

FTAMP: 34.27.17

Г.Т. ДЖАКИБАЕВА^{1*}, А.И. БАЙДАЛИНОВ¹, О.Н. ШЕМШУРА¹,
Э.О. ИЗМАЙЛОВА², Г.Б. БАЙМАХАНОВА¹

¹Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан

²Химия және фитотехнология институты, Бишкек, Қырғызстан

*e-mail: j.gulnar60@mail.ru

КОНСОРЦИУМҒА КІРЕТІН КОЛЛЕКЦИЯЛЫҚ СҮТ ҚЫШҚЫЛЫ БАКТЕРИЯЛАРЫНЫҢ ЖӘНЕ ЛАКТОЗАНЫ АШЫТАТЫН АШЫТҚЫЛАР МЕН СҮТ ҚЫШҚЫЛЫ БАКТЕРИЯЛАРЫНЫҢ БЕЛСЕНДІЛІГІ

doi:10.53729/MV-AS.2022.04.09

Түйін

Мақалада консорциумға кіретін сүт қышқылы бактериялары мен лактозаны ашытатын ашытқылардың, микробиология және вирусология ҒӨО-ның микроорганизмдер коллекциясында сақтаудағы, сондай-ақ минералды майда сақталған сүт қышқылы бактерияларының тіршілікке қабылеттілігі мен қышқыл түзетін белсенділігі туралы эксперименттік мәліметтер келтірілген. Алынған мәліметтер сүт қышқылы бактерияларының коллекциялық штамдарымен салыстырғанда консорциумға кіретін сүт қышқылы бактериялары мен лактозаны ашытатын ашытқылардың қышқыл түзу қабілетінің жақсы екенін көрсетеді.

Кілтті сөздер: қышқыл түзетін белсенділік, сүт қышқылы бактериялары, лактозаны ашытатын ашытқы, тішілікке қабылеттілік, популяцияның өзгергіштігі.

Сүт қышқылы тамақ өнеркәсібінде; сусындар, мармелад, консервілеу үрдістерінде кеңінен қолданылады [1]. Ол, сондай-ақ азық даярлау өндірісінде және ауыр өнеркәсіпте қолданылады. Сүт қышқылы жақсы полимерленеді. Оған деген сұраныс; одан биологиялық ыдырайтын полимерлер, оттегімен қаныққан заттар, өсімдіктердің өсуін реттегіштер және арнайы мақсаттағы химиялық өнімдер алу үшін шикізат ретінде пайдалану мүмкіндігіне байланысты өсті [2]. Сүт қышқылының микробиологиялық синтезі химиялыққа қарағанда әлдеқайда тиімді [3-6]. Пробиотиктердің құрамын кіретін сүт қышқылын өндірушілер - гомоферментативті сүт қышқылы бактериялары адамдар мен жас төлдерді емдеу үшін қолданылады [7,8].

Сүт қышқылын өндіруді оңтайландыру жұмыстарының маңызды бағыты - сүт қышқылын ашытатын өндірушілердің биологиялық қасиеттерін зерттеу, белсенді гомоферментативті сүт қышқылы бактерияларын таңдау, биосинтез үрдісін басқарудың параметрлерін оңтайландыру. Зерттеу мен қолдану да маңызды микроорганизмдердің таңдап алынған дақылдарының өсуіне және қышқыл түзілу үрдісінің тиімділігіне оңтайлы жағдайларды пайдалану [9]. Азот пен көміртегі көздері, рН, температура, культура титрі - сүт қышқылын өндірушіге және оның өнімділігіне әсер ететін өсіру әдісі сияқты факторлар арқылы анықталады [10].

Л.А. Банникова өз жұмысында атап өткендей, сүт қышқылы бактерияларының жекелеген штамдарының қасиеттері, сондай - ақ олардың комбинациясы бірқатар көрсеткіштер бойынша бағаланады, олар ең алдымен мыналарды қамтиды: қышқыл түзуші белсенділік - сүт қышқылының белгілі бір изомерін қалыптастыру үшін лактозаның бөліну жылдамдығы мен тереңдігі [11, 12]. С. Штеффен және басқалар сүт қышқылы бактерияларының әртүрлі штамдары түзетін сүт қышқылының конфигурациясына әртүрлі факторлардың әсерін зерттеді. Белгілі болғандай, уақыттың өзгеруі, инкубация температурасы, рН және қоректік орта құрамы, сүт қышқылының конфигурациясына айтарлықтай әсер еткен жоқ. Зерттелген лактококк штамдарының көпшілігі Р-лактат, *L. bulgaricus* және *L. lactis* штамдары - тек R-лактат, ал *L. helveticus* және *L. acidophilus* - екеуі де бірдей мөлшерде изомерлер шығарады [13]. Түзілген сүт қышқылының формасы

лактобактериялардың белгілі бір түріне тән [14]. Сүт қышқылы бактерияларының қышқыл түзетін белсенділігі олардың сүттегі өсу қарқыны мен ферментативті белсенділігіне байланысты. Сүтте өсу қарқыны төмен және тиісінше әлсіз қышқыл түзетін қабілеті бар лактобактериялардың жекелеген түрлеріне қосымша өсу факторлары қажет (ашытқы автолизаты, жүгері сығындысы және т.б.) [15, 16]. Қышқыл түзілу белсенділігі құрамында лактоза бар пробиотиктердің ерекше белсенділігінің нормаланатын көрсеткіші және тиісінше жаңа бактериялық препараттарды әзірлеу кезінде лактобактерия штамдарын іріктеу критерийі болып табылады [17].

Материалдар мен әдістер

Жұмыста Алматы облысы Қаскелең ауданында— сүттен бөліп алынған сүт қышқылы микроорганизмдері (*Lactococcus lactis* K-1, *Lactobacterium bulgaricus* K-3, *Streptococcus thermophilus* K-2, *Streptococcus lactis* 6, *Lactococcus lactis* 8) және лактозаны ашытатын ашытқылар (*Saccharomyces lactis* 19 және *Saccharomyces lactis* 14с) пайдаланылды.

