

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ МОЛОЧНОКИСЛОГО ШТАММА *LACTOBACILLUS BULGARICUS* C-2 ПЕРСПЕКТИВНОГО ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЗАКВАСОК И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК

Хасенова А.Е.^{1,2}, Шибаетова А.К.², Альжанова Г.С.², Имамұратова Н.И.¹, Тулегенова Б.С.^{1,2}

ТОО «BioMilk Product», 021500, г.Степногорск, Республика Казахстан¹

ТОО Филиал «Национальный центр биотехнологии» в г. Степногорск, 021500, г.Степногорск, Республика Казахстан²
akmaralhasenova12@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Молочнокислые пробиотические бактерии можно широко использовать для профилактики и лечения больных с различными заболеваниями, такими как острые и хронические заболевания желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей, для восстановления кишечного микробиоценоза, в комплексе с антибиотикотерапией. Форма приема этих микроорганизмов разнообразна: кисломолочные продукты, лекарственные препараты, биологически активные добавки.

При производстве молочнокислых заквасок, в том числе и пробиотического штамма *Lactobacillus bulgaricus*, возникают проблемы в подборе питательных сред и условий для глубинного культивирования, подборе методов и условий концентрирования, в подборе криопротекторов для сублимационной сушки.

В данной статье приведены все данные для производства штамма *Lactobacillus bulgaricus* C-2 в порошкообразном виде с максимальным выходом клеток микроорганизма, перспективным для введения в состав заквасок для молочной промышленности и в биологически активные добавки с пробиотическим эффектом действия. Штамм *Lactobacillus bulgaricus* C-2 выделен из кумыса и хранится в коллекции филиала РГП на ПХВ МЗ РК «Национальный центр биотехнологии» в г. Степногорск. Подобрана производственная питательная среда, условия для глубинного культивирования, методы и условия концентрирования, подобраны оптимальные криопротекторы для сублимационной сушки.

Ключевые слова: *Lactobacillus bulgaricus*, питательная среда, культивирование, концентрирование, сублимация, криопротекторы.

ВВЕДЕНИЕ

Микробиота кишечника человека представлена более 10^{14} микроорганизмов, активно участвующих в жизнедеятельности человека (пищеварительном процессе, обмене веществ, поддержании иммунитета и др.). Последние научные данные указывают на специфичность в составе кишечной микрофлоры, как у каждого индивидуума, так и у национальных и региональных групп населения (различия энтеротипов) [1]. Эти микробы производят тысячи различных метаболитов и отвечают за 30% метаболитов, обнаруженных в крови человека. Глядя на эти факты, не следует удивляться тому, что эти микробы играют решающую роль во многих аспектах здоровья человека, от здоровья пищеварительной системы и иммунитета, защиты от патогенных микроорганизмов до потенциального влияния на настроение и когнитивное здоровье.

При конструировании биологически активных компонентов необходимо, чтобы исходные культуры отвечали следующим требованиям: активно наращивали биомассу, были устойчивы к бактериофагу, щелочной реакции среды, желчи и фенолу, устойчивы к лизоциму, желудочному соку. С технологической точки зрения продукты полученные на основе молочнокислых заквасок должны иметь высокие органолептические показатели и реологические свойства. Важнейшим признаком является устойчивость к антибиотикам, антагонистическая активность в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов.

Одним из таких штаммов является *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, который широко используется в производстве йогуртов и сортов сыров в качестве

компонента заквасок, а также в составе биологически активных добавок [2].

На современных крупных молочных заводах с высокой производительностью концентрированные замороженные или лиофилизированные закваски предпочтительнее использовать для приготовления больших объемов сухих заквасок или для непосредственной подготовки производственных резервуаров для чанов для йогурта или сыра. Готовые концентрированные замороженные и лиофилизированные закваски производятся в специализированном заквасочном производстве. Для производства таких концентрированных культур необходим правильный выбор стартовых штаммов для надежного производства кислоты и создания аромата в молочном продукте [3,4]. Кроме того, важно оптимизировать технологию получения функционально эффективных концентрированных культур. Технология производства заквасок включает ряд операций, состоящих из размножения, концентрирования клеток, замораживания или лиофилизации, упаковки, контроля качества и надлежащей транспортировки. Постоянное совершенствование всех операций необходимо для удовлетворения требований высоко конкурентной молочной промышленности.

