



ISSN 1607-2774

ҒЫЛЫМИ ЖУРНАЛ

№2 (90) 2020

СЕМЕЙ ҚАЛАСЫНЫҢ ШӘКӘРІМ
АТЫНДАҒЫ МЕМЛЕКЕТТІК
УНИВЕРСИТЕТІНІҢ

ХАБАРШЫСЫ



ВЕСТНИК

ГОСУДАРСТВЕННОГО
УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ ШАҚАРИМА
ГОРОДА СЕМЕЙ

SHÁKÁRIM ÝNIVERSITETI
SEMEI

**ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**СЕМЕЙ ҚАЛАСЫНЫҢ
ШӘКӘРІМ АТЫНДАҒЫ МЕМЛЕКЕТТІК
УНИВЕРСИТЕТІНІҢ**

Х А Б А Р Ш Ы С Ы

В Е С Т Н И К

**ГОСУДАРСТВЕННОГО
УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ ШАКАРИМА
ГОРОДА СЕМЕЙ**

Семей – 2020

**СЕМЕЙ ҚАЛАСЫНЫҢ
ШӘКӘРІМ АТЫНДАҒЫ МЕМЛЕКЕТТІК
УНИВЕРСИТЕТІНІҢ
Х А Б А Р Ш Ы С Ы**

**ТЕХНИКА, БИОЛОГИЯ,
АУЫЛ ШАРУАШЫЛЫҚ,
ВЕТЕРИНАРИЯ, ТАРИХ, ЭКОНОМИКА
ҒЫЛЫМДАРЫ**

Күәлік № 13882-Ж

Журнал жылына 4 рет жарыққа шығады

*Журнал қазақ, орыс, ағылшын
тілдерінде шығады*

ISSN 1607-2774

**В Е С Т Н И К
ГОСУДАРСТВЕННОГО
УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ ШАКАРИМА
ГОРОДА СЕМЕЙ**

**ТЕХНИЧЕСКИЕ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ,
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ,
ВЕТЕРИНАРНЫЕ, ИСТОРИЧЕСКИЕ,
ЭКОНОМИЧЕСКИЕ НАУКИ**

Свидетельство № 13882-Ж

Журнал выходит 4 раза в год

*Журнал издается на казахском, русском,
английском языках*

РЕДАКЦИЯ АЛҚАСЫ

Бас редактор – Ескендіров М.Ғ., тарих ғылымдарының докторы, профессор (Қазақстан, Семей);
Әмірханов Қ.Ж. – техника ғылымдарының докторы, профессор (Қазақстан, Семей);
Әпсәлямұв Н.А. – экономика ғылымдарының докторы, профессор (Қазақстан, Семей);
Атантаева Б.Ж. – тарих ғылымдарының докторы, профессор (Қазақстан, Семей);
Вашукевич Ю.Е. – экономика ғылымдарының докторы, профессор (Ресей, Иркутск);
Дүйсембаев С.Т. – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор (Қазақстан, Семей);
Еспенбетов А.С. – филология ғылымдарының докторы, профессор (Қазақстан, Семей);
Жұртбай Т.Қ. – филология ғылымдарының докторы, профессор (Қазақстан, Астана);
Кәкімов А.Қ. – техника ғылымдарының докторы, профессор (Қазақстан, Семей);
Кешеван Н. – PhD, профессор (Англия, Лондон);
Кожебаев Б.Ж. – ауылшаруашылығы ғылымдарының докторы (Қазақстан, Семей).
Махат Д.А. – тарих ғылымдарының докторы, профессор (Қазақстан, Астана).
Ребезов М.Б. – ауылшаруашылық ғылымдарының докторы, (Ресей, Мәскеу)
Сандип Шарма – MBA, LLB, PhD (Үндістан, Нью-Дели)
Тоқаев З.Қ. – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор (Қазақстан, Семей);
Рақыпбеков Т.Қ. – медицина ғылымдарының докторы, профессор (Қазақстан, Семей);

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор – Ескендіров М.Ғ., доктор исторических наук, профессор (Казахстан, Семей);
Амирханов К.Ж. – доктор технических наук, профессор (Казахстан, Семей);
Апсәлямұв Н.А. – доктор экономических наук, профессор (Казахстан, Семей);
Атантаева Б.Ж. – доктор исторических наук, профессор (Казахстан, Семей);
Вашукевич Ю.Е. – доктор экономических наук, профессор (Россия, Иркутск);
Дүйсембаев С.Т. – доктор ветеринарных наук, профессор (Казахстан, Семей);
Еспенбетов А.С. – доктор филологических наук, профессор (Казахстан, Семей);
Жұртбай Т.Қ. – доктор филологических наук, профессор (Казахстан, Астана);
Какимов А.К. – доктор технических наук, профессор (Казахстан, Семей);
Кешеван Н. – PhD, профессор (Англия, Лондон);
Кожебаев Б.Ж. – доктор сельскохозяйственных наук (Казахстан, Семей);
Махат Д.А. – доктор исторических наук, профессор (Казахстан, Астана).
Ребезов М.Б. – доктор сельскохозяйственных наук (Россия, Москва);
Сандип Шарма – MBA, LLB, PhD (Индия, Нью-Дели);
Тоқаев З.К. – доктор ветеринарных наук, профессор (Казахстан, Семей);
Рахыпбеков Т.К. – доктор медицинских наук, профессор (Казахстан, Семей);

А.О. Утегенова¹, Ж.Х. Какимова¹, З.В.Капшакбаева², Ж.Б. Асиржанова¹

¹Семей қаласының Шәкәрім атындағы мемлекеттік университеті

²С. Торайғыров атындағы Павлодар мемлекеттік университеті

ИММОБИЛИЗАЦИЯЛАНҒАН ФЕРМЕНТПЕН ТЕСТ-ЖҮЙЕСІН ДАЙЫНДАУ ҮШІН АЦЕТИХОЛИНЭСТЕРАЗА ФЕРМЕНТІНІҢ МЕНШІКТІ БЕЛСЕНДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ

Аңдатпа: Мақалада иммобилизацияланған ферментпен тест-жүйесін дайындау үшін ацетилхолинэстераза ферментінің меншікті белсенділігін зерттеу нәтижелері көрсетілген. Бұл жұмыста иммобилизацияланған фермент негізінде тест-жүйені құру үшін "Sigma-Aldrich" өндірісінің ацетилхолин эстераза ферменті қолданылды. Холинэстеразаны тест-жүйенің модельдік бетіне иммобилизациялауды химиялық әдіспен – фермент пен тасымалдаушы арасында жаңа коваленттік байланыстар құру жолымен жүргізді. Дайын иммобилизацияланған ацетилхолинэстераза ферменті бар тест-жүйелер бұдан әрі фосфорорганикалық пестицидтерді анықтау үшін талданатын ерітіндіде (сүт) ферментативтік реакцияны қою үшін қолданылды. Алынған тест-жүйе биологиялық объектілерде әртүрлі токсиканттарды анықтау мақсатында экспресс-тестілер жасау үшін перспективалы болып табылады.

Түйін сөздер: фосфорорганикалық пестицидтер, тағам қауіпсіздігіндегі инсектицид, аналитикалық құрылғылар, биосенсорлар, тест-жүйе.

Сапалық көрсеткіштері жоғары жануарлардан алынатын өнімдер өндірісі біздің елімізде тағам қауіпсіздігін қамтамасыз ететін өзекті мәселе болып табылады. Шикізат және өнімнің қауіпсіздігі оның құрамында әртүрлі токсиканттардың болуы не болмауы негізінде анықталады [1].