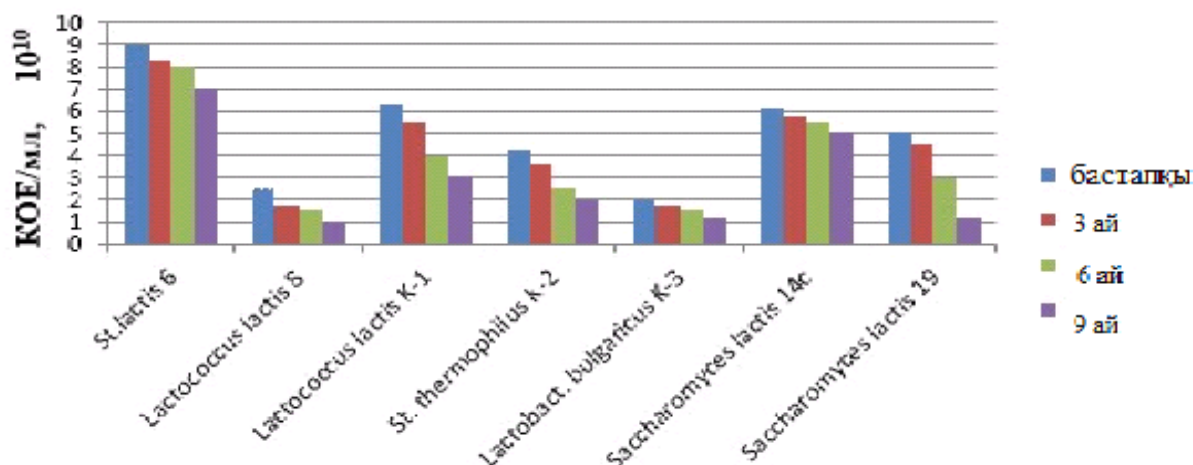
Сүт қышқылы микроорганизмдерін өсіру үшін MRS ортасы пайдаланылды [18]. Ортадағы көміртегі көзі — глюкоза, азот көзі — ашытқы сығындысы болды. Тіршілікке қабілетті жасушалардың саны (КОЕ/мл немесе титр) сынаманы 10 рет сұйылту және MRS және Сабуро агар қосылған ортасына себу әдісімен анықталды [19, 20].

Қышқыл түзілу энергиясын анықтау. 10 мл стерильді майы алынған сүттен тұратын түтікке зерттелетін штаммның 1 ілмегі енгізіліп, оңтайлы температурада (30-37°C) 16 сағат ішінде термостатта өсіріп (қышқыл түзілу энергиясын анықтаған кезде), содан кейін титрленетін қышқылдық анықталды [21].

Титрленетін қышқылдықты анықтау. 10 мл сынамаға 20 мл дистилденген H₂O және 2 тамшы 1% фенолфталеин қосылды. Содан кейін сынамалар 0,1 NaOH сәл қызғылт бояу пайда болғанға дейін титрленді. Титрлеуге жіберілген және 10-ға көбейтілген NaOH көлемі (мл) Тернер градусымен (°T) көрсетілген титрленетін қышқылдықтың көрсеткіші болды [22].

Нәтижелер және талқылау

Әр түрлі сақтау мерзімінен кейін сүт қышқылы бактерияларының және лактозаны ыдырататын ашытқылардың тіршілікке қабылеттілігі 10^7 - 10^9 ерітіндісінен 3 дана Петри табақшаларындағы (орташа есеппен) MRS және Сабуро агар қосылған ортасында өсіріп есептелінді, инкубациядан кейінгі колонияларды санау кезінде $30 \pm 1^\circ\text{C}$ және $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 48 сағат ішінде өсірілген, микроорганизмдердің тіршілік ету пайызы, минералды май қабаты астында сақтағаннан кейін колония құраушы бірліктер (КҚБ) санының орташа мәні логарифмге қатысты табылды. Деректер Стьюденттің 1 критерийі бойынша өңделді (қателер келтірілмеген, өйткені тұжырымдар айқын айырмашылықтарға негізделген).



Сурет 1- Минералды май қабаты астында сақталғаннан кейін консорциумға кіретін сүт қышқылы микроорганизмдерін және лактозаға ашытқыларды бөлек өсіру кезіндегі жасушалар санының өзгеруінің салыстырмалы диаграммасы

Минералды май қабаты астында сақтауға салынған АХЖ және лактозаны ашытатын ашытқылардың тіршілікке қабылеттілігі 9 айдан кейін 10-23% - ке дейін төмендегені анықталды. (1-сурет). Сонымен, *Lactococcus lactis 8* және *Lactobacterium bulgaricus K-3* екі штаммының тіршілік ету деңгейі, минералды май қабатының астында сақтау мерзімінің соңында 42–53,5% дейін төмендеді. *Streptococcus lactis 6* штаммы ең тұрақты болып шықты, оның максималды тіршілік ету деңгейі 9 ай сақтағаннан кейін 81,9% құрады.

Лактобактериялармен органикалық қышқылдардың (сүт қышқылын) түзілуі шартты-патогенді микроорганизмдерге қатысты антагонистік белсенділік тетіктерінің бірі болып саналады. Осыған байланысты қышқыл түзілу динамикасын зерттеу лактобактериялардың биологиялық қасиеттерін сипаттауда маңызды кезең ретінде қарастырылады. Біз стерильденген майы алынған сүтте лактобактерияларды өсіру кезінде титрленетін қышқылдықтың өзгеру динамикасын анықтадық.

Кесте 1 - Ұю ұзақтығына байланысты минералды май қабаты астында сақтағаннан кейін консорциумға кіретін сүт қышқылы бактерияларының және лактоза ашытатын ашытқылардың қышқыл түзуші белсенділігі

Сүт қышқылы бактерияларының және лактозаны ашытатын ашытқылардың штамдары	Ұйыту ұзақтығы 3% ұйытқыны енгізу кезінде, сағат	Титрленетін қышқылдық, °Т			
		Бастапқы	3 ай	6 ай	9 ай
1	2	3	4	5	6
<i>Streptococcus lactis 6</i>	16	75	70	65	55
<i>Lactococcus lactis 8</i>	16	97	85	60	52
<i>Lactococcus lactis K-1</i>	16	80	70	60	55
<i>Streptococcus thermophilus K-2</i>	16	100	85	75	63
<i>Lactobacterium bulgaricus K-3</i>	16	95	80	75	65
<i>Saccharomyces lactis 14c</i>	16	200	195	180	170
<i>Saccharomyces lactis 19</i>	16	210	200	190	180

Ең белсенді қышқыл өнімдері лактозаны ашытатын ашытқылардың штамдары екендігі анықталды. *Saccharomyces lactis 14c* -200°Т және *Saccharomyces lactis 19*- 210°Т, орташа қышқыл түзушілер сүт қышқылы бактерияларының штамдары болды; *Lactococcus lactis 8* - 97°Т, *Streptococcus thermophilus K-2* - 100°Т, *Lactobacterium bulgaricus K-3* – 95 °Т, әлсіз қышқыл түзгіш *Streptococcus lactis 6* - 75°Т, *Lactococcus lactis K-1* -80°Т минералды май қабатының астында сақтау процесінде сүт қышқылы бактериялары және лактоза

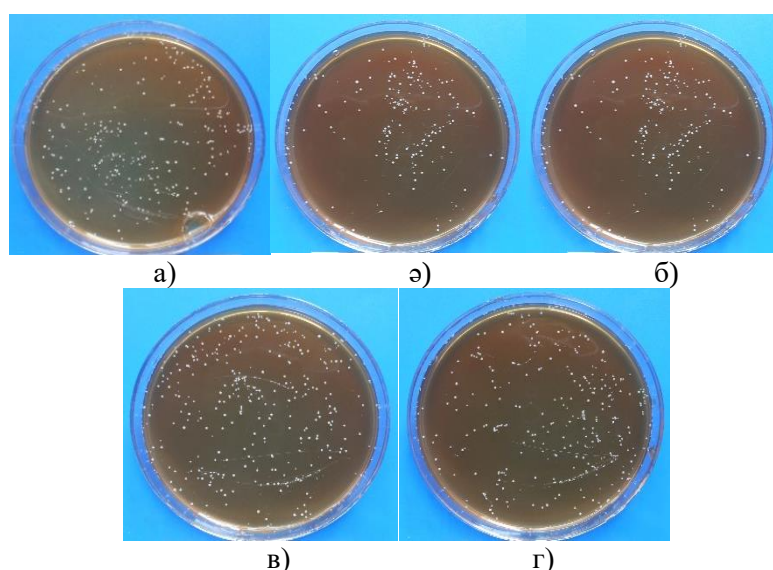
ашытатын ашытқылардың қышқыл түзуші белсенділігінің өзгеруіне қатысты (1-кесте) 9 ай ішінде бұл көрсеткіш 5-18% - ден аспайтындай мөлшерде төмендегені анықталды. Ерекшелік *Lactococcus lactis* 8 штаммында болды, оның белсенділігі 45%-ке төмендеді.

Ең белсенді қышқылдандырғыштар; *Lactobacillus casei* 139 - 60°Т, *Lactobacillus plantarum* 53h - 55°Т және *Lactobacillus salivarius* 8g - 50°Т, *Lactobacillus curvatus* 18g- 45°Т және *Lactobacillus acidophilus* 27w - 42°Т, әлсіз қышқыл түзушілер - *Lactobacillus curvatus* 18g-45°Т және *Lactobacillus acidophilus* 27w-42°Т, әлсіз қышқыл түзгіштер *Lactobacillus plantarum* 2 - 22°Т және *Lactobacillus cellobiosus* 20-20°Т болды (2-кесте).

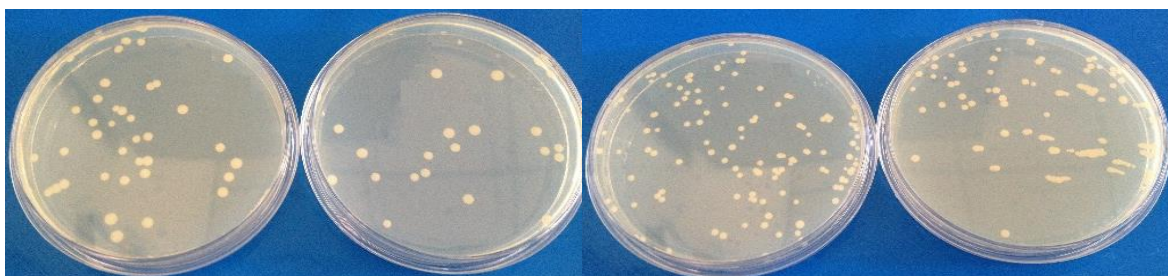
Кесте 2-Коллекциялық сүт қышқылы бактерияларының қышқыл түзуші белсенділігі

Сүт қышқылды бактериялардың коллекциялық штаммдары	Ұйыту ұзақтығы 3% ұйытқыны енгізу кезінде, сағат	Қышқылдың түзілуі, бастап	Өсу температурасы, °С
1	2	3	4
<i>Lactobacillus plantarum</i> 2	16	22	35
<i>Lactobacillus plantarum</i> 22	16	35	35
<i>Lactobacillus plantarum</i> 53H	16	55	35
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 27W	16	42	35
<i>Lactobacillus curvatus</i> 18g	16	45	35
<i>Lactobacillus casei</i> 139	16	60	35
<i>Lactobacillus casei</i> 173a	16	30	35
<i>Lactobacillus salivarius</i> 8g	16	50	35
<i>Lactobacillus fermentum</i> 27	16	35	35
<i>Lactobacillus cellobiosus</i> 20	16	20	35

№1 консорциумның (*Lactococcus lactis* K-1, *Streptococcus thermophilus* K-2, *Lactobacterium bulgaricus* K-3 және лактоза ашытқысы *Saccharomyces lactis* 19) және консорциум №6, *Streptococcus* (*Streptococcus* №2) популяциясының өзгергіштігіне зерттеу жүргізілді. *Lactococcus lactis* 8, *Saccharomyces lactis* 14c), сүт қышқылы бактерияларының штаммдары гетерогенділігін көрсетті. Тығыз қоректік ортаның бетінде сүт қышқылы бактерияларының диаметрі 2-4 мкм шамасында, дөңес, дөңгелек, шеті тегіс, ақ түсті колониялар түзілетіні 2-суретте көрсетілген.

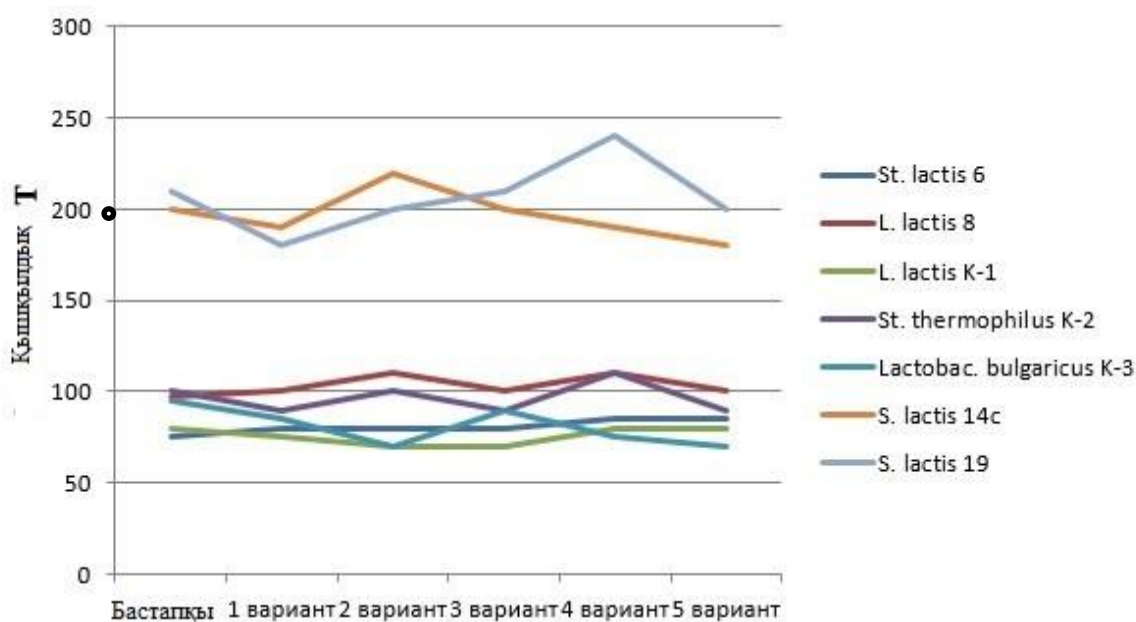


Сурет 2 - Сүт қышқылды бактерияларының популяциялық өзгергіштігі
Ескерту: а) *Lactococcus lactis* K-1, ә) *Streptococcus thermophilus* K-2, б) *Lactobacterium bulgaricus* K-3, в) *Streptococcus lactis* 6, г) *Lactococcus lactis* 8



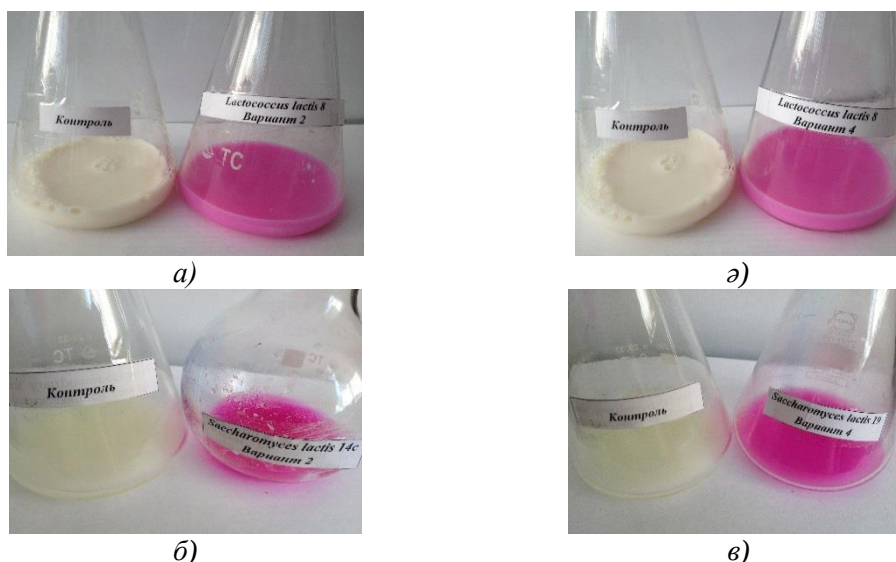
Сурет 3 - лактоферментациялаушы ашытқылардың морфологиясы көрсетілген. Тығыз қоректік ортаның бетінде лактозаны ашытатын ашытқылар диаметрі 6-8 мкм шамасында дөңес, дөңгелек, шеті тегіс, ақ түсті колониялар түзеді

Сүт қышқылының ең перспективалы штамм-продуцентін таңдау үшін сүт қышқылы бактерияларының 5 культурасының және лактозаны ашытатын ашытқылардың 2 культурасының қышқыл түзу қабілеті зерттелді. Сүт қышқылы бактериялар колониясының және лактозаны ашытатын ашытқылардың 5 нұсқасы таңдалды.



Сурет 4 - Консорциумға кіретін сүтқышқылы бактериялар мен лактозаны ашытатын ашытқылардың тандап алынған нұсқаларында қышқылдықтың өзгеру динамикасын анықтау

Сүт қышқылы бактериялардың *Lactococcus lactis* 8 және *Streptococcus thermophilus* K-2 штамдарының тандап алынған 5 нұсқасының ішінде ең белсенді болып №2 және №4 нұсқалары табылады. *Streptococcus lactis* 6, *Lactococcus lactis* K-1 штамдарында орташа қышқыл түзетін №4 және №5 нұсқалары және *Lactobacterium bulgaricus* K-3 штаммындағы №1 және №3 нұсқалары анықталды. Белсенді қышқыл түзу қабілеті лактозаны ашытатын *Saccharomyces lactis* 14c және *Saccharomyces lactis* 19 ашытқыларында №2 және №4 нұсқаларында көрінді (сурет- 4).



Ескерту: а) *Lactococcus lactis* 8 №2 нұсқасы; ә) № 4 нұсқа *Lactococcus lactis* 8; б) №2 нұсқа *Saccharomyces lactis* 14 с; в) *Saccharomyces lactis* 19-ның №4 нұсқасы

Сурет 5 - Консорциумға кіретін сүт қышқылы бактериялар мен лактозаны ашытатын ашытқы штамдарының таңдап алынған нұсқаларындағы титрленетін қышқылдық көрсеткіштері

Консорциумға кіретін сүт қышқылы бактерияларының штамдарының нұсқаларында титрленетін қышқылдығы 70-85°Т аралығында болады, бұл - орташа белсенділік болып саналады, ал оның параметрлері 90 °Т бастап 110°Т- дейін жоғары болды. Айта кету керек, *Saccharomyces lactis* 19 штаммы 200-240°Т титрленетін қышқылдықты құрайтын таңдап алынған №4 нұсқада, салыстырмалы түрде жоғары қышқыл түзу белсенділігін көрсетті. Титрленетін қышқылдығы 20-60°Т аралығында болатын коллекциялық сүт қышқылы бактериялары белсенді емес болып саналады.

Нәтижелерді қорытындылай келе, таңдап алынған бес культура нұсқаларының ішінде *Lactococcus lactis* 8 және *Streptococcus thermophilus* К-2 сүт қышқылының перспективалы өндірушілері болып табылады деген қорытынды жасауға болады. Олар басқа зерттелген штамдармен салыстырғанда жоғары қышқыл түзу белсенділігін көрсетті. Консорциумға кіретін сүтқышқылы бактериялары мен лактозаны ашытатын ашытқылар штамдарының нұсқаларын іріктеу - ұю ұзақтығы және қышқыл түзу белсенділігі сияқты параметрлер бойынша жүргізілді және болашақта оларды пробиотиктер ретінде пайдалануға болады.

Эксперименттік жұмыстар нәтижесінде алынған мәліметтер сүт қышқылы бактерияларының коллекциялық штамдарымен салыстырғанда консорциумға кіретін сүт қышқылы бактериялары мен лактозаны ашытатын ашытқылардың жақсы қышқыл түзетін қабілетін көрсетеді.

Әдебиеттер:

- 1 Гриднева Е.Е., Калиакпарова Г.Ш., Падалко И.У. Проблемы и перспективы развития рынка хлеба и хлебобулочных изделий в Республике Казахстан // *Проблемы агрорынка*, 2018, №1, 112-119.
- 2 Datta R. et al. Technological and economic potential of poly (lactic acid) and lactic acid derivative// *FEMS Microbiology Reviews*.1995. Vol.16.221-231.
- 3 Тренина М.А., Лысенко А.М., Ахвередян В.З., Мchedlishvili Е.Б. Изучение видовой вариабельности бактерий *Lactococcus lactis* по признаку адаптации к высокой кислотности среды.// *Микробиология*. 2006.Т.75.№1.118-126.
- 4 Duwat P., Cesselin B., Souris S., Gruss A. *Lactococcus lactis*, a bacterial model for stress responses and survival// *J.Food Microbiol*.2000. Vol.55.83-86.

5 Sjoberg A., Persson I., Quednau M., Hahn-Hagerdal B. The influence of limited and non-limited growth conditions on glucose and maltose metabolism in *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* strains // *Appl. Microbiol. and Biotechnol.* 1995. Vol. 42. №6. 931-938.

6 Sheh Punia Bangar, Shweta Suri, Monica Trif, Fatih Ozogul. Organic acid production from lactic acid bacteria: A preservation approach. *Food bioscience*, Volume 46, 2022. 101615/doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101615.

7 Ганина В.И. Стабильные закваски - качественные и безопасные молочные продукты // *Молочная промышленность*. 1999. №8. 25-27.

8 Katarzyna Garbacz. Anticancer activity of lactic acid bacteria. *Seminar in Cancer biology available online* 4.2022/doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.12.013.

9 Куксова Е.В. Разработка технологии комплексных пищевых добавок с использованием кислотообразующих бактерий: Автореф.... дис. канд. техн. наук. М. 2008. 27.

10 Warminska-Radyko I., Olszewska M., Miks-Krajnik M. Effect of temperature and sodium chloride on growth and metabolism of *Lactococcus* strains in long-term incubation of milk // *Milchwissenschaft-Milk Science International*. 2010. Vol. 65. 32-35.

11 Банникова Л. А. *Микробиологические основы молочного производства*. Москва, 1975.

12 Банникова Л.А., Королева Н.С., Семенихина В.Ф. М.: Агро-промиздат, 1987. 400.

13 Штеффен С. Конфигурация молочной кислоты, образуемой различными штаммами молочнокислых бактерий, как функция условий культивирования / С. Штеффен, Б. Ник, Б. Х. Блан // *Межд. Конгресс по молочному делу. М., Пищевая промышленность*, 1978. 156-157.

14 Пухан З. Состав молочнокислой флоры и конфигурация молочной кислоты в йогурте / Пухан, О. Флуэлер, М. Банхеджи // 19 Межд. конгресс по молочному делу. М.: *Пищевая пром-сть*, 1978. – 192.

15 Печуркин Н.С. *Популяционная микробиология*. Новосибирск: Наука. 1978.

16 Печуркин Н.С., Брильков А.В., Марченкова Т.В. *Популяционные аспекты биотехнологии*. Новосибирск: Наука (Сиб. отд.). 1991.

17 Лиходед В.Г., Бондаренко В.М. Антиэндоксинный иммунитет в регуляции численности эшерихиозной микрофлоры кишечника. *Медицина*, 2007. 216.

18 Аркадьева З.А. и др. *Промышленная микробиология*. М., 1989. 686.

19 Варфаломеев С.Д. Кинетические закономерности развития микробных популяций / *Современные проблемы биокинетики*. М., 1987. 6-77.

20 Миневич И.Г. Материально-энергетический баланс и кинетика роста микроорганизмов. М., 2005. 353.

21 Проскуряков М.Т. *Биохимия*. Краснодар, 2007. 199.

22 Гуревич Ю.Л. Устойчивость и регуляция в микробных популяциях. Новосибирск, 1984. 98.

Г.Т. ДЖАКИБАЕВА^{1*}, А.И. БАЙДАЛИНОВ¹, О.Н. ШЕМШУРА¹, Э.О. ИЗМАЙЛОВА²,
Г.Б. БАЙМАХАНОВА¹

¹Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, азахстан

²Институт химии и фитотехнологий, Бишкек, Кыргызстан

*e-mail: j.gulnar60@mail.ru

АКТИВНОСТЬ КОЛЛЕКЦИОННЫХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ И ЛАКТОЗОСБРАЖИВАЮЩИХ ДРОЖЖЕЙ И МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ВХОДЯЩИХ В КОНСОРЦИУМ

Аннотация

В статье представлены экспериментальные данные по жизнеспособности и кислотообразующей активности молочнокислых бактерий и лактозосбраживающих дрожжей, входящих в консорциум, а также молочнокислых бактерий, хранящихся в коллекции микроорганизмов НПП микробиологии и вирусологии под минеральном маслом.

Полученные данные свидетельствуют о высокой кислотообразующей способности штаммов молочнокислых бактерий и лактозосбраживающих дрожжей, входящих в консорциум, по сравнению с коллекционными штаммами молочнокислых бактерий.

Ключевые слова: кислотообразующая активность, молочнокислые бактерии, лактозосбраживающие дрожжи, жизнеспособность, популяционная изменчивость.
IRSTI: 34.27.17

G.T. DZHAKIBAYEVA^{1*}, A.I. BAYDALINOV¹, O.N. SHEMSHURA¹, E.O. IZMAILOVA¹, G.B. BAUMAHANOVA¹

¹Research and Production Center of Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan

²Institute of chemistry and phytotechnology, Kirgystan, Bishkek

*e-mail: j.gulnar60@mail.ru

ACTIVITY OF COLLECTION LACTIC ACID BACTERIA AND LACTOSE-FERMENTING YEAST AND LACTIC ACID BACTERIA INCLUDED IN THE CONSORTIUM

doi: 1053729/MV-AS.2022.04.09

Abstract

The article presents experimental data on the viability and acid-forming activity of lactic acid bacteria and lactose-fermenting yeasts included in the consortium, as well as lactic acid bacteria stored in the collection of microorganisms of the NPC of Microbiology and Virology in mineral oil. The data obtained indicate a good acid-forming ability of the strains of lactic acid bacteria and lactose-fermenting yeasts included in the consortium, compared with the collection strains of lactic acid bacteria.

Keywords: acid-forming activity, lactic acid bacteria, lactose-fermenting yeast, viability, population variability.

Lactic acid is widely used in the food industry for the production of beverages, marmalade, in canning processes [1]. It is also used in feed production and in heavy industry. Lactic acid polymerizes well. The demand for it has grown due to the possibility of its use as a feedstock for biodegradable polymers, oxygenated substances, plant growth regulators and special-purpose chemical products [2]. Microbiological synthesis of lactic acid is much more cost-effective than chemical synthesis [3-6]. Lactic acid producers homofermentative lactic acid bacteria are used as part of probiotics for the treatment of humans and young animals [7, 8].

An important area of work on the optimization of lactic acid production is the study of the biological properties of lactic acid fermentation producers, selection of active homofermentative lactic acid bacteria, optimization of biosynthesis process control parameters. It is also important to study and apply optimal conditions for the growth of selected cultures of microorganisms and the effectiveness of the acid formation process [9]. By means of such factors as nitrogen and carbon sources, pH, temperature, cultivation method, affecting the titer of the culture-producer of lactic acid and its productivity [10].

As L. A. Bannikova notes in her work, the properties of individual strains of lactic acid bacteria, as well as their combinations, are evaluated by a number of indicators, which primarily include: acid-forming activity - the rate and depth of lactose cleavage with the formation of a certain lactic acid isomer [11, 12]. S. Steffen et al. studied the influence of various factors on the configuration of lactic acid formed by different strains of lactic acid bacteria. As it turned out, changes in the time, incubation temperature, pH and composition of the nutrient medium did not significantly affect the configuration of lactic acid. Most of the studied strains of lactococci produced - P-lactate, strains of *L.bulgaricus* and *L.lactis* - exclusively R-lactate, and *L. helveticus* and *L.acidophilus* - both isomers in the same amounts [13]. The form of lactic acid formed is characteristic of a certain type of lactobacilli [14]. The acid-forming activity of lactic acid bacteria is due to their high growth rate in milk and enzymatic activity. Certain types of lactobacilli, which have a low growth rate in milk and, accordingly, a weak acid-forming ability, need additional growth factors (yeast autolysate, corn extract, etc.) [15, 16]. The activity of acid formation is a

normalized indicator of the specific activity of lactose-containing probiotics and, accordingly, a criterion for the selection of lactobacillus strains in the development of new bacterial preparations [17].

Materials and methods

Lactic acid microorganisms were used in the work (*Lactococcus lactis* K-1, *Lactobacterium bulgaricus* K-3, *Streptococcus thermophilus* K-2, *Streptococcus lactis* 6, *Lactococcus lactis* 8) and lactose-fermenting yeasts (*Saccharomyces lactis* 19 and *Saccharomyces lactis* 14c) included in the consortium, which are isolated from fermented dairy products of Kaskelensky district of Almaty region.

MRS medium was used for the cultivation of lactic acid microorganisms [18]. The source of carbon in the medium was glucose, the source of nitrogen was yeast extract. The number of viable cells (CFU/ml or titer) was determined by 10-fold dilution of the sample and seeding on agarized MRS and Saburo media [19, 20].

Determination of the energy of acid formation. 1 loop of the studied strain was inserted into a test tube with 10 ml of sterile skimmed milk and thermostated at an optimal temperature (30-37 °C) for 16 hours (when determining the energy of acid formation), after which the titrated acidity was determined [21].

Determination of titrated acidity. 20 ml of distilled H₂O and 2 drops of 1% phenolphthalein were added to 10 ml of the sample. The samples were then titrated with 0.1 NaOH until a faint pink staining appeared. The volume (ml) of NaOH used for titration and multiplied by 10 was an indicator of titrated acidity expressed in Turner degrees (°T) [22].

Results and discussion

The viability of ICD and lactose-fermenting yeast after various storage periods was evaluated by surface sieving from dilutions 10^7 - 10^9 in 3 Petri dishes (with the calculation of the average value) on agarized media MRS and Saburo counting colonies after incubation at 30 ± 1 °C and 37 ± 1 °C for 48 h. The percentage of survival of microorganisms was found in relation to the logarithm of the average value of the number of colony-forming units (CFU) after storage under a layer of mineral oil. The data were processed according to the Student's 1-criterion (errors are not given, since the conclusions are based on obviously significant differences).

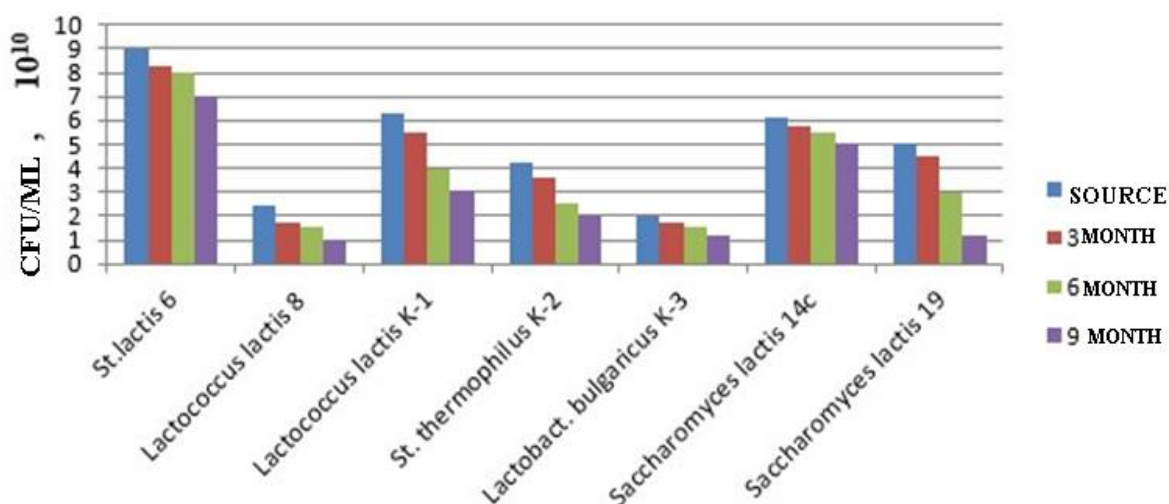


Figure 1 – Comparative diagram of changes in the number of cells during separate cultivation of lactic acid microorganisms and lactose-fermenting yeasts included in the consortium after storage under a layer of mineral oil

It was found (Figure 1) that the viability of ICD and lactose-fermenting yeast stored under a layer of mineral oil decreased to 10-23% after 9 months. Thus, the survival rate of two strains of

Lactococcus lactis 8 and *Lactobacterium bulgaricus* K-3 by the end of the shelf life under a layer of mineral oil decreased to 42-53.5%. The most resistant strain was *Streptococcus lactis* 6, the maximum survival rate of which after 9 months of storage was 81.9%.

The formation of organic acids (lactic) by lactobacilli is considered one of the mechanisms of antagonistic activity in relation to conditionally pathogenic microorganisms. In this regard, the study of the dynamics of acid formation is considered as an important stage in the characterization of the biological properties of lactobacilli. We determined the dynamics of changes in titrated acidity during the cultivation of lactobacilli in sterile skim milk.

Table 1 - Acid-forming activity of lactic acid bacteria and lactose-fermenting yeasts included in the consortium after storage under a layer of mineral oil, depending on the duration of coagulation

Strains of lactic acid bacteria and lactose-fermenting yeast	Duration of coagulation when applying 3% starter culture, hour	Titrated acidity, deg			
		Source	3 month	6 month	9 month
1	2	3	4	5	6
<i>Streptococcus lactis</i> 6	16	75	70	65	55
<i>Lactococcus lactis</i> 8	16	97	85	60	52
<i>Lactococcus lactis</i> K-1	16	80	70	60	55
<i>Streptococcus thermophilus</i> K-2	16	100	85	75	63
<i>Lactobacterium bulgaricus</i> K-3	16	95	80	75	65
<i>Saccharomyces lactis</i> 14c	16	200	195	180	170
<i>Saccharomyces lactis</i> 19	16	210	200	190	180

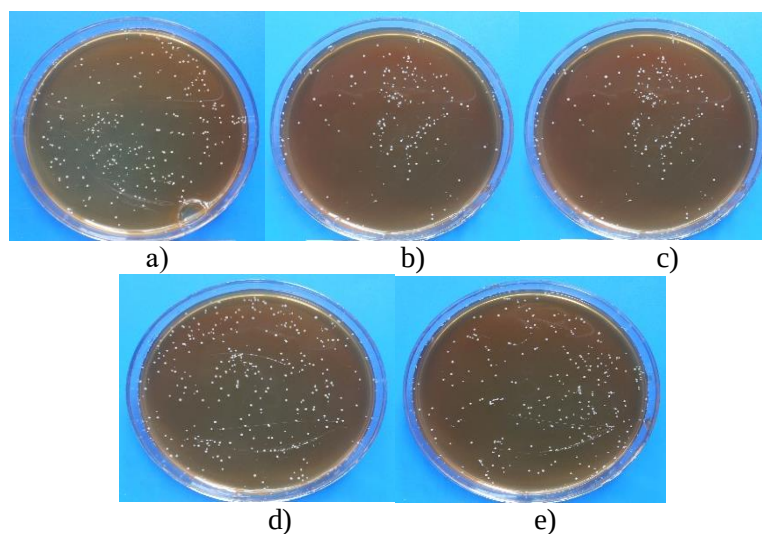
It was found that the most active acid producers were strains of lactose-fermenting yeast *Saccharomyces lactis* 14c - 200°T and *Saccharomyces lactis* 19 – 210°T, moderate acid-forming strains of lactic acid bacteria *Lactococcus lactis* 8 - 97°T, *Streptococcus thermophilus* K-2 - 100°T, *Lactobacterium bulgaricus* K-3 - 95 °T, weak acid-forming *Streptococcus lactis* 6 - 75 °T, *Lactococcus lactis* K-1 -80°T. With regard to changes in the acid-forming activity of ICD and lactose-fermenting yeast during storage under a layer of mineral oil, it was found (Table 1) that within 9 months this indicator decreased by no more than 5-18%. The exception was the strain *Lactococcus lactis* 8, whose activity decreased by 45%.

Table 2 - Acid-forming activity of collection lactic acid bacteria

Strains of collectible lactic acid bacteria	Duration of coagulation when applying 3% starter culture, hour	Acid formation in milk, °T	Growth temperature, °C
1	2	3	4
<i>Lactobacillus plantarum</i> 2	16	22	35
<i>Lactobacillus plantarum</i> 22	16	35	35
<i>Lactobacillus plantarum</i> 53H	16	55	35
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 27W	16	42	35
<i>Lactobacillus curvatus</i> 18g	16	45	35
<i>Lactobacillus casei</i> 139	16	60	35
<i>Lactobacillus casei</i> 173a	16	30	35
<i>Lactobacillus salivarius</i> 8g	16	50	35
<i>Lactobacillus fermentum</i> 27	16	35	35
<i>Lactobacillus cellobiosus</i> 20	16	20	35

It was revealed that the most active acid producers are strains of collectible lactic acid bacteria *Lactobacillus casei* 139 - 60°T, *Lactobacillus plantarum* 53H - 55°T and *Lactobacillus salivarius* 8g - 50°T, *Lactobacillus curvatus* strains 18g - 45°T and *Lactobacillus acidophilus* 27W - 42°T were moderate acid-forming agents, *Lactobacillus plantarum* 2 - 22°T were weak acid-forming agents and *Lactobacillus cellobiosus* 20 - 20°T (Table 2).

The study of population variability of consortium No.1 (*Lactococcus lactis* K-1, *Streptococcus thermophilus* K-2, *Lactobacterium bulgaricus* K-3 and lactose-fermenting yeast *Saccharomyces lactis* 19) and consortium № 2 (*Streptococcus lactis* 6, *Lactococcus lactis* 8, *Saccharomyces lactis* 14c), strains lactic acid bacteria showed heterogeneity. Figure 2 shows that on the surface of a dense nutrient medium, lactic acid bacteria form similar colonies of about 2-4 microns in diameter, convex, round, smooth, white.



Note: a) *Lactococcus lactis* K-1, b) *Streptococcus thermophilus* K-2, c) *Lactobacterium bulgaricus* K-3, d) *Streptococcus lactis* 6, e) *Lactococcus lactis* 8

Figure 2 - Population variability of lactic acid bacteria

Figure 3 shows the morphology of lactobacillus yeast. On the surface of a dense nutrient medium, lactose-fermenting yeasts form colonies about 6-8 microns in diameter, convex, round, smooth, white.

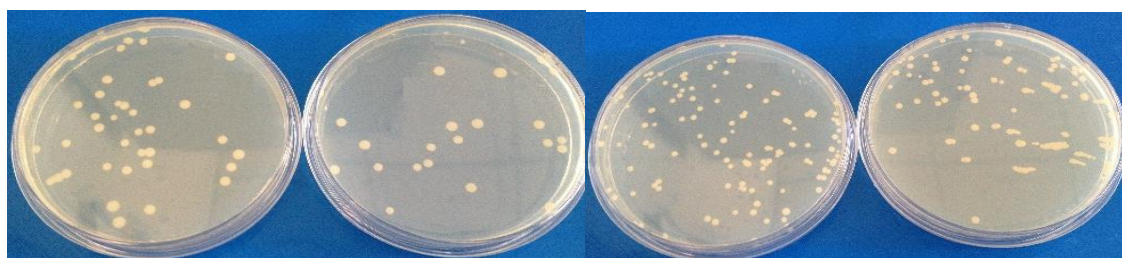


Figure 3 - Population variability of lactose-fermenting yeast

To select the most promising strain-producer of lactic acid, the acid-forming ability of 5 cultures of lactic acid bacteria and 2 cultures of lactose-fermenting yeast was studied. 5 variants of a colony of lactic acid bacteria and lactose-fermenting yeast were selected.

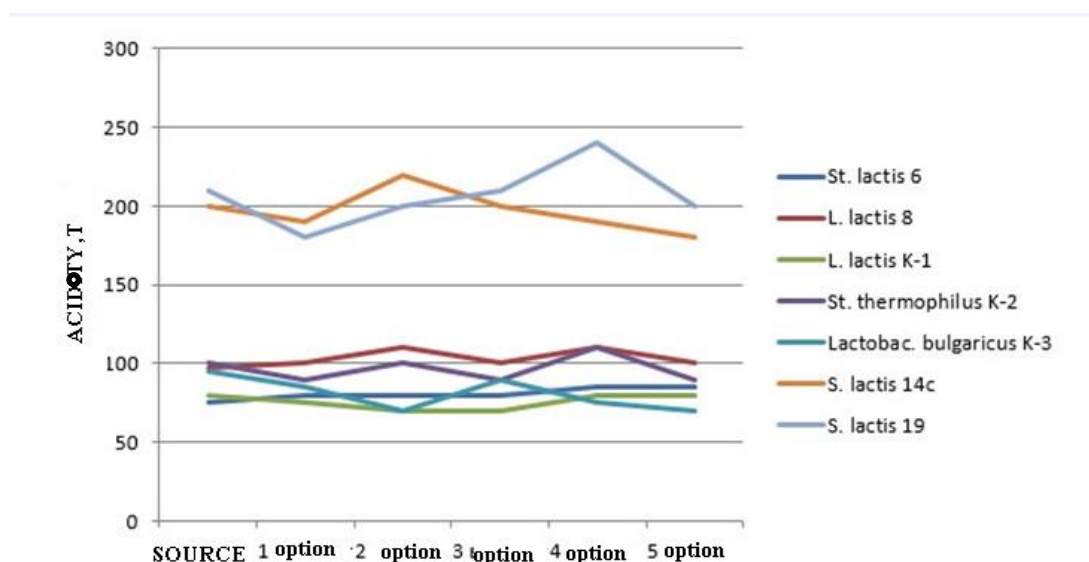
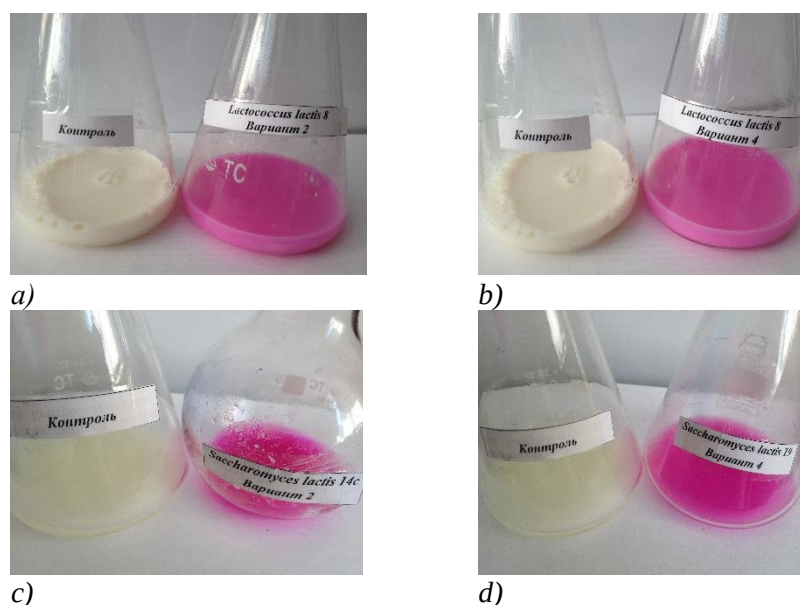


Figure 4 – Determination of the dynamics of acidity changes in selected variants of lactic acid bacteria and lactose-fermenting yeasts included in the consortium

Of the selected 5 variants of lactic acid bacteria strains *Lactococcus lactis* 8 and *Streptococcus thermophilus* K-2, the most active variants are №2 and №4. Moderate acid-forming variants №4 and №5 in strains *Streptococcus lactis* 6, *Lactococcus lactis* K-1 and variants №1 and №3 in the strain *Lactobacterium bulgaricus* K-3. The active acid-forming ability was manifested in variants №2 and №4 in lactose-fermenting yeasts *Saccharomyces lactis* 14c and *Saccharomyces lactis* 19 (Figure 4).



Note: a) №2 variant *Lactococcus lactis* 8; b) №4 variant *Lactococcus lactis* 8; c) №2 variant *Saccharomyces lactis* 14c; d) №4 variant *Saccharomyces lactis* 19.

Figure 5 - Indicators of titrated acidity in selected variants of strains of lactic acid bacteria and lactose-fermenting yeast included in the consortium

In variants of strains of lactic acid bacteria included in the consortium, the titrated acidity of which ranges from 70-85 °T, are considered to be moderately active, and those with this parameter over 90-110 °T highly active. It should be noted that the strain *Saccharomyces lactis*

19 showed a relatively high acid-forming activity in the selected variant №4, the titrated acidity of which ranges from 200-240 °T. Collection lactic acid bacteria, the titrated acidity of which ranges from 20-60 °T, are considered inactive.

Summarizing the results obtained by us, we can conclude that out of the selected five culture variants *Lactococcