
1 Әдеби шолу	10
1.1 Мумие - табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілім ретінде	10
1.2 Табиғи тау биоорганогендік - минералды шайыр тәрізді түзілудің пайда болуы және таралуы	10
1.3 Табиғи тау биоорганогендік - минералды шайыр тәрізді түзілудің физикалық және химиялық қасиеттері	12
2 Ғылыми зерттеулердің объектілері, материалдары мен әдістемесі	16
2.1 Зерттеу объектілері	16
2.2 Ғылыми микробиологиялық және биотехнологиялық зерттеулерде қолданылатын материалдар	16
2.3 Ғылыми зерттеулердің әдістемесі	16
3 Зерттеу нәтижелері	20
3.1 Мумие – табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілімнің іріктелген сынамаларынан бөлінген микроорганизмдерді сандық есепке алу	20
3.2 Бөлінген микроорганизмдерді Грам бойынша бояу әдісімен микроскопирлеу	28
Қорытынды	30
Пайдаланылған әдебиеттер тізімі	31

КІРІСПЕ

Өзектілігі. Мумие физика-химиялық және биологиялық факторлардың әсерінен тау жерлерде жасалған өнім ретінде ғылыми зерттеулер үшін үлкен қызығушылық тудырады, өйткені қалыптасу мен пайда болу жағдайларына байланысты мумиенің химиялық, биохимиялық және микробиологиялық құрамы әртүрлі айырмашылықтарға ие. Айта кету керек, әртүрлі пайда болу жағдайларында мумие өзінің құнды қасиеттерін жоғалтпайды, керісінше табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілімдер негізінде жасалған биологиялық белсенді заттар мен препараттарды өндіру нарығында сұранысқа ие жаңа биохимиялық қасиеттерге ие болады. Сондықтан, осы жұмыста зерттелген мумиедан табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілім ретінде бөлініп алынған микроорганизмдердің культуралдық қасиеттерін зерттеу бүгінде өзекті болып табылады.

Бұл зерттеудің нысаны Қазақстанның тау аймағынан алынған мумие сынамалары болды. Зерттеу тақырыбы мумие сынамаларынан алынған микроорганизмдердің өсуіне әртүрлі температураның әсерін зерттеу болды.

Мақсаты: мумиедан – табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілімнен бөлініп алынған микроорганизмдердің өсуіне әртүрлі температураның әсерін зерттеу.

Міндеттері:

1 Табиғи тау биоорганогендік-минералды шайыр тәрізді түзілудің пайда болуын, таралуын және физика-химиялық қасиеттерін зерттеу.

2 Табиғи тау биоорганогендік-минералды шайыр тәрізді түзілуден бөлінген микроорганизмдердің бөлінуі.

3 Табиғи тау биоорганогендік-минералды шайыр тәрізді түзілуден бөлінген микроорганизмдердің культуралдық қасиеттерін зерттеу.

Зерттеудің теориялық және практикалық маңызы. Жүргізілген теориялық зерттеулердің нәтижесінде мумиенің табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілуінің генезисі мен физика-химиялық қасиеттері зерттелді, ал зертханалық зерттеулерде мумиедан алынған микроорганизмдердің әртүрлі температураға ұшыраған кездегі культуралдық қасиеттері зерттелді. Бұл зерттеулердің материалдары дипломдық жұмыста көрсетілген және «Биотехнология негіздері», «Экологиялық биотехнология» сияқты пәндер бойынша практикалық және зертханалық сабақтар өткізу кезінде пайдаланылуы мүмкін.

1 Әдеби шолу

1.1 Мумие - табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілім ретінде

Мумие [1-7]:

- 1) табиғатпен жасалған биоминералды препарат;
- 2) өзіндік қасиеттерге ие:
 - 2.1) табиғи тау-кен биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілім;
 - 2.2) органикалық және бейорганикалық заттардың химиялық күрделі құрылымдық қоспасы, оның құнды өнімдері ең алдымен гумин қышқылдары, май қышқылдары, маңызды аминқышқылдары, микро және макроэлементтер, ферменттер мен дәрумендер болып табылады;
 - 2.2) экссудат:
 - тауларда жоғары деңгейде қалыптасады және қарашірік, фульвоқышқылдар және биоорганикалық материалдардан тұрады,
 - тау жыныстарының қабаттарымен қысылып, жаз айларында тау жыныстарынан жабысқақ ағып кетуі мүмкін;
- 3) өзіндік:
 - ақшыл қоңырдан қара-қоңырға дейін,
 - зәрдің иісі,
 - тұзды, сәл ащы және өткір және сәл тұтқыр дәмі бар.
- 4) ол көптеген биологиялық белсенді фотохимиялық және биохимиялық заттардан, антиоксиданттардан, еркін радикалды сіңіргіштерден, қоректік заттардан, ферменттерден, стероидтерден, гормондардан, амин қышқылдарынан, дәрумендерден, антибиотиктерден, вирусқа қарсы және антифункционалды және т. б. заттардан тұрады;
- 5) шайырлар, балауыздар, сағыздар кіреді.

1.2 Табиғи тау биоорганогендік - минералды шайыр тәрізді түзілудің пайда болуы және таралуы

Мумиенің пайда болуы мен қалыптасуы туралы нақты ғылыми мәліметтер мен деректер жоқ, бірақ негізінен мумиенің пайда болуы бейорганикалық компоненттердің қатысуымен өсімдіктер мен жануарлар қалдықтарының микробиологиялық ыдырауы процесінде жүреді деген көптеген гипотезалар бар. Зерттеудің көптеген химиялық әдістері мумиенің топырақ қарашірігімен құрылымдық ұқсастығын көрсетті [8]. Мумие битум (асфальт), минералды шайыр, өсімдіктерден алынатын геологиялық қазба, табиғи органикалық (өсімдіктер мен жануарлар) және бейорганикалық заттардан тұратын композит ретінде сипатталады [3].

Түстер палитрасына сәйкес мумиенің төрт түрлі сорттары бар - бұл мумие [9]:

- алтын және қызыл түс - Саврана,

- ақ түсті күміс тәріздес мумие-Раджат,
- мыс және көк түсті -Тамра,
- құрамында қоңыр-қара түсті темір бар мумие - Лауха.

«Rasayana» мумиесы ашық-қоңырдан қара-қоңырға дейін ауыспалы консистенциялы экссудат бүкіл әлем бойынша 1000-нан 5000 м-ге дейінгі биіктіктегі шөгінді тау жыныстарында кездеседі, бұл теңіз омыртқасыздарының, өсімдіктер мен микроорганизмдердің көп компонентті минералды заттағы ерекше әсерлесуінен пайда болған өнім [10]. Мумие «асфальт» табиғи жолмен органикалық қалдықтар мен заттарды әртүрлі микроорганизмдермен ұзақ уақыт гумификациялау арқылы шығарылады [11].

«Асфальт» және «rasayana» мумиесы шығыс медицинасында қартаюды тоқтату және бірінші жағдайда жасару процесін жеделдету және екінші жағдайда қан, сүйек кемігі, сүйек, май, бұлшықет, плазма және репродуктивті сұйықтықтарды белсенділігін арттыру үшін кеңінен қолданылады [12, 13].

Мумие, жоғарыда атап өткендей, үңгірлер мен жартастардың қабырғаларында 0,6-дан 5 км биіктікте тастан бөлініп шығатын және салмағы 500 кг-ға дейін жететін әлемнің тау аймақтарының өнімі. Мумиенің ерекшелігі-олар әлемнің әртүрлі бөліктерінде қалыптасса да, физикалық қасиеттері ұқсас және сапалы химиялық құрамына ие, бірақ жеке құнды компоненттердің қатынасында ерекшеленеді [14, 15]. Тау үңгірлеріндегі мумиенің жинақталу жылдамдығы жылына 0,002 мм-ден 0,360 мм-ге дейін жетеді [16].

«Битум/тау тері» мумиесы – қоңырдан қараға дейінгі жартылай қатты масса, өйткені бұл жер асты қабаттарындағы мұнай көмірсутектерінің және жер асты мұнай қорларының жанындағы кейбір үңгірлердің тотығуының нәтижесі. Басқа гипотезаға сәйкес, «битум» мумиесы баяу ферментацияның арқасында ұзақ уақыт бойы кейбір дәрілік өсімдіктерден пайда болған [17]. Мумие табиғи түрде тау жыныстарынан кеуектер, құрылымдық жазықтық арқылы ағып кетеді және тіпті тау жыныстарының тектоникалық әсерінен тау үңгірлеріндегі сақтау жағдайлары (температура, кернеу, құрылымдық бет) нәтижесінде тау жыныстарының бетінде жиналады [18, 19].

Масс-спектрометриялық әдіспен анықталған мумиенің құрамын гуминдік заттардың құрамымен салыстыру мумиенің шығу тегі мен оның гуминдік заттармен байланысын жақсы түсінуге мүмкіндік береді, өйткені бұл заттардың екеуі де органикалық қалдықтардан түзілген, бірақ сәл өзгеше жағдайларда ғана, сондықтан тау үңгірлеріндегі мумиенің түзілу процестері гуминдік заттардың түзілу процестеріне салыстырмалы түрде ұқсас [20]. Белгілі болғандай, гуминді заттар өсімдіктер, балдырлар, мүктер мен микроорганизмдердің өзара әрекеттесуі нәтижесінде пайда болады. Гумустың тау топырақтардағы кең таралған өсімдік көздері регенерацияға қабілетті жұқа тармақталған тамыр жүйесі бар көпжылдық шөптер мен бұршақ тұқымдастар болып табылады [21].

Мумиенің пайда болуы туралы биоминералогиялық болжамдарға сәйкес, мумие дегеніміз минералды компоненттер әртүрлі миграция нәтижесінде пайда болатын қайталама өнім, мысалы, мумие сұйық прекурсорының механикалық ластануы [22].

1.3 Табиғи тау биоорганогендік - минералды шайыр тәрізді түзілудің физикалық және химиялық қасиеттері

Ғылыми деректерге сүйенсек, мумие табиғи тау биоорганогендік-минералды шайыр тәрізді түзілім ретінде 90-нан 1000°C-қа дейін балқу температурасы бар оттегі бар көмірсутекті композит болып табылады. Жану кезінде түтінсіз жарқын жалын пайда болады. Скипидарда, ыстық суда ериді [23, 24]. Мумие құрамындағы фульвоқышқылдар мен гумин қышқылдары хлормен, хлорланған сумен бірге пайдаланғанда қауіпті химиялық жанама өнімдер жасайды [24].

Мумие табиғи тау биоорганогендік-минералды шайыр тәрізді түзілім ретінде:

1) бұл органикалық (60-80 %) және бейорганикалық (20-40 %) қосылыстардың қоспасы, олардың құрамында биологиялық белсенді заттар жиырмадан астам топқа жетуі мүмкін [25];

2) негізінен келесі заттардан тұрады:

- гуминдік заттар, соның ішінде фольй қышқылы, олар жалпы нутрицевтиктердің 60-80 % құрайды;

- селенді қоса алғанда, қартаюға қарсы қасиеттері бар олигоэлементтер [26];

3) құрамында: 60-80 % фульвоқышқылдары (ФК) бар гуминді заттар және олардың баламалары (полимерлер және онымен байланысты құрылымдар), сондай-ақ дибензоапирондар мен хромопротеиндер (10 %-дан астам) және гумин қышқылы (ГК); минералды заттар 20-40 %, - 5 %-ға дейінгі микроэлементтер (Fe, Ca, Cu, Zn, Mg, Mn, Mo, P) [27, 28];

4) химиялық құрамына кіреді [29]: күл ($22,0 \pm 0,6$ %), оның ішінде кальций тотығы ($4,1 \pm 0,8$ %), магний ($2,9 \pm 0,1$ %) және марганец ($0,11 \pm 0,0012$ %), фосфор диоксиді ($0,18 \pm 0,005$ %) және темір ($0,04 \pm 0,002$ %), PO_2 (0,36); органикалық элементтер ($73,6 \pm 2,7$ %); ылғал ($4,2 \pm 0,6$ %); азот ($4,6 \pm 0,4$ %).

5) элементтік компонент келесі шектерде өзгереді, % бойынша: С (31.80-54.04), Н (2.14-6.20), N (5.00-7.18), S (0.20-3.84), О (33.03-58.80), К (9.13-18.93), Са (2.20-7.29), Mg (5.5-7.0), Si (1.53-4.03), Al (1.34-1.54), Mn (0.16-0.30), P (0.04-0.10), Sr (0.06-0.07), Ba (0.04-0.07);

5.1) құрамында қырықтан астам микроэлементтер бар (~25 мг/кг) [30].

Қызықтырған мәселе бойынша ғылыми әдебиеттерді зерттеу мумиенің химиялық құрамының келесідей негізгі ерекшеліктерге ие екендігін көрсетті:

1) мазмұны:

- маңызды аминқышқылдары 5 % деңгейінде, алмастырылатын аминқышқылдары – 8 %, фульвоқышқылдары – 23 %,

- табылған минералды элементтер саны 42, олардың 10 элементі оксид түрінде [31];

2) кейбір элементтер үшін атмосфера мен топырақтың қасиеттеріне байланысты мумиенің қалыптасу биіктігіне және жер деңгейіне байланысты ауытқу бар:

- Al, C, Ca, Mg, Mn және Fe сияқты элементтер үшін биіктіктегі концентрацияның жоғарылауы байқалады,

- Na, Ni, P, S сияқты элементтер үшін биіктіктегі концентрацияның төмендеуі байқалды [32];

3) табиғи тіршілік ету ортасында мумие құрамында темір бар күрделі гидрохинон-семихинон-хинонның тотығу-тотықсыздану қоспасы түрінде болады [33];

4) ауыр металдардың (Zn, Cr, Mn, Mg, Co, Pb және т.б.) мөлшері минималды және Дүниежүзілік Денсаулық Сақтау Ұйымы (ДДСҰ) белгілегендей рұқсат етілген деңгейде [34, 35];

5) гуминді заттар [36, 37]:

- органикалық заттардың, негізінен өсімдіктердің микробиологиялық ыдырауының нәтижесі,

- кез-келген рН жағдайында суда ерімейді,

- сілтілік жағдайда суда ериді және молекулалық массасы 5-10 кДа болады,

- құрылымы көптеген компоненттерден тұрады, соның ішінде хинон, фенол, катехол және биодеградацияға төзімді қант фрагменттері;

5.1) гумин қышқылы и фульво қышқылы (ФҚ): бұл өте аз Н-хош иісті молекулалары бар топырақ гумусының органикалық компоненттері; мумиенің пайда болуы гумификация реакциясын қамтиды [38]; микрокеуекті құрылымы бар; полярлы емес ерітінділер мен биожетімділігі төмен дәрілік молекулалары бар кешендер құруға қабілетті [39];

5.2) фульво қышқылдар: бұл гумустық заттардың құрамына кіретін суда еритін табиғи полимерлер, «екінші синтез реакцияларының нәтижесінде пайда болған сарыдан қара түске дейінгі жоғары молекулалық заттардың саны»; құрамында 70-тен астам минералдар, аминқышқылдары, қант, пептидтер, нуклеин қышқылдары, фитохимиялық қосылыстар, дәрумендер және өсімдік ДНҚ фрагменттері бар [40];

5.3) фульво қышқылдар: метаболизмді ынталандырады, тыныс алуды қамтамасыз етеді, ақуыздар мен көптеген ферменттердің белсенділігін арттырады, жасуша мембраналарының өткізгіштігін, олардың бөлінуі мен ұзаруын жақсартады, өсімдіктерде хлорофилл синтезін, құрғақшылыққа төзімділікті арттырады, топырақтың рН-ын қорғайды, ағзаны микробтардың шабуылынан қорғайды, пестицидтер мен гербицидтер сияқты ластаушы заттарды детоксикациялайды; минералдар мен қоректік заттарды топырақтан өсімдіктерге тасымалдау үшін топырақтағы микроорганизмдер жасайды [41];

5.4) май қышқылдарының құрамы 0,37-ден 3,90 мг/г-ға дейін, оларда барлық миристинді (25-50 %) және Лаурин (4,9-37 %) май қышқылдары басым [7];

5.5) құрғақ қалдықтағы бос аминқышқылдарының құрамы 0,03-тен 3,55 %-ке дейін [7];

5.6) өңделген мумида фульво қышқылының мөлшері кем дегенде 50 % құрайды, калий, кальций мен магнийдің қосындысы жалпы минералды құрамның 90 %-дан астамын құрайды, содан кейін күкірт пен натрийдің сандық құрамы жүреді [28, 15];

6) мумиенің түс айырмашылықтары темір, мыс және күміс сияқты минералдардың құрамындағы айырмашылықтармен анықталады [28];

7) бензой қышқылы және мумие бензоаттары зәрдің иісін береді [42];

8) бензой қышқылы:

- көптеген бензой қышқылының тұздары микробтардың тыныс алу жүйесіне кедергі жасау арқылы бактериялардың көбеюін тежейді,

- өзі улы болса да, ол адам ағзасында жиналмайды, өйткені глицинмен біріктірілген кезде гипсур қышқылын түзеді, содан кейін ол несеппен шығарылады [43];

9) мумие:

- құрамында сағыздан басқа альбуминоидтар, шайыр мен май қышқылдарының іздері, бензой мен гипсур қышқылы мен олардың тұздары бар,

- табиғи тіршілік ету ортасында тау жыныстарының ризосферасында кездесетін өсімдік және микробтық метаболиттермен араласқан жаңа және өзгертілген гумус қалдықтарынан (10-70 % суда еритін мумие фракциясы) тұрады [44];

10) мумиенің күрделі құрамы биотикалық (топырақ) және абиотикалық (геохимиялық) процестермен байланысты [45];

11) барлық мумиеларда әр түрлі мөлшерде молекулалары аз бірқатар органикалық қосылыстар бар, мысалы, табиғи ортада биоактивті, мумие гумусының фульвоқышқылдарымен (ФА) қорғалған, оттегімен қаныққан дибензо-а-пирондар [46].

12) А және В уролитиндері (метаболиттер тұқымдасының мүшелері 6Н-добензо [b, d] пирано-6-құрылымы (кумарин мен изокумариннің үйлесімі) фенолдық гидроксилденудің әртүрлі үлгілерімен) фульво қышқылдарында мумиеға антиульцерогендік әсер, стресске қарсы белсенділік, адаптогендік әсер береді [47];

13) мумие құрамында ерітіндінің рН жоғарылаған сайын өсетін және жасушаларға қайтымсыз зақым келтіруі мүмкін бос радикалдардың өзгермелі концентрациясы бар [48];

14) дұрыс экстракция белсенді ингредиенттердің жоғары деңгейіне қол жеткізу және белсенді емес заттарды, зиянды бос радикалдарды, саңырауқұлақтар шығаратын микотоксиндерді және саңырауқұлақ токсиндерін жою үшін қажет. Зерттеулер көрсеткендей, экстракциядан кейін шикізаттың шамамен 40 % қалады [49].

Осылайша, мумие: табиғи жағдайда бұл бальзам иісі бар және сары-қоңырдан қараға түрлі-түсті, жылтыратылған беткі қабаты бар, дәмі ащы қатты консистенцияның пішінсіз бөліктері; ауа температурасы қызған және төмендеген кезде ол жұмсарады, суда және майда, еріткіштерде (ацетон,

хлороформ, метил спирттері, бензин) ериді; рН деңгейі 6,57; таза шикізат өнімдерінде 2629 элемент бар [50].

2 Ғылыми зерттеулердің объектілері, материалдары мен әдістемесі

2.1 Зерттеу объектілері



Сурет 1 – Зерттеу үшін іріктелген суда ерітілген мумие сынамасы

Микробиологиялық және биотехнологиялық зерттеулердің объектісі ретінде:

- 1-суретте көрсетілген мумие сынамалары (саладжит, шилажату, мими).

- зерттеу үшін іріктелген мумие сынамасынан бөлініп алынған микроорганизмдер.

2.2 Ғылыми микробиологиялық және биотехнологиялық зерттеулерде қолданылатын материалдар

Зертханалық микробиологиялық және биотехнологиялық зерттеулер келесі әдістермен жүргізілді:

1 Шартты түрде үш түрге бөлуге болатын негізгі зертханалық құрылғылар мен жабдықтар.

Біріншісі дайындық жұмыстарына арналған – бұл зертханалық жабдықтарды (Петри шыныаяқтары, түтіктер, колбалар және басқа зертханалық шыны ыдыстар) және қоректік ортаны зарарсыздандыру үшін қажет автоклав, дайындалған қоректік ортаны араластыруға арналған зертханалық орбитальды шейкер.

Екіншісі зертханалық микробиологиялық сынақтарды өткізуге арналған, бұл шаңсыз абактериалды немесе бактериясыз жұмыс ортасын құруға және еңбек қауіпсіздігін қамтамасыз етуге қажетті ламинарлық бокс, зерттелетін сұйықтықтарды өлшеу үшін қажетті зертханалық дозаторлар.

Тағы басқалары зертханалық микробиологиялық және биотехнологиялық нәтижелерді зерттеу барысында алуға арналған, бұл микроорганизмдерді культивирлеуге арналған ауа термостаты және микроскопиялық нысандардың құрылымын зерттеу үшін қажет оптикалық электронды микроскоп.

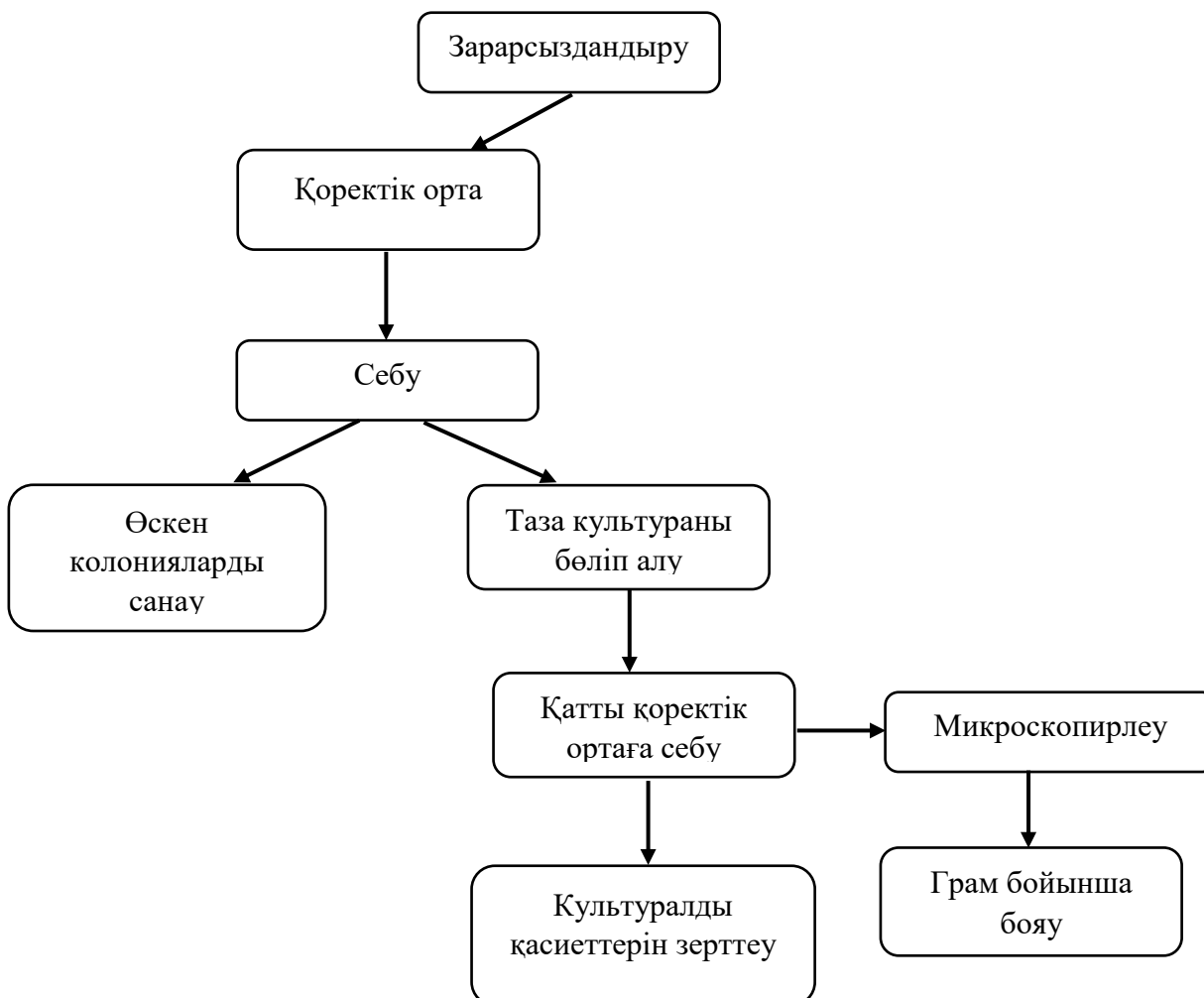
2 Қоректік орта. Қоректік орта ретінде агардың үш түрі – жалпы микробтық санды алуға арналған ет – пептонды агар, Сабура – ашытқы, зең және басқа қышқылға төзімді микроорганизмдерді культивирлеу үшін және актиномицеттерді бөліп алуға арналған агар қолданылды.

2.3 Ғылыми зерттеулердің әдістемесі

Зертханалық зерттеулер әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-нің «Экология мәселелері ҒЗИ» аккредиттелген ғылыми зертханасында жүргізілді, оның құрылымы басқару аппаратынан және экономиканың түрлі салаларында

микробиология мен биотехнологияны дамыту үшін жеткілікті ғылыми әлеуеті бар ғылыми-зерттеу зертханаларынан тұрады: медицина мен аграрлық сектордан бастап өнеркәсіпке, экология мен табиғи ортаны қорғауға дейін.

Ғылыми зертханалық микробиологиялық және биотехнологиялық зерттеулер жүргізу технологиясы сурет 2 сызбасында көрсетілген.



Сурет 2 – Ғылыми зертханалық микробиологиялық және биотехнологиялық зерттеулер технологиясы

2 суреттен көрініп тұрғандай, жұмыс әдісі келесі негізгі процедуралардан тұрды:

1 Зертханалық шыны ыдыстарды дайындау және зарарсыздандыру.

2 Агаризацияланған қоректік ортаны дайындау. Зерттеулерде қоректік орта мен физиологиялық ерітінді көлемде пайдаланылды:

- ет-пептонды агар (ЕПА) - 300 мл;
- декстрозды агар Сабуро (ДАС) - 300 мл;
- актиномицеттерді бөлуге арналған агар - 300 мл;
- 100 мл екі тұзды ерітінді.

Осыдан кейін, сәйкесінше 30 және 50-60 минут ішінде автоклавқа зарарсыздандыру үшін қоректік орта мен физиологиялық ерітінді жүктелді.

Аздап салқындағаннан кейін (3-сурет, а) қоректік орта Петри табақшасына құйылды (3-сурет, б).



А



Б

Сурет 3 - Қоректік орталар (ЕПА, Сабуро агары, актиномицетке арналған агар): а) колбаларда, стерильденген; б) Петри табақшасында



Сурет 4 – Микробиологиялық зерттеуге дайындалған мумие

айн/мин 1 сағатқа қоямыз.

3.2 Дозатордың көмегімен 1 мл сынама мен 9 мл физиологиялық ерітіндіні құйып, «Vortex» жабдығының көмегімен араластырамыз.



Сурет 5 – Қатты қоректік ортаға себу

үлгі алынады (бір температура үшін 2).

3.4 III сұйылту үлгілерін дайындаймыз. 2 және 3 кезеңдерді орындаймыз, ал соңғы шыны түтікше 1 мл сынама алып, 9 мл физиологиялық ерітіндіге

3 Сұйылтуды дайындау және дайындалған үлгіні қатты ортаға Петри табақшасына себу. Зерттелетін Петри табақшалары үшін нөмірлеу температуралық режимге (30 °С, 40 °С, 55 °С) және сұйылту деңгейіне (II, IV) байланысты жүргізілді.

3.1 Сынаманы дайындау (сурет 4) - 1 мг зерттелетін материалды физиологиялық ерітіндіде сұйылтамыз және шейкерге 250

3.3 II сұйылту үлгісін дайындаймыз, ол үшін алдыңғы микротүтіктен сынама алып, келесі концентрацияда сұйылтамыз: 1 мл сынама және 9 мл физиологиялық ерітінді және араластырамыз. Қатты қоректік ортаның бетіне 1 мл концентрацияны шыны шпательмен таратып, жағамыз (сурет 5). Осылайша, әр қоректік орта үшін 6

сұйылтып, араластырамыз. Яғни, III сұйылту үлгісі болды. Одан 1 мл сынама аламыз және сол әрекеттерді орындаймыз. Әр қоректік орта үшін әр түрлі температурасы бар 6 данадан алынады.

3.5 Микроорганизмдерді қатты қоректік орталарда культивирлеу. Біз Петри табақшаларын егу дәрежелері бойынша сұрыптап, термостаттарға 30, 40, 55 °С температурасына сәйкес колониялардың өсуі үшін 24-48 сағат жібереміз.

4 Микроорганизмдердің сандық есебі - колонияларды есептеу. Морфологияны зерттеу. Әрі қарай жұмыс істеу үшін қоректік ортаны дайындау және құю.

5 Таза дақылдарды бөлу. Штрих әдісі.

5.1 Петри табақшаларындағы жаңа тығыз орталар маркердің көмегімен пластинаның сыртын үш бөлікке бөледі. Микробиологиялық ілмек ашық жалынға алдымен көлденең, содан кейін тігінен енгізіледі. Салқындатылған ілмекпен себетін материал жинап, зигзаг түрінде таза культураға енгіземіз. Егу үшін ең көп өсірілген колониялар қолданылады. Нөмірлейміз және термостатқа 1 күнге қоямыз. Екі немесе одан да көп өсірілген колониялардың бір Петри табақшасынан таза культураға жеке-жеке себу мүмкіндігі бар.

5.2 ЕПА қоректік ортасын қиғаш агарға арналған шыны түтікшелерге дайындау және құю. Ортаны дайындаймыз, автоклавқа саламыз, содан кейін оны салқындатып, шыны түтікшеге құямыз. Бір колония үшін 2 шыны түтікшені қолданамыз, ал толығымен қатаю үшін түтікше иілген күйде қалуы керек.

6 Қиғаш агар әдісі; өсірілген колонияларды шыны түтікшелердегі қатты ортаның бетіне себу. Шыны түтікшеге алдын-ала себу күнін және материалдың қайдан алынғанын көрсететін Петри табақшасының атауын жазып қоямыз. Ілмекті күйдіреміз және салқындағаннан кейін егу материалын алып, қиғаш агары бар түтікшеге әкелеміз және материалды қатты агардың бетіне зигзаг қозғалысымен таратамыз. Содан кейін ілмекті алып тастап, түтікшенің шетін өртеп, тығынмен жабылады, содан кейін түтікшелер термостатқа жіберіледі.

7 Микроскопирлеу. Микроорганизмдер жасушаларын және олардың спораларын бояу. Грам әдісіне сәйкес препараттарды бояу.

8 Бактерияларды Грам оң және Грам теріс бойынша ажырату. Алынған нәтижелерді сипаттау.

9 Температураның әсерін зерттеу үшін қоректік ортаны дайындау.

10 Қатты қоректік ортаға себу. Зерттеуге бөлінген микроорганизмдердің культуралық қасиеттерін зерттеу.

Сонымен қатар, барлық зертханалық микробиологиялық және биотехнологиялық зерттеулер нормативтік құжаттарға сәйкес қатаң талаптармен жүргізілгенін атап өткен жөн [51-57].

3 Зерттеу нәтижелері

3.1 Мумие – табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілімнің іріктелген сынамаларынан бөлінген микроорганизмдерді сандық есепке алу

Табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілім ретінде таңдалған мумие сынамаларынан бөлініп алынған микроорганизмдерді өсіру Петри табақшаларында қатты қоректік ортада – жалпы микробтық санды алуға арналған ет-пептонында (ЖМС, КОЕ/мл), Сабурада – ашытқы, зең және басқа қышқылға төзімді микроорганизмдерді (Микромицеттер, КОЕ/мл) және актиномицеттерді (актиномицеттер, КОЕ/мл) өсіру үшін, 30, 40 және 55 °С температуралық режимдерде агарда 24-48 сағат ішінде жүргізілді.

Табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілім ретінде мумие сынамаларынан алынған микроорганизмдерді сандық есепке алу нәтижелері 1 және 8 кестелерде келтірілген.

Тығыз қоректік ортада өскен колониялардың сапалық сипаттамасы ЖМС бойынша 2-7 және актиномицеттер бойынша 9-10 кестелерде келтірілген.

Кесте 1 – Мумие – табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілімнің іріктелген сынамаларынан бөлінген ЖМС-ды сандық есепке алу

t, °С	Сұйылту дәрежесі – II		Сұйылту дәрежесі – IV	
	КОЕ / мл	C _v , %	C _v , %	
30	$(2,0 \pm 0,7) \times 10^2$	50	$(5,0 \pm 2,8) \times 10^4$	80
40	$(1,5 \pm 0,4) \times 10^2$	40	$(2,0 \pm 0,7) \times 10^4$	50
55	$(2,0 \pm 0,7) \times 10^2$	50	$(2,5 \pm 1,1) \times 10^4$	60

1 кестеден көрініп отырғандай, өсірілген колониялардың саны ЖМС бойынша сәйкес болды:

1 30 °С температурада культивирлеу кезінде:

1.1 Бірінші қайталауда сұйылтудың екінші деңгейі үшін бір колонияның өсуі, екіншісінде екі түрдің үш колониясы анықталды, сондықтан колониялардың орташа өсуі $(2,0 \pm 0,7) \times 10^2$ болды, өзгеру коэффициенті 50 %, бұл өзгергіштіктің орташа көрсеткіштерін көрсетеді.

Екінші сұйылту деңгейі үшін 30 °С температуралық режимде қатты қоректік ортада өскен колониялардың сапалық сипаттамасы 2 кестеде келтірілген.

2 кестеден көріп отырғанымыздай, екінші сұйылту кезінде 30 °С температура режимінде өскен колониялар ұқсас болды:

- жиек (тегіс),
- беттер (тегіс),
- құрылымы (біртекті).

Кесте 2 – екінші сұйылту кезінде 30 °С температуралық режимде тығыз коректік ортада өскен колониялардың сапалық сипаттамасы

Қайталау	Бірінші	Екінші	Екінші
Колония нөмірі	1	2	3,4
Колониялардың түрі	Бірінші	екінші	үшінші
Профилі	тамшы тәрізді	тегіс	тегіс
Пішіні	Дөңгелек	дөңгелек	жиегі бойынша роликті дөңгелек
Жиегі	Тегіс	тегіс	тегіс
Мөлшері	Орташа	нүктелі	орташа
Беті	Тегіс	тегіс	тегіс
Бетінің оптикалық қасиеттері	мөлдір емес	күңгірт	күңгірт
Түсі	лас ақ	сары	сары
Құрылымы	Біртекті	біртекті	біртекті

Өсіп келе жатқан колонияларда келесі сапалық айырмашылықтар табылды:

- профиль бойынша, біріншісі тамшы тәрізді, екіншісі – төртінші - жалпақ,
- пішіні: бірінші және екінші дөңгелек, үшінші және төртінші - жиегі бойынша роликті дөңгелек,
- өлшемі: 1,3 және 4 колониялар орташа мөлшерде болды, ал екінші колония нүктелі болды,
- бетінің оптикалық қасиеттері: бірінші колония мөлдір емес, 2-4-күңгірт,
- түсі: біріншісі – лас ақ, 2-4 сары.