Ауылшаруашылығында өнімділікті арттыру мақсатында әртүрлі химикаттар – жоғары ұйытты қасиеттерге ие, сонымен қатар таңдамалы әсер ететін инсектицидтер қолданылады. Инсектицидтер едәуір мөлшерде өсімдік шаруашылығы мен мал шаруашылығы өнімдерінің құрамына түседі. Жануартекті шикізаттарды ластайтын негізгілердің бірі ол ауылшаруашылық улы химикаттардың қалдықтары болып табылады. Оларға жататындар: пестицидтер, тыңайтқыштар, өсімдіктердің өсуі үшін қолданылатын әртүрлі препараттар, жемістердің пісіп жетілуін жылдамдататын құралдар.

Пестицидтер (латын сөздерінен *pestis* – жұқпалы ауру, *caedo* – өлтіремін) – мәдени өсімдіктерді зиянкестерден, паразиттерден, арамшөптерден, аурулардан және микроорганизмдерден қорғау үшін қолданылатын барлық химиялық қосылыстар. Пестицидтердің ең көп таралған түрлеріне хлорорганикалық, фосфорорганикалық, карбоматтар, сынапты органикалық қосылыстар, синтетикалық пиретроидтер және мыс құрамды қосылыстар жатады.

Азық-түлік өнімдерінің құрамындағы әртүрлі пестицидтер мен хлорорганикалық қосылыстардың мөлшері туралы ақпаратты қамтамасыз ететін автоматтандырылған мониторинг нәтижелері өсімдік және жануартекті өнімдердің, әсіресе картоп, түйінді пияз, балық, сүт және т.б. құрамында пестицидтердің жалпы мөлшері өсіп жатқанын көрсетеді [2].

Қазіргі уақытта, көптеген елдерде пестицидтердің көбіне тыйым салынған, алайда оларды ауыл шаруашылығында бүгінге дейін қолданып келеді, себебі пестицидтерді қолдануды толықтай тоқтату мүмкін емес, сол үшін жануартекті шикізаттар мен азық-түлік өнімдерінің құрамындағы олардың мөлшерін бақылап отыру өте маңызды [1].

Пестицидтердің ең көп таралған және көп тобына жататындардың бірі фосфорорганикалық пестицидтер (ФОП). Олардың ішіндегі танымалдар – паратион, диазинон, хлорофос, карбофос, дисульфотион, малатион.

ФОҚ (фосфорорганикалық қосылыстар) ішіндегі карбафос құны аса жоғары емес болуы және қолданылуы салыстырмалы түрде қарапайым болғандықтан пестицидтер нарығында анағұрлым сұранысқа ие, басқа күштірек ФОҚ әсерге бағытталған заманауи биопрепараттармен ығыстырылуда.

Ең жиі пайдаланылатын инсектицид ол карбафос – жоғары ұйытты фосфорорганикалық пестицид болып табылады. Карбофос улы әсері бар және ацетилхолинэстераз ферментінің әсерін бәсеңдететін қабілеті бар және орталық жүйке жүйесінің холинергиялық синапстарында жүйке импульстерін жүргізуді тежейтін

ацетилхолиннің жиналуына ықпал етеді және орталық және вегетативтік жүйке жүйесіне бағытталған әсері бар у болып табылады.

Бүгінде азық-түлік пен шикізаттар құрамындағы адам ағзасына қауіпті, оның ішінде антропогенді текті ксенобиотиктер, компоненттерді анықтау бойынша жүргізілетін зерттеулер өзекті болып табылады және бақылаудың әртүрлі әдістерімен шешілуде [3].

Сұйық биологиялық объектілердегі пестицидтерді анықтау бойынша көптеген экспресс-әдістер бар. Ақпаратты талдау және қайта өңдеу үшін жаңа құрылғылардың бірі-иммобилизацияланған ферменттерді пайдалана отырып, қоршаған ортаны бақылауға арналған аналитикалық тест-жүйелер болып табылады.

Биологиялық өлшемдерде әртүрлі токсиканттарды биохимиялық анықтау үшін иммобилизацияланған ферменттерді пайдалану шабдалы перспективалы болып табылады.

Фосфорорганикалық қосылыстарды анықтау ацетилхолинхлоридтен ферментативтік реакцияны жүргізу кезінде пайда болатын сірке қышқылын анықтауға негізделеді, ацетилхолинэстеразамен катализацияланатын, карбофос ингибирленуімен.

Жұмыстың мақсаты. Жұмыстың мақсаты сүттегі фосфорорганикалық пестицидтің (карбофос) қалдық мөлшерін анықтау бойынша экспресс-әдісті әзірлеу кезінде тест-жүйедегі ацетилхолинэстераза ферментінің меншікті белсенділігін зерттеу болып табылады.

Материалдар мен әдістер.

Бұл жұмыста ацетилхолинэстераза ферменттері (АХЭ) А2661-25G; глутарь альдегиді 25%; ацетилхолин хлориді "Sigma-Aldrich"; темір трихлориді ($FeCl_3$), пектин, хитозан желатин; сиыр сүті; дистилденген су; карбофос болып табылады.

Тест-жүйелерді әзірлеу кезінде көптеген белгілі ферменттердің ішінен тек кейбір ферменттер – гидролаза және оксиредуктаза топтары ғана қолданылған, олар биоспецификалық өзара іс-қимыл нәтижелерін тіркейтін жүйеге қосылуы мүмкін [5].

Бұл жұмыста иммобилизацияланған ферменті негізінде тест-жүйені құру үшін "Sigma-Aldrich" өндірісінің ацетилхолин эстераза ферменті қолданылды.

Фосфорорганикалық пестицидтің қалдық мөлшерін анықтау бойынша зерттеулер ацетилхолин хлоридтен ацетилхолин эстеразамен ферментативтік реакцияның нәтижесінде пайда болатын сірке қышқылын сандық анықтауға негізделген. Пайда болатын сірке қышқылы рН қоспасын қышқыл ортаға жылжытады, оны КФК-5 индикаторы мен фотометрінің көмегімен анықтауға болады.

Ацетилхолинэстераза иммобилизацияланған ферменттің меншікті белсенділігін анықтау үшін А.М. Филиппова, О.В. Воробьева әзірлеген зерттеулер мен әдістемеге негізделген әдістеме әзірленді.

Әдістеме мыналардан тұрады:

– буферлік ерітіндіні дайындау (рН 8,4), (0,05 моль/л концентрациясы бар натрий тетрабораты ерітіндісінің 6,2 мл 0,1 моль/л концентрациясы бар тұз қышқылы ерітіндісінің 3,8 мл араластырылған);

– ацетилхолин эстераза ферментінің су ерітіндісін дайындау (10 мл дисстиленген суға 15 мг);

– ацетилхолин хлоридінің 2% су ерітіндісін дайындау (4 г ацетилхолин 10 мл дисстиленген суға ерітін);

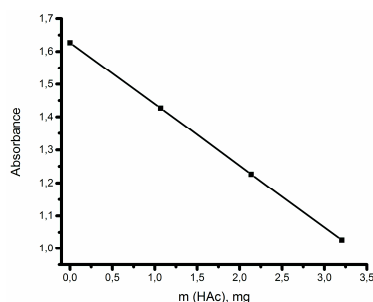
– 1 г құрғақ $FeCl_3$ темір хлоридінің су ерітіндісін дайындау 100 мл тазартылған суға ерітілген.

Жұмыс барысы:

0,1 мл ацетилхолинэстераза ферментінің су ерітіндісіне рН 8,4-тен 2 мл буферлік ерітіндіні өндірді және $37^{\circ}C$ температурада 30 минут бойы термостатацияланды.

Зерттелетін ацетилхолинэстераза ерітіндісіне ферментативтік реакция қою үшін 0,5 мл ацетилхолин хлоридінің 2% ерітіндісін қосып, одан әрі қоспа $37^{\circ}C$ температурада 30 минут бойы инкубациялаудан өтті. Тәжірибелі сынама ретінде термостаттау алдында ингибитор енгізген қоспа қолданылды. Реакция аяқталғаннан кейін әрбір пробиркаға 2,1 мл тазартылған су және 0,3 мл фенолдықызыл индикатор (0,02% сулы ерітінді) енгізілді. Сірке қышқылының бөлінген санын ФЭК – КФК – 5-те қабатының қалыңдығы 10 мм кюветте 540 нм толқын ұзындығы кезінде таңқурай бояуы бойынша бағалады.

Калибрлеу графигінің талдауы ферментпен субстрат ерітіндісінің оптикалық тығыздығы 1,62, ал ерітіндідегі сірке қышқылының массасы 0,035 мг тең екенін көрсетеді (1 сурет).



Сурет 1 – ерітіндідегі сірке қышқылының концентрациясын анықтауға арналған калибрлеу кестесі

Ферменттің меншікті белсенділігін есептеу үшін сірке қышқылының массасын мольге ауыстырамыз, бұл үшін сірке қышқылының массасын қышқылдың сырлау массасына бөліміз-60:

$$0,000035 / 60 = 0,59 \text{ ммоль}$$

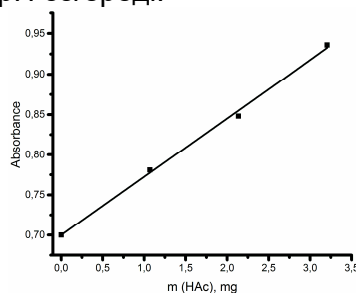
Бұдан әрі формула бойынша меншікті белсенділікті есептейміз

$$A = (0,59) / (0,1 \text{ мл}) = 5,9 \text{ ммоль / мл}$$

мұнда 0,59-сірке қышқылы тұзы,

0,1-ферменттің салмағы, мл

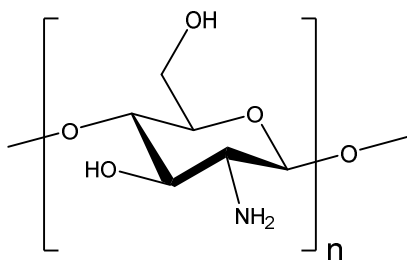
Зерттеу нәтижелері ацетилхолинэстеразаның меншікті белсенділігі-5,9 ммоль/мл жеткілікті дәрежеде сірке қышқылы мен холин түзілуімен гидролиз реакциясын катализдейді, нәтижесінде буферлік ерітіндінің рН өзгереді.



Сурет 2 – Буферлік ерітіндінің рН өзгереді

А.М. Филиппованың, О.В. Воробьеваның пайдаланылған әдістемесі ерекше болып табылмайды, себебі бұл жағдайда H_3O^+ + гидроксония иондарының шоғырлануы аналитикалық белгі болып табылады.

Ерітіндіде ацетилхолин субстратының ыдырау өнімдерінің болуын дәлелдеу үшін, жоғарыда сипатталған әдістеме ретінде индикатор ретінде қолданылған үш валентті темір (FeCl_3) иондары бар ацетил-аниондарды анықтау әдістемесі ұсынылды.



Сурет 3 – Хитозанның құрылымдық формуласы

Холинэстеразаны тест-жүйенің модельдік бетіне иммобилизациялауды химиялық әдіспен – фермент пен тасымалдаушы арасында жаңа коваленттік байланыстар құру жолымен жүргізді.

Физикалық әдістерге қарағанда иммобилизацияның бұл тәсілі ферменттің тасымалдаушымен берік және қайтымсыз байланысын қамтамасыз етеді және энзим молекуласының тұрақтануымен бірге жүреді.

Дайындалған фермент пен хитозан (3-сурет) ерітіндісін (пектин) бастапқы түрлендіргіштің дайындалған тегіс бетіне, шыны таяқшаның бетіне жұқа қабатпен жағады. Содан кейін кептіргіш шкафта 37 – 40°C температурада 30 - 60 минут бойы кептірілді, одан

әрі таяқшаның салыстырып тексерілуі альдегид глутаратын сулы ерітіндісімен өңделеді, одан кейін 37-40°C температурада 30-60 минут бойы кептірілді.