Среди различных молочнокислых бактерий, используемых в заквасках, *L. bulgaricus* чрезвычайно лабилен к различным операциям, используемым для получения концентрированных культур [5-8]. Потеря жизнеспособности на каждой стадии — концентрирование, замораживание и лиофилизация — происходит с *L. bulgaricus*, даже когда в конце размножения достигаются высокие популяции. Оптимальные питательные среды, параметры роста, условия концентрирования и лиофилизации подбирались

для смягчения потери жизнеспособности *Lactobacillus*.

При производстве штаммов в сухом виде с длительным сроком хранения возникают проблемы в подборе питательных сред и условий для глубинного культивирования, подборе методов и условий концентрирования, в подборе криопротекторов для сублимационной сушки. В данной статье приведены все данные для производства штамма *Lactobacillus bulgaricus* C-2 в порошкообразном виде с максимальным выходом клеток микроорганизма, перспективным для введения в состав заквасок для молочной промышленности и в биологически активные добавки с пробиотическим эффектом действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Предлагаемый штамм *Lactobacillus bulgaricus* C-2 новый, в научной и патентной литературе не описан. Штамм хранится в филиале РГП на ПХВ МЗ РК «Национальный центр биотехнологии» в г.Степногорск и депонирован в депозитории ТОО «КАЗНИИППП» под регистрационным номером В-626. Штамм выделен в естественных условиях из микрофлоры кисломолочного продукта кумыс. Заквасочная способность штамма составляет 6-8 часов при температуре 37 ± 2 °С.

Питательные среды:

- коммерческая среда *Lactobacillus* MRS де Мана, Рогозы, Шарпа фирмы Himedia;

- Опытная для ЛБ следующего состава, г/л: гидролизат молока -500 мл; пептон – 10; дрожжевой экстракт – 10; декстроза – 10; кальция карбонат- 3; калия гидрофосфат - 0,5; вода дистиллированная до 1,0 л.

- Опытная №1 для ЛБ, г/л: триптон-10; дрожжевой экстракт-10, лактоза-5; сахароза-5; кальция карбонат-3; калия гидрофосфат-0,5; вода дистиллированная-до 1,0 л.

- мясо-пептонный бульон, состава, г/л: мясной пептон-5,0; пептон – 5,0; хлорид натрия – 5,0; глюкоза – 7,0; дис.вода – до 1 л.

- *Lactobacillus* MRS Broth фирмы Himedia, способ приготовления: 55,15 г порошка размешать в 1 л дистиллированной воды, подогреть для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121 °С) в течение 15 мин.

Микроскопирование проводили на микроскопе бинокулярного типа с фазовым контрастом Olympus CX21.

Окраску по Грамму проводили по методике [9, 176 стр.].

Идентификацию штамма по физиолого-биохимическим свойствам проводили по методике, приведенной в ABIS Encyclopedia [10].

Полученные экспериментальные данные обрабатывали методом параметрической статистики с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2010. В таблицах и на графиках представлены средние значения из всех опытов с их стандартными ошибками.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Реактивацию культуры *Lactobacillus bulgaricus* C-2 проводили на питательной среде МПБ в течение 2 часов при температуре 37-40 °С, затем методом истощающего посева засеяли на скошенные косяки на среду *Lactobacillus* MRS agar.

Штамм *Lactobacillus bulgaricus* C-2 образовал обильный рост на среде MRS агар, колонии шероховатые и не пигментированные, становятся гладкими и компактными в присутствии Tween 80 или олеата натрия, поверхностный рост значительно усиливается при пониженном напряжении кислорода или при анаэробнозе.

При микроскопировании окрашенного мазка культуры – неподвижные, неспорообразующие, грамположительные палочки с закругленными концами размером $0,5-0,8 \times 2,0-9,0$ мкм, встречающиеся поодиночке и в коротких цепочках; внутренняя грануляция видна при окрашивании метиленовым синим.

Также идентификация штамма была осуществлена методом определения прямой нуклеотидной последовательности фрагмента 16SrRNA гена, с последующим определением нуклеотидной идентичности с последовательностями, депонированными в международной базе данных GeneBank. Для этого брали единичные колонии 24 часовых культур третьей генерации, выращенных на поверхности MRS агар в анаэробных условиях. Генетическая идентификация штамма подтверждена с помощью анализа 16SpPHK с чистотой 99,7%.

Далее для получения посевного материала культуру из среды MRS агар методом смыва со скошенного агара засеяли в среду MRS Broth в соотношении 1 пробирка на 100 мл среды. Культивирование проводили в течение 24 ч при температуре 37-40 °С, титр жизнеспособности клеток при таких условиях составил $(4 \pm 1) \times 10^8$ КОЕ/мл.

Для выбора производственной среды глубинное культивирование обрабатывали на ферментере объемом 10 л. Исследование проводили на 2-х питательных средах на

Таблица 1 - Результаты культивирования *Lactobacillus bulgaricus* C-2 на различных питательных средах

Время, ч	Опытная для ЛБ	Опытная для ЛБ №1
	КОЕ/мл	
0	$(2 \pm 0,1) \times 10^7$	
6	$(0,6 \pm 0,2) \times 10^8$	$(0,5 \pm 0,2) \times 10^8$
12	$(1,3 \pm 0,6) \times 10^8$	$(1,0 \pm 0,1) \times 10^8$
18	$(3,3 \pm 0,6) \times 10^8$	$(1,7 \pm 0,6) \times 10^8$
24	$(6,0 \pm 1,0) \times 10^8$	$(2,3 \pm 0,6) \times 10^8$
30	$(2,0 \pm 1,0) \times 10^8$	$(1,3 \pm 0,6) \times 10^8$
36	$(0,7 \pm 0,2) \times 10^8$	$(0,6 \pm 0,2) \times 10^8$
Все результаты получены не менее чем в трех повторностях, n=3		

гидролизате молока (Опытная для ЛБ) и среда для лактобактерий (Опытная №1 для ЛБ). Посевной материал, выращенный на питательной среде MRS Broth, вносили в количестве 5%. Соблюдали одинаковые условия культивирования: без аэрации, температура 37-40 °С. Процесс ферментации контролировали через каждые 6 часов, методом отбора проб на микроскопию и постановку на титр жизнеспособности клеток. В таблице 1 приведены данные по титру жизнеспособности клеток.

Из данных таблицы видно, что начальный титр после добавления посевного материала составил $(2 \pm 0,1) \times 10^7$ КОЕ/мл. В 24 час роста клетки *Lactobacillus bulgaricus* C-2 достигли максимального титра жизнеспособности микроорганизмов, на опытной среде для ЛБ титр составил $(6,0 \pm 1,0) \times 10^8$ КОЕ/мл и на опытной среде №1 для ЛБ составил $(2,3 \pm 0,6) \times 10^8$ КОЕ/мл. Дальнейшее культивирование после 24 часов приводит к понижению титра жизнеспособности клеток. На рисунке 1 прослеживается динамика роста *Lactobacillus bulgaricus* C-2.

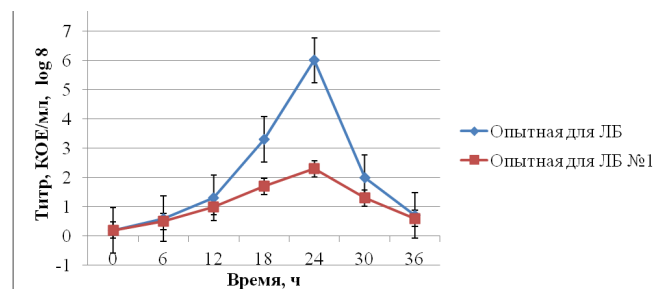


Рисунок 1 – Динамика роста *Lactobacillus bulgaricus* C-2 на различных питательных средах

По данным графика видно, что максимальный титр жизнеспособности клеток показал при культивировании на опытной среде для ЛБ в течение 24 часов. На питательной среде опытная №1 для ЛБ максимальный титр роста лактобактерий был получен при 24 часах роста, но почти в 2 раза меньше, чем в среде сравнения. Таким образом, гидролизованное молоко в опытной среде влияет в наилучшую сторону на титр жизнеспособности лактобактерий, что доказывает его применение при масштабном производстве для ферментации.

Далее после наращивания биомассы *Lactobacillus bulgaricus* C-2 объемом 60 л в ферментере Electrolux 130, культуральную жидкость концентрировали на центробежной центрифуге DL6MC при 4000 об/мин, в течение 20 минут при температуре +4°С. В полученную пасту 1 кг добавили криопротекторы (раствор 44 % сахарозы-10%, 8% желатоза- 1,5%, глицерин – 1%). Жидкообразную пасту разлили в металлические лотки для лиофильной сушки. Заморозку проводили при -70°С с предварительным охлаждением в холодильной установке при температуре +4°С. Сублимационную сушку проводили на установке LZ-45 в течение 48 часов до полного получения

сухой формы лактобактерий. В таблице 2 приведены данные по выходу биомассы и жизнеспособности клеток после каждого технологического процесса.

В результате проведения производственной наработки биомассы *Lactobacillus bulgaricus* C-2 получен 0,232 кг высушенной биомассы в сухой форме с титром жизнеспособности клеток $(1,3 \pm 0,6) \times 10^{10}$ КОЕ/г. Полученная биомасса штамма *Lactobacillus bulgaricus* C-2 в порошкообразном виде с максимальным выходом клеток микроорганизма является перспективным для введения в состав заквасок для молочной промышленности и в биологически активные добавки с пробиотическим эффектом действия.

Таким образом, нами подобраны условия культивирования, производственная питательная среда, подобраны оптимальные условия концентрирования и сублимационной сушки. Также подобраны оптимальные криопротекторы для сохранения жизнеспособности клеток при лиофильной сушке. В результате проведенных исследований отработана технология получения экологически чистого и генетически не модифицированного штамма *Lactobacillus bulgaricus* C-2 в порошкообразном виде с максимальным выходом клеток микроорганизма. Полученный в таком виде штамм, выделенный из кумыса, будет являться национальным продуктом Казахстана, способным стать брендом Республики на мировом уровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D., Yamada T., Mende D.R., Fernandes G.R., Tap J., Bruls T., Batto J.M. Enterotypes of the human gut microbiome // Nature. – 2011. – Vol. 473. - P.174-180.
2. Batista A.L.D., Silva R., Cappato L.P, Almada C.N., Garcia R.K.A., Silva M.C., Raices R.S.L., Arellano D.B., Sant’ Ana A.S., Junior C.A.C., Freitas M.Q., Cruz A.G. Quality parameters of probiotic yogurt added to glucose oxidase compared to commercial products through microbiological, physical-chemical and metabolic activity analyses // Food Research International. – 2015. – Vol. 77. - P. 627–635.
3. Cruz A.G., Castro W.F., Faria J.A.F., Bolini H.M.A., Celeghini R.M.S., Raices R.S.L., Oliveira C.A.F., Freitas M.Q., Conte Júnior C.A., Mársico E.T. Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage // Food Research International. – 2013. – Vol. 51. - P. 723–728.
4. Cruz A.G., Castro W.F., Faria J.A.F., Lollo P.C.B., Amaya Farfán J., Freitas M.Q., Rodrigues D., Oliveira C.A.F., Godoy H.T. Probiotic yogurts manufactured with increased glucose oxidase levels: Postacidification, proteolytic patterns, survival of probiotic microorganisms, production // Journal of Dairy Science. - 2012. - Vol. 95. - P. 2261–2269.

Таблица 2 – Результаты технологического процесса

№	Наименование технологического процесса	Масса	Титр жизнеспособности клеток
1	Посевной материал	3 л	$(4 \pm 1) \times 10^8$ КОЕ/мл
2	Ферментация	60 л	$(6,0 \pm 1,0) \times 10^8$ КОЕ/мл
3	Концентрирование	1 кг	$(2,7 \pm 0,6) \times 10^9$ КОЕ/г
4	Сублимационная сушка	0,232 кг	$(1,3 \pm 0,6) \times 10^{10}$ КОЕ/г

5. Wright C.T., Klaenhammer T.H. Survival of *Lactobacillus bulgaricus* during freezing and freeze-drying after growth in the presence of calcium // Journal Food Science. – 1883. – Vol. 48. – P. 773–777.

6. Wright C.T., Klaenhammer T.H. Influence of calcium and manganese on dechaining of *Lactobacillus bulgaricus* // Applied Environment Microbiology. - 1983. – Vol. 46. - P. 785–792.

7. Santos M. I., Gerbino E., Araujo-Andrade C., Tymczyszyn E.E., Gómez-Zavaglia A. Stability of freeze-dried *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* in the presence of galacto-oligosaccharides and lactulose as determined by near infrared spectroscopy // Food Research International. – 2014. - Vol. 59. - P. 53–60.

8. Meneghel J., Passot S., Dupont S., Fonseca F. Biophysical characterization of the *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* membrane during cold and osmotic stress and its relevance for cryopreservation // Applied Microbiology Biotechnology. – 2017. – Vol. 101. - P. 1427–1441.

9. Нетрусов, А.И., Егоров, М.А., Захарчук, Л.М. Практикум по микробиологии: учеб. для вузов. – М.: Академия, 2005. - 608 с.

10. Sorescu I, Stoica C. Online Advanced Bacterial Identification Software, an Original Tool for Phenotypic Bacterial Identification // Rom Biotechnology Letters. – 2021. – Vol. 26. - P. 3047-3053.

REFERENCES

1. Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D., Yamada T., Mende D.R., Fernandes G.R., Tap J., Bruls T., Batto J.M. Enterotypes of the human gut microbiome // Nature. – 2011. – Vol. 473. - P.174-180.

2. Batista A.L.D., Silva R., Cappato L.P, Almada C.N., Garcia R.K.A., Silva M.C., Raices R.S.L., Arellano D.B., Sant’Ana A.S., Junior C.A.C., Freitas M.Q., Cruz A.G. Quality parameters of probiotic yogurt added to glucose oxidase compared to commercial products through microbiological, physical-chemical and metabolic activity analyses // Food Research International. – 2015. – Vol. 77. - P. 627–635

3. Cruz A.G., Castro W.F., Faria J.A.F., Bolini H.M.A., Celeghini R.M.S., Raices R.S.L., Oliveira C.A.F., Freitas M.Q., Conte Júnior C.A., Mársico E.T. Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage // Food Research International. – 2013. – Vol. 51. - P. 723–728.

4. Cruz A.G., Castro W.F., Faria J.A.F., Lollo P.C.B., Amaya Farfán J., Freitas M.Q., Rodrigues D., Oliveira C.A.F., Godoy H.T. Probiotic yogurts manufactured with increased glucose oxidase levels: Postacidification, proteolytic patterns, survival of probiotic microorganisms, production // Journal of Dairy Science. - 2012. - Vol. 95. - P. 2261–2269.

5. Wright C.T., Klaenhammer T.H. Survival of *Lactobacillus bulgaricus* during freezing and freeze-drying after growth in the presence of calcium // Journal Food Science. – 1883. – Vol. 48. – P. 773–777.

6. Wright C.T., Klaenhammer T.H. Influence of calcium and manganese on dechaining of *Lactobacillus bulgaricus* // Applied Environment Microbiology. - 1983. – Vol. 46. - P. 785–792.

7. Santos M. I., Gerbino E., Araujo-Andrade C., Tymczyszyn E.E., Gómez-Zavaglia A. Stability of freeze-dried *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* in the presence of galacto-oligosaccharides and lactulose as determined by near infrared spectroscopy // Food Research International. – 2014. - Vol. 59. - P. 53–60.

8. Meneghel J., Passot S., Dupont S., Fonseca F. Biophysical characterization of the *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* membrane during cold and osmotic stress and its relevance for cryopreservation // Applied Microbiology Biotechnology. – 2017. – Vol. 101. - P. 1427–1441.

9. Netrusov A.I. Egorov M.A. Zaharchuk L.M. Praktikum po mikrobiologii [Workshop on microbiology] (textbook. for universities., 2005, 608 p.). [Нетрусов А.И., Егоров М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии : учеб. для вузов. – М.: Академия, 2005. -608 с.]

10. Sorescu I, Stoica C. Online Advanced Bacterial Identification Software, an Original Tool for Phenotypic Bacterial Identification // Rom Biotechnology Letters. – 2021. – Vol. 26. - P. 3047-3053.

DEVELOPMENT OF A TECHNOLOGY FOR OBTAINING A PROBIOTIC STRAIN *LACTOBACILLUS BULGARICUS* C-2, PROMISING FOR THE PRODUCTION OF STARTER CULTURES AND BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVES

Khassenova A.E.^{1,2}, Shybayeva A.K.¹, Alzhanova G.S.², Imamuratova N.I.¹,

Tulegenova B.S.^{1,2}

¹BioMilk Product LLP, Stepnogorsk, 021500 Republic of Kazakhstan

²RSE on REM Branch «National Center for Biotechnology» in Stepnogorsk, Stepnogorsk, 021500, Republic of Kazakhstan

ABSTRACT

Lactic acid probiotic bacteria can be widely used for the prevention and treatment of patients with various diseases, such as acute and chronic diseases of the gastrointestinal tract, respiratory tract, to restore intestinal microbiocenosis, in combination with antibiotic therapy. The form of intake of these microorganisms is diverse: fermented milk products, drugs, dietary supplements.

In the production of lactic acid starters, including the probiotic strain *Lactobacillus bulgaricus*, there are problems in the selection of nutrient media and conditions for deep cultivation, the selection of methods and conditions for concentration, and the selection of cryoprotectants for freeze drying.

This article presents all the data for the production of the *Lactobacillus bulgaricus* C-2 strain in powder form with the maximum yield of microorganism cells, promising for introduction into the composition of starter cultures for the dairy industry and into biologically active additives with a probiotic effect. The *Lactobacillus bulgaricus* C-2 strain was isolated from koumiss and stored in the collection of the branch of the Republican State Enterprise on the REM of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan «National Center for Biotechnology» in Stepnogorsk. The production nutrient medium, conditions for deep cultivation, methods and conditions of concentration were selected, optimal cryoprotectants for freeze-drying were selected.

Key words: *Lactobacillus bulgaricus*, nutrient medium, cultivation, concentration, sublimation, cryoprotectants.

ҰЙЫТҚЫ ДАҚЫЛДАРЫ МЕН БИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІ ҚОСПАЛАРДЫ ӨНДІРУ ҮШІН ПЕРСПЕКТИВТІ *LACTOBACILLUS BULGARICUS* C-2 ПРОБИОТИКТИК ШТАММЫН АЛУ ТЕХНОЛОГИЯСЫН ӘЗІРЛЕУ

Хасенова А.Е.^{1,2}, Шибаетова А.К.¹, Альжанова Г.С.², Имамұратова Н.И.¹, Түлегенова Б.С.^{1,2}

¹Қазақстан Республикасы, Степногорск қ., «BioMilk Product» ЖШС, 021500

²Қазақстан Республикасы, Степногорск қ. «Ұлттық биотехнология орталығы» ШЖҚ РМК, 021500

ТҮЙІН

Сүт қышқылды пробиотикалық бактерияларды әртүрлі аурулардың алдын алу мақсатында, мысалы, асқазан-ішек жолдарының, тыныс алу жолдарының жедел және созылмалы ауруларымен ауыратын науқастарды емдеу және ішек микробиоценозын қалпына келтіру үшін антибиотикалық терапиямен бірге кеңінен қолдануға болады. Бұл микроорганизмдерді қабылдау формасы әртүрлі болып табылады олар: ашытылған сүт өнімдері, препараттар, тағамдық биологиялық қоспалар.

Сүт қышқылды, соның ішінде *Lactobacillus bulgaricus* пробиотикалық штаммы өндірісінде қоректік орталарды терең өсіру шарттарын таңдауда, концентрациялау әдістері мен шарттарын таңдауда, мұздатып кептіру үшін криопротекторларды таңдауда мәселелер бар. Бұл мақалада сүт өнеркәсібі үшін өсінділер құрамы және пробиотикалық әсері бар биологиялық белсенді қоспаларға енгізуге болатын перспективалы микроорганизм жасушаларының максималды шығымдылығымен, ұнтақ түріндегі *Lactobacillus bulgaricus* C-2 штаммын өндіру бойынша барлық деректер берілген.

Қымыздан *Lactobacillus bulgaricus* C-2 штаммы бөлініп алынып, Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігі ШЖҚ «Ұлттық биотехнология орталығы» республикалық мемлекеттік кәсіпорны Степногорск қаласындағы филиалының коллекциясында орналасты. Өндірістік қоректік орта, тереңдете өсіру жағдайлары, концентрациялау әдістері мен шарттары әзірленіп, мұздатып кептіру үшін оңтайлы криопротекторлар таңдалды.

Негізгі сөздер: *Lactobacillus bulgaricus*, қоректік орта, өсіру, концентрация, сублимация, криопротекторлар.