Демек, 30 °С температуралық режимде төрт өсіп келе жатқан колониялардың екінші сұйылтуда колониялардың үш түрі сапа бойынша тіркелді деп қорытынды жасауға болады.

1.2 Сұйылтудың төртінші деңгейі үшін бірінші қайталануда бір колонияның, екіншісінде – үш түрдің тоғыз колониясының өсуі анықталды, сондықтан колониялардың орташа өсуі $(5,0 \pm 2,8) \times 10^4$ болды, өзгеру коэффициенті 80 %, бұл жоғары өзгергіштікті көрсетеді.

Екінші сұйылту деңгейі үшін 30 °С температуралық режимде тығыз коректік ортада өскен колониялардың сапалық сипаттамасы 3 кестеде келтірілген.

3 кестеден көріп отырғанымыздай, төртінші сұйылтуда 30 °С температура режимінде өскен колониялар ұқсас болды:

- профиль бойынша (жалпақ),
- пішіні (дөңгелек),
- жиек (тегіс),
- өлшемі (нүктелі),
- бетінің оптикалық қасиеттері (күңгірт),

- түсі (лас ақ),
- құрылымы (біртекті).

Кесте 3 – Төртінші сұйылтуда 30 °С температуралық режимде қатты қоректік ортада өскен колониялардың сапалық сипаттамасы

Қайталау	Бірінші	Екінші	Екінші	Екінші
Колония нөмірі	1	2	3	4
Колониялардың түрі	бірінші	бірінші	екінші	үшінші
Профилі	тегіс	тегіс	тегіс	тегіс
Пішіні	дөңгелек	дөңгелек	дөңгелек	дөңгелек
Жиегі	тегіс	тегіс	тегіс	тегіс
Мөлшері	нүктелі	нүктелі, 1 мм	нүктелі, 0,5 мм	нүктелі
Беті	тегіс	тегіс	кедір	бұдырлы
Бетінің оптикалық қасиеттері	күңгірт	күңгірт	күңгірт	күңгірт
Түсі	лас ақ	лас ақ	лас ақ	лас ақ
Құрылымы	біртекті	Біртекті	біртекті	біртекті

Колониялардың бетіндегі өсіп келе жатқан колонияларда сапалық айырмашылықтар табылды: тегіс (бірінші және екінші колония), кедір (үшінші колония) және бұдырлы (төртінші колония).

Сондықтан, төртінші өсіруде 30 °С температуралық режимде он өсіп келе жатқан колониядан үш түрдің сапасы тіркелді деп қорытынды жасауға болады.

2 40 °С температура режимінде өсіру кезінде:

2.1 Бірінші қайталауда сұйылтудың екінші деңгейі үшін бір колонияның өсуі, екіншісінде екі түрдің екі колониясы анықталды, сондықтан колониялардың орташа өсуі $(1,5 \pm 0,4) \times 10^2$ болды, өзгеру коэффициенті 40 %, бұл орташа деңгейден төмен өзгергіштікті көрсетеді.

Екінші сұйылту деңгейі үшін 40 °С температуралық режимде қатты қоректік ортада өскен колониялардың сапалық сипаттамасы 4-кестеде келтірілген.

4 кестеден көріп отырғандай, екінші сұйылтуда 40 °С температурада культивирлеу кезінде өсірілген колониялар ұқсас болды:

- профиль (жалпақ),
- мөлшері (орташа),
- беттер (тегіс),
- бетінің оптикалық қасиеттері (күңгірт),
- түсі (сары),
- құрылымы (біртекті).

Кесте 4 – Екінші сұйылтуда 40 °С температуралық режимде қатты қоректік ортада өсетін колониялардың сапалық сипаттамасы

Қайталау	Бірінші	Екінші	Екінші
Колониялардың түрі	бірінші	екінші	үшінші
Профиль	тегіс	тегіс	тегіс
Пішіні	жиегі бойынша роликті дөңгелек	жиегі бойынша роликті дөңгелек	дұрыс емес
Жиегі	тегіс	толқынды	иілген
Мөлшері	орташа	орташа, 5 мм	орташа
Жиегі	тегіс	тегіс	тегіс
Бетінің оптикалық қасиеттері	күңгірт	күңгірт	күңгірт
Түсі	сары	сары	сары
Құрылымы	біртекті	біртекті	біртекті

Өсіп келе жатқан колонияларда сапалық айырмашылықтар формасы бойынша анықталды: дөңгелек (бірінші және екінші колония) және тұрақты емес (үшінші колония); жиегі: тегіс (бірінші колония), толқынды (екінші колония) және иілген (үшінші колония).

Сондықтан, екінші өсіруде 40 °С температурада өсірілгенде, колониялардың үш түрі болды деп қорытынды жасауға болады.

2.2 Сұйылтудың төртінші деңгейі үшін бірінші қайталануда үш колонияның өсуі, екіншісінде – бір колония анықталды, сондықтан колониялардың орташа өсуі $(2,0 \pm 0,7) \times 10^4$ болды, өзгеру коэффициенті 50 %, бұл өзгергіштіктің орташа көрсеткіштерін көрсетеді.

Өсірудің төртінші деңгейі үшін 40 °С температуралық режимде тығыз қоректік ортада өскен колониялардың сапалық сипаттамасы 5 кестеде келтірілген.

Кесте 5 – Төртінші сұйылтуда 40 °С температуралық режимде қатты қоректік ортада өсетін колониялардың сапалық сипаттамасы

Қайталау	Бірінші	Бірінші	Бірінші	Екінші
Колониялардың түрі	бірінші	екінші	үшінші	төртінші
Профиль	тегіс	тегіс	тегіс	тегіс
Пішіні	дөңгелек	дөңгелек	қабыршақталған жиегі бар дөңгелек	дөңгелек
Жиегі	тегіс	тегіс	толқынды	тегіс
Мөлшері	орташа	орташа	орташа	орташа
Беті	тегіс	кедір	бұдырлы	тегіс
Бетінің оптикалық қасиеттері	күңгірт	күңгірт	күңгірт	мөлдір емес
Түсі	лас ақ	лас ақ	лас ақ	лас ақ
Құрылымы	біртекті	біртекті	біртекті	біртекті

5 кестеден көріп отырғандай, төртінші сұйылтуда 40 °С температурада культивирлеу кезінде өсірілген колониялар келесідей көрсеткіштер бойынша ұқсас болды:

- профиль (жалпақ),
- мөлшері (орташа),
- түсі (лас ақ),
- құрылымы (біртекті).

Өсіп келе жатқан колонияларда келесі сапалық айырмашылықтар табылды:

- пішіні: бірінші, екінші және төртінші колониялар дөңгелек, үшіншісі дөңгелек болды,
- жиектері: тегіс (бірінші, екінші және төртінші колониялар), толқынды-үшінші колония,
- беті: тегіс (бірінші және төртінші колония), өрескел және түйнек тәрізді-сәйкесінше екінші және үшінші колония,
- бетінің оптикалық қасиеттері: күңгірт (1-3 колония), мөлдір емес – төртінші колония. Следовательно, в температурном режиме 40 °С в четвертом разведении был зафиксирован рост трёх видов качественно различающихся колоний.

Жалпы алғанда, өсіру температурасы 40 °С болғанда, колониялардың сапалық сипаттамасының көрсеткіштері бойынша барлығы алты типтегі колониялардың өсуі тіркелгенін атап өтуге болады, өйткені айтарлықтай айырмашылықтар үштен астам көрсеткіштерде - колониялардың пішіні, жиектері және беті бойынша тіркелді.

3 Өскен колониялардың саны:

Өсірудің екінші және төртінші деңгейлері үшін бірінші қайталанудың екінші және төртінші өсіруінде 55 °С температура режимінде өсіру кезінде-екі түрдің 4 колониясы, екінші қайталануында – бір колония. Осылайша, екінші және төртінші екі сұйылту үшін колониялардың орташа өсуі $(2,0 \pm 0,7) \times 10^2$ және $(2,5 \pm 1,1) \times 10^4$ болды, сәйкесінше 50 және 60 % өзгеру коэффициенттері бар.

55 °С температуралық режимде қатты қоректік ортада өсетін колониялардың сапалық сипаттамасы 6 және 7 кестелерде келтірілген.

6 кестеден көріп отырғанымыздай, екінші өсіруде 55 °С температура режимінде өскен колониялар ұқсас болды:

- профиль (жалпақ),
- пішіні (дөңгелек),
- мөлшері (орташа),
- беттер (тегіс),
- бетінің оптикалық қасиеттері (жылтыр),
- түсі (сары),
- құрылымы (біртекті).

Сапалық айырмашылықтар өскен колонияларда тек колониялардың шетінен табылды (1 және 3 колонияларда тегіс, 2 колонияда толқынды).

Кесте 6 – Екінші деңгейдегі сұйылту кезінде 55 °С температурада қатты коректік орталарда өсірілген колониялардың сапалық сипаттамасы

Қайталау	Бірінші		Екінші
	1	2	3
Колониялардың түрі	бірінші	екінші	бірінші
Профиль	тегіс	тегіс	тегіс
Пішіні	дөңгелек	дөңгелек	дөңгелек
Жиегі	тегіс	толқынды	тегіс
Мөлшері	орташа	орташа	орташа
Беті	тегіс	тегіс	тегіс
Бетінің оптикалық қасиеттері	жылтыр	жылтыр	жылтыр
Түсі	сары	сары	сары
Құрылымы	біртекті	біртекті	біртекті

Сондықтан 55 °С температуралық режимде екінші сұйылтуда екі түрлі сапалы колониялардың өсуі тіркелді деген қорытынды жасауға болады.

Кесте 7 – Төртінші деңгейдегі сұйылту кезінде 55 °С температурада қатты коректік орталарда өсірілген колониялардың сапалық сипаттамасы

Қайталау	Бірінші		Екінші
	бірінші	үшінші	үшінші
Колониялардың түрі	бірінші	үшінші	үшінші
Профиль	тегіс	тегіс	тегіс
Пішіні	қабыршақталған жиегі бар дөңгелек	жиегі бойынша роликті дөңгелек	жиегі бойынша роликті дөңгелек
Жиегі	толқынды	тегіс	тегіс
Мөлшері	орташа	орташа	орташа
Беті	тегіс	тегіс	тегіс
Бетінің оптикалық қасиеттері	жылтырақ	жылтыр	жылтыр
Түсі	сары	сары	сары
Құрылымы	біртекті	біртекті	біртекті

7-кестеден көрініп тұрғандай, төртінші сұйылтуда 55 °С температурада өскен колониялар келесідей болды:

- профиль (жалпақ),
- мөлшері (орташа),
- беттер (тегіс),
- беттің оптикалық қасиеттері (жылтыр),
- түс (сары),
- құрылым (біртекті).

Өсіп келе жатқан колонияларда сапалық айырмашылықтар табылды:

- пішіні (қабыршақталған жиегі бар дөңгелек, дөңгелек және жиегі бойынша роликті дөңгелек),

- жиек (бірінші колонияда толқынды және екінші және үшінші колонияда тегіс).

Сондықтан, төртінші өсіруде 55 °С температуралық режимде сапалық ерекшеленетін колониялардың үш түрінің өсуі тіркелді деп қорытынды жасауға болады.

Жалпы алғанда, культивирлеу температурасы 55 °С болған кезде колониялардың сапалық сипаттамасының көрсеткіштері бойынша колониялардың бес түрінің өсуі тіркелді, өйткені айтарлықтай айырмашылықтар екі көрсеткіш бойынша – колониялардың пішіні мен жиектерінде тіркелді.

Кесте 8 – Мумие – табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілімнің іріктелген сынамаларынан бөлінген актиномицеттердің сандық есебі

t, °С	Сұйылту дәрежесі - II		Сұйылту дәрежесі - IV	
	КОЕ / мл	C _v , %	КОЕ / мл	C _v , %
30	$(5,5 \pm 3,5) \times 10^2$	64	$(1,5 \pm 0,7) \times 10^4$	47
40	3		1	
50	0	-	0	-

8 кестеден көріп отырғанымыздай, қатты қоректік ортадағы актиномицет колонияларының өсуі сұйылтудың екінші және төртінші деңгейлерінде 30 және 40 °С кезінде анықталды, ал 60 °С температурада колониялардың өсуі тіркелген жоқ:

1 Сұйылтудың екінші деңгейі үшін 30 °С өсіру кезінде бірінші қайталануда сегіз актиномицет колонияларының өсуі, екіншіде – үш колонияда анықталды, сондықтан актиномицет колонияларының орташа өсуі $(5,5 \pm 3,5) \times 10^2$ болды, өзгеру коэффициенті 64 % болды, бұл өзгергіштіктің орташа көрсеткіштерін көрсетеді.

2 Сұйылтудың төртінші деңгейі үшін 30 °С өсіру кезінде бірінші қайталауда актиномицеттердің екі колониясының өсуі, екіншісінде – бір колония анықталды, сондықтан колониялардың орташа өсуі $(1,5 \pm 0,7) \times 10^4$ болды, өзгеру коэффициенті 47 %, бұл орташа өзгергіштікті көрсетеді.

3 40 °С культивирлеуде сұйылтудың екінші деңгейі үшін актиномицеттердің үш колониясының өсуі тек бірінші қайталануда, ал өсірудің төртінші деңгейі үшін бір колония тіркелді.

30 және 40 °С температуралық режимдерде қатты қоректік ортада өскен актиномицет колонияларының сапалық сипаттамасы 9-11 кестелерде келтірілген.

Кесте 9 - Екінші деңгейдегі сұйылтуда 30 °С температуралық режимде қатты қоректік ортада өсірілген актиномицет колонияларының сапалық сипаттамасы

Колониялардың түрі	бірінші	екінші	үшінші
Профиль	дөңес	конустық	иілген
Пішіні	жиегі бойынша роликті дөңгелек	дөңгелек	дөңгелек
Жиегі	тегіс	тегіс	тегіс
Мөлшері	орташа	нүктелі	нүктелі
Беті	тегіс	кедір	бұдырлы
Бетінің оптикалық қасиеттері	жылтырақ	жылтырақ	жылтырақ
Түсі	лас ақ	лас ақ	лас ақ
Құрылымы	біртекті	біртекті	біртекті

9-шы кестеден көрініп тұрғандай, сұйылтудың екінші деңгейінен 30 °С өсіру процесінде бірінші және екінші қайталануларда колониялардың үш түрінің өсуі тіркелді, ал төртінші сұйылтудан бастап барлық өсірілген колониялар дөңгелек пішінді, иілген, колониялардың шеттері тегіс, беті жылтыр түтікшелі, түсі лас ақ, құрылымы біркелкі болды. Демек, өсіп келе жатқан колониялардың сапалық айырмашылығын колониялардың профилі мен формасы сияқты көрсеткіштер бойынша бағалауға болады.

Кесте 10 – Төртінші сұйылтуда 30 °С температуралық режимде қатты қоректік ортада өсірілген актиномицет колонияларының сапалық сипаттамасы

Қайталау	Бірінші	Екінші
Колониялардың түрі	бірінші	екінші
Профиль	тегіс	конустық
Пішіні	дөңгелек	дөңгелек
Жиегі	тегіс	тегіс
Мөлшері	нүктелі	нүктелі
Беті	тегіс	бұдырлы
Бетінің оптикалық қасиеттері	жылтырақ	жылтырақ
Түсі	лас ақ	лас ақ
Құрылымы	біртекті	біртекті

10 кестеден актиномицеттердің өсіп келе жатқан колониялары профиль сияқты сапалық жағынан ерекшеленеді.

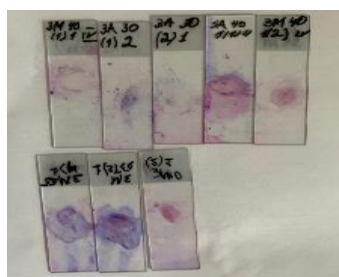
Кесте 11 – Екінші және төртінші сұйылтуда 40 °С температуралық режимде қатты қоректік ортада өсірілген актиномицет колонияларының сапалық сипаттамасы

Колониялардың түрі	бірінші	екінші
Профиль	тегіс	тегіс
Пішіні	дөңгелек	күрделі

Жиегі	тегіс	тегіс
Мөлшері	нүктелі	нүктелі
Беті	тегіс	кедір
Бетінің оптикалық қасиеттері	күңгірт	күңгірт
Түсі	лас ақ	лас ақ
Құрылымы	біртекті	біртекті

11 кестеден көрініп тұрғандай, температураның 40 °С режимінде екінші және үшінші деңгейдегі сұйылту кезінде колониялардың екі түрінің өсуі сапасына қарай тіркелді, олардың айырмашылығы пішіні мен беті сияқты көрсеткіштермен дәлелденді, ал қалған белгілер олар үшін бірдей болды.

3.2 Бөлінген микроорганизмдерді Грам бойынша бояу әдісімен микроскопирлеу

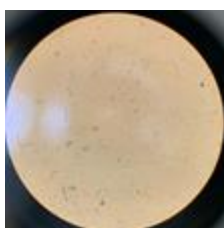


Сурет 6 - Грам бойынша бояу

Грамм бойынша бояу әдісімен табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілуден бөлінген микроорганизмдерді микроскопирлеу кезінде алынған нәтижелер (6-сурет) 12 кестеде келтірілген.

12 кестеден көріп отырғанымыздай, микроскопия әдісімен 10 штамм бөлінді, оның ішінде жеті кокк бактериясы, 3 ашытқы.

Боялған препаратқа бір тамшы иммерсия майын жағып, зерттеу үшін заттық үстелге саламыз.

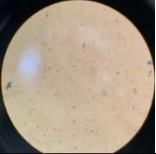
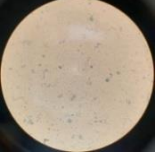
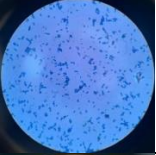
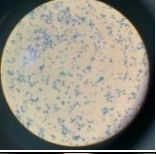
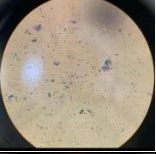
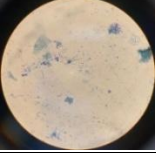
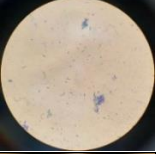
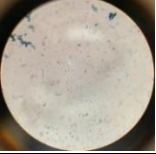
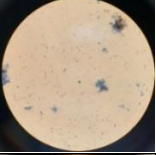
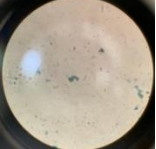


Сурет 7 – Грам-теріс бактериялар

Егер көк-қара түске боялса-грам-оң; қызғылт немесе қызыл – грамм-теріс бактериялар [57].

7 суреттен көріп отырғанымыздай, бактериялардың барлық жасушалары қызғылт түске боялған, сондықтан бұл грамм-теріс бактериялар.

Кесте 12 – Бөлінген микроорганизмдерді Грам бойынша бояу әдісімен микроскопирлеу

№	Атауы	Таксон	Пішіні	Спора	Қозғалуы	Фото суреті
1	АКТ 30 °С, II сұйылту 1 қайт., 2 колония	Бактерия-коккалар	кішкентай таяқша	жоқ	жоқ	
2	АКТ 30 °С II сұйылту 2 қайт., 1 колония	Ашытқылар	дөңгелектелген	жоқ	жоқ	
3	ЕПА 30 °С II сұйылту 2 қайт., 1 колония	Ашытқылар	дөңгелек	жоқ	жоқ	
4	ЕПА 30 °С II сұйылту 1 қайт., 2 колония	Ашытқылар	дөңгелек	жоқ	жоқ	
5	ЕПА 40 °С II сұйылту 1 қайт., 2 колония	Бактерия-коккалар	кішкентай таяқша тәріздес	жоқ	жоқ	
6	ЕПА 40 °С II сұйылту 2 қайт., 1 колония	Бактерия-коккалар	қысқа таяқша	жоқ	жоқ	
7	ЕПА 40 °С IV сұйылту 1 қайт., 1 колония	Бактерия-коккалар	таяқша тәріздес	жоқ	жоқ	
8	ЕПА 40 °С IV сұйылту 1 қайт., 2 колония	Бактерия-коккалар	таяқша тәріздес	жоқ	жоқ	
9	ЕПА 55 °С II сұйылту 1 қайт., 1 колония	Бактерия-коккалар	таяқша тәріздес	жоқ	жоқ	
10	ЕПА 55 °С II сұйылту 2 қайт., 1 колония	Бактерия-монококкалар	қысқа таяқша тәріздес	жоқ	жоқ	

ҚОРЫТЫНДЫ

Зерттеу мумие сынамаларынан алынған және қоректік қатты ортада өсірілген микроорганизмдердің әр колонияға тән кейбір сипаттамалары бар екенін көрсетті.

Сынамаларда анықталған микроорганизмдер - бұл бактериялар мен ашытқылар. Сабуро қоректік ортасында микроорганизмдер колонияларының өсуі табылған жоқ. Граммен бояу нәтижелері бойынша басқа екі қоректік ортада өсетін бактериялардың жасушалары (ЕПА, актиномицеттерге арналған агар) қызғылт түске боялған, яғни грам-теріс бактериялар.

ҚОРЫТА КЕЛЕ:

1 Мумиенің шығу тегі, таралуы және физикалық-химиялық қасиеттері табиғи тау биоорганогендік-минералды шайыр тәрізді түзілім ретінде зерттелді.

2 Микроорганизмдер табиғи тау биоорганогендік-минералды шайыр тәрізді түзілуінен бөлініп алынған.

3 Мумиедан бөлініп алынған микроорганизмдердің культуралдық қасиеттері зерттелді. Табиғи тау биоорганогенді-минералды шайыр тәрізді түзілім ретінде мумиедан бөлініп алынған микроорганизмдердің өсуіне әртүрлі температураның (30, 40 және 50 °С) әсері зерттелді.

ПАЙДАЛАНЫЛГАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Shrotri CK, Shrotri K, Jain R Biostimulatory Effect of Shilajeet on Wheat (*Triticum astivum*) Seed Germination // *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 2012. – vol. 2(1). – PP. 34-40.
- 2 Sharma V, Chaudhary A Ayurvedic pharmacology and herbal medicine // *International Journal of Green Pharmacy*, 2015. – vol. 9 (4). – PP. 192-197.
- 3 Ali M, Sahrawat I, Singh O Phytochemical investigation of Shilajit // *Indian Journal of Chemistry*, 2004. – vol. 43B. – PP. 2217-2222.
- 4 Barouji SR, Saber A, Torbati M, Fazljou SM, Khosroushahi A Health Beneficial Effects of Moomiaii in Traditional Medicine // *GMJ*, 2020. – vol. 9:1743. – PP. 1-12. DOI:10.31661/gmj.v9i0.1743.
- 5 Carrasco-Gallardo C, Guzmán L, Maccioni RB Shilajit, A Comparative Study of the Ancient and Modern Scientific Findings // *Indian J Indg Med*, 1995. – vol. 17(1). – PP. 1-4.
- 6 Компанцев Д. В., Бугаёв Ф. С. Оптимизация режимов экстракции мумиё с использованием метода математического планирования эксперимента // *Вестник Воронежского Государственного Университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.* – 2019. - №4. С. 82-87.
- 7 Бугаёв Ф.С. Компанцев Д.В., Сливкин А.И., Провоторова С.И. Анализ патентной базы технологии получения экстракта мумие. Современное состояние // *Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация*, 2019. – № 4. С. 113-118.
- 8 Ghosal S, Lal J, Kanth R, Kumar Y Similarities in the core structure of shilajit humus // *Soil Biol. Biochem.*, 1993. – vol. 25(3). – PP. 377-381.
- 9 Mittal P, Kaushik D, Gupta V, Bansal P, Khokra S Therapeutic Potentials of “Shilajit Rasayana”-A Review // *IJPCR*, 2009. – vol. 1(2). – PP. 47-49.
- 10 Kaur S, Kumar P, Kumar D, Kharya MD, Singh N Parasympathomimetic Effect of Shilajit Accounts for Relaxation of Rat Corpus Cavernosum // *American Journal of Men's Health*, 2012. – vol. 7(2). – PP. 119-127. DOI: 10.1177/1557988312462738.
- 11 Aziz S, Khaliq S, Rehman H, Ghani S, Irshad M, Green IR, Hussain H Phytochemical screening and biological studies of shilajit (*Asphaltum*) // *International Journal of Phytomedicine*, 2017. – vol. 9(1). – PP. 15-19. DOI:10.5138/09750185.1883.
- 12 Wilson E, Rajamanickam GV, Dubey GP, Klose P, Musial F, Saha FJ, Rampp T, Michalsen A, Dobos GJ Review on Shilajit: A Panacea of Traditional Medicine // *Journal of Ethnopharmacology*, 2011. – vol. 136(1). – PP. 1-9.
- 13 Idrees M, Ahmad M, Gul S, Ahmad I, Sallam MA, Zubair M Effects of Asphaltum (Shilajit) Combined with Vitamin E and Selenium on the Reproductive Parameters of Female Rabbits // *PakVetJ*, 2016. – vol. 36(1). – PP. 31-34.
- 14 El-Sayed M, Amin HK, Al-Kaf A Anti-Microbial, Anti-Oxidant And Anti-Ulcerogenic Effects Of Shilajit On Gastric Ulcer In Rats // *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 2012. – vol. 8(1). – PP. 26-39. ISSN 1553-3468. 15

Stohs S Safety and Efficacy of Shilajit (Mumie, Moomiyo) // *Phytotherapy Research*, 2013. – vol. 28(4). – PP. 475-479. DOI:10.1002/ptr.5018.

16 Kiernan K, McConnell A, Colhoun E, Lawson E Radiocarbon dating of mumijo from the vestfold hills, east Antarctica // *Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania*, 2002. – vol. 136. – PP. 141-144. ISSN 0080-4703.

17 Shahriari M, Zare F, Nimrouzi M The curative role of bitumen in traditional persian medicine // *ActaMedHistAdriat*, 2018. – vol. 16(2). – PP. 283-292.

18 Ding R, Zhao M, Fan J, Hu X, Wang M, Zhong S, Gu R Mechanisms of generation and exudation of Tibetan medicine Shilajit (Zhaxun) // *Ding et al. ChinMed*, 2020. – vol. 15(65). – PP. 1-15. DOI:10.1186/s13020-020-00343-9 .

19 Rv BR, Mahadevan S, Mp R, Ks R HPTLC Fingerprinting Analysis Of Shilajit: An Ayurvedic Herbo-Mineral Drug Binitha // *J. Pharm. Sci. Innov*, 2019. – vol. 8(5). – PP. 189-195. DOI: 10.7897/2277-4572.085153.

20 Vladimirov G, Kononikhin A, Kunenkov E, Perminova I, Popov I, Garmash A, Nikolaev E Comparison of Mumijo (Shilajit) and Humic Acids (HA) Chemicalm Composition Using FTICR Mass-Spectrometry // *Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University*, 2008. – vol. 1(3). – PP. 137-138. URL: <http://www.mgumus.chem.msu.ru/publication/2008/2008-vladimirov-comparison.pdf>.

21 Deshmukh A, Amrutkar M, Shardul C Literature Review Of Shilajit // *International Journal of Applied Ayurved Research*, 2016. – vol. 2(6). – PP. 790-794

22 Frolova LN, Kiseleva TL Chemical composition of mumijo and methods for determining its authenticity and quality (a review) // *PharmaceuticalChemistryJournal*, 1996. – vol. 30. – PP. 543–547.

23 Wangchuk P Bhutanese Brag-zun (mineral pitch): Its uses and scientific findings // *In-charge, Research and Development Section, Pharmaceutical and Research Unit, Institute of Traditional Medicine Services, Thimphu*, 2003. – vol. 9. URL: <http://www.ftm.edu.bt/wp-content/uploads/docs/English%20Journals/Bhutanese%20Bragzun.pdf>.

24 Gangwar, S. S. et al. “Shilajit A Medicinal Mystery to Cure the Un-Cure Disease.” *Imperial journal of interdisciplinary research* 3 (2016): n. pag.

25 Volfson I.F., Paul W., Pechenkin I.G. Geochemical anomalies: Sickness and health // *Man and the Geosphere (Earth Sciences in the 21stCentury)*. Editor: I.V. Florinsky. Nova Science Publishers, 2010. — PP. 69-113.

26 Pandao PN, Vinod A A Review Article On Efficacy Of Shilajit In Different Genito-Urinary Disorders // *International Ayurvedic Medical Journal*, 2017. – vol. 1(6). – PP. 742-745. ISSN: 2320 5091.

27 Verma A, Kumar N, Gupta LN, Sunil C Preparation of herbo-mineral formulation comprised of Shilajit // *International Journal of Pharmacy and Analytical Research*, 2016. – vol. 5(3). – PP. 440-444.

28 Stohs S, Singh K, Das A, Roy S, Sen C 12-Energy and Health Benefits of Shilajit // *Sustained Energy for Enhanced Human Functions and Activity*, Academic Press, 2017. – PP. 187-204. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805413-0.00012-0>.

29 Рабажова Г.Х., Хошимова Н., Амонов М.К. Мумие в медицине (обзор литературы) // Биология и интегративная медицина, 2017. – № 3. – С. 130-143.

30 Вольфсон И.В. Нерудные полезные ископаемые в решении прикладных геоэкологических задач // Разведка и охрана недр, 2013. – № 9. – С. 62-67.

31 Mongolia JS, Orkhonselenge D Biochemical Study of Mumijo in Uvs province, Mongolia // Mongolian journal of chemistry, 2011. – vol. 12(38). – PP. 56-59.

32 Rehan I, Muhammad R, Rehan K, Karim K, Sultana S Quantitative Analysis of Shilajit using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy and Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectroscopy // JNutrFoodSci, 2017. – vol. 7. – PP. 1-9. Doi: 10.4172/2155-9600.1000611.

33 Bhattacharya S, Sen AP, Ghosal S Effects of Shilajit on Biogenic Free Radicals // Phytotherapy Research, 1995. – vol. 9. – PP. 56-59.

34 Rahim M, Mohammadzei I, Hassan W, Ahmad N Heavy metal profile of Shilajit samples obtained from Gilgit and Chellas Pakistan // Journal of Physical Science, 2016. – vol. 27. – PP. 139-144.

35 Kanoujiya SJ, Chaudhary SP, Kumar N Physico-Chemical study of shilajit with Arjuna Kwath Bhvita & Khadir Kwath Bhavita // World Journal of Pharmaceutical Research, 2016. – vol. 5(7). – PP. 1271-1280. DOI: 10.20959/wjpr20167-6563.

36 Carrasco-Gallardo C, Guzman L, Maccioni RB Shilajit: A Natural Phytocomplex with Potential Procognitive Activity // International Journal of Alzheimer's Disease, 2012. – vol. 12. – PP. 1-4. Doi:10.1155/2012/674142..

37 Pradhan N, Gavali J, Waghmare N Shilajit an unique drug of ayurveda // IAMJ, 2015. – vol. 3(5). – PP. 1427-1430. ISSN:2320 5091

38 Ghosal S, Singh SK, Kumar Y, Srivastava R, Goel RK, Dey R, Bhattacharya SK Anti-ulcerogenic Activity of Fulvic Acids and 4'-Methoxy-6-carbomethoxybiphenyl Isolated from Shilajit // Phytotherapy research, 1988. – vol. 2(4). – PP. 187-191.

39 Agarwal SP, Anwer MK, Aqil M Complexation of Furosemide LDDI with Fulvic Acid Extracted from Shilajit: A Novel Approach // Drug Development and Industrial Pharmacy, 2008. – vol. 34(5). – PP. 506–511. DOI: 10.1080/03639040701744053.

40 Swat M, Rybicka I, Gliszczyńska-Swigło A Characterization of Fulvic Acid Beverages by Mineral Profile and Antioxidant Capacity // Journal MDPI, 2019. – vol. 8(12). – PP. 605-617. Doi:10.3390/foods8120605.

41 Baraona RM, Sepulveda LQ, Saavedra IS, Salas RS, Salas VS “Nutraceutical composition that comprises extract of shilajit, folic acid, vitamin b12 and vitamin b6 and the use there of preventing and/or treating neurod,” Canadian Patent 2 776 919, Apr., 05, 2012. URL: <https://patentimages.storage.googleapis.com/ea/8f/c8/b1289670dfd088/CA2776919C.pdf>.

42 Akila B, Manickavasakam K, Shakila R Chemical Analysis of Gomutra Silasathu Parpam // International Journal of Drug Delivery, 2014. – vol. 6. – PP. 88-93. ISSN: 0975-0215.

43 Kong YC, But PPH, Ng KH, Cheng KF, Cambie RC, Malla SB Shilajit Chemical Studies on a Nepalese Panacea // Int. J. CrudeDrugRes, 1987. – vol. 25(3). – PP. 179-182.

44 Talbert R Shilajit a material medica monograph // California College of Ayurveda, 2004. – PP. 1-19. URL: <https://www.nutrientsofnature.nl/wp-content/uploads/2018/02/08-SHILAJIT-A-MATERIA-MEDICA-MONOGRAPH.pdf>.

45 Bhardwaj P, Goe M, Rai DV Biophysical studies of administered Shilajit on rat bone tissue // IndianJ. Applied&PureBio, 2016. – vol. 31(1). – PP. 27-34.

46 Ghosal S, Lal J, Singh SK, Goel R, Jaiswal A, Bhattacharya S The Need for Formulation of Shilajit by its Isolated Active Constituents // Phytotherapy research, 1991. – vol. 5(21). – PP. 211-216.

47 Thakkar S, Laddha K Quality control: curb counterfeiting of asphaltum (shilajit) // Journal IJCRT, 2018. – vol. 6(1). - PP. 1098-1103. ISSN: 2320-2882

48 Sharma S Health benefits of Fulvic acid and other Chemicals of Shilajit // Sharma Chemistry Department, 2015. – vol. 4(4). – P. 1. URL: https://www.worldwidejournals.com/global-journal-for-research-analysis-GJRA/fileview/April_2015_1429362213_125.pdf (accessed 29.03.2021).

49 Krishna CM, Srinivasulu B, Nagamani D A critical review of Shilajit-Asphaltum Punjabinum // JournalInd. Med. Heritage, 2010. – PP. 13-24.

50 Анисимов В.Е., Шакирзянова Р.М. Применение мумие в лечебной практике // Медицинский журнал, 1982. – Т.63(2). – С. 65-68.

51 ГОСТ ISO/IEC 17025-2019. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий.

52 ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности.

53 ГОСТ Р ИСО 11737-2-2003. Стерилизация медицинских изделий. Общие требования к определению характеристик стерилизующего агента и к разработке, валидации и текущему контролю процесса стерилизации медицинских изделий.

54 ГОСТ ISO 11133-2016. Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред.

55 ГОСТ ISO 7218-2015 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям.

56 СТ РК ИСО 8199-2006 (ISO 8199:2005, IDT) Качество воды. Общие требования по подсчету микроорганизмов, выращенных методом посева на питательной среде.

57 ГОСТ 21237-75 Мясо. Методы бактериологического анализа.