Осылайша, ацетилхолинэстераза иммобилизацияланған ферменті бар дайындалған тест-жүйелер бұдан әрі фосфорорганикалық пестицидтерді анықтау үшін талданатын ерітіндіде (сүт) ферментативтік реакцияны қою үшін қолданылды.

Алынған тест-жүйе биологиялық объектілерде әртүрлі токсиканттарды анықтау мақсатында экспресс-тестілер жасау үшін перспективалы болып табылады.

Әдебиеттер

1. Диссертация Светличкин Владимир Вячеславович Определение остаточных количеств лекарственных препаратов и бактериальных токсинов в продуктах животного происхождения методами ферментативного ингибирования и иммуноанализа 06.02.05 – Ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза/ Москва 2016
2. Витол И.С., Коваленок А.В., Нечаев А.П. Безопасность продовольственного сырья и продуктов питания. – М.: ДеЛи, 2010. – 352 с.
3. Донченко Л.В., Надыкта В.Д. Безопасность пищевой продукции. – М.: ДеЛи, 2007.– 538 с.
4. Филиппова А.М., Воробьева О.В., Аванесян С.С. Биосенсорная тест-система на основе иммобилизованного фермента ацетилхолинэстеразы для определения карбофоса // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 6
5. Будников Г.К., Евтюгин Г.А. Экспресс-тестовые методы определения ингибиторов гидролитических ферментов с помощью электрохимических биосенсоров // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева), 2001, т. XLV, № 4
6. Белов А.А., Белова Е.Н., Филатов В.Н. Текстильные материалы, содержащие хитозан и протеолитический комплекс из гепатопанкреаса краба, для медицинских целей. // – М.: Биомедицинская химия, 2009. Т.55. – № 1. С.61-67.

ИССЛЕДОВАНИЕ УДЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ТЕСТ-СИСТЕМЫ С ИММОБИЛИЗОВАННЫМ ФЕРМЕНТОМ

А.О. Утегенова, Ж.Х. Какимова, З.В.Капшакбаева, Ж.Б. Асиржанова

В статье представлены результаты исследования удельной активности фермента ацетилхолинэстеразы для разработки тест-системы с иммобилизованным ферментом. В данной работе для создания тест-системы на основе иммобилизованного фермента использовали фермент ацетилхолинэстераза производства «Sigma-Aldrich». Иммобилизацию холинэстеразы на модельную поверхность тест-системы проводили химическим методом – путем образования новых ковалентных связей между ферментом и носителем. подготовленные тест-системы с иммобилизованным ферментом ацетилхолинэстеразы в дальнейшем использовали для постановки ферментативной реакции в анализируемом растворе (молоко) для определения фосфорорганических пестицидов. Полученная тест-система является перспективной для создания экспресс-тестов с целью определения различных токсикантов в биологических объектах

Ключевые слова: фосфорорганические пестициды, инсектицидом пищевая безопасность, аналитические устройства, биосенсоры, тест-система.

RESEARCH OF SPECIFIC ACTIVITY OF ACETYLCHOLINESTERASE ENZYME FOR THE DEVELOPMENT OF A TEST SYSTEM WITH AN IMMOBILIZED ENZYME

A. Utegenova, Zh. Kakimova, Z. Kapshakbaeva, Zh. Asirjanova

The article presents the results of a study of the specific activity of the enzyme acetylcholinesterase for the development of a test system with an immobilized enzyme. In this work, to create a test system based on an immobilized enzyme, the enzyme Acetylcholinesterase manufactured by Sigma-Aldrich was used. Cholinesterase was immobilized on the model surface of the test system by the chemical method – by the formation of new covalent bonds between the enzyme and the carrier. The prepared test systems with the immobilized acetylcholinesterase enzyme were subsequently used to formulate the enzymatic reaction in the analyzed solution (milk) to determine organophosphorus pesticides. The resulting test system is promising for the creation of rapid tests in order to determine various toxicants in biological objects.

Key words: organophosphorus pesticides, food safety insecticide, analytical devices, biosensors, test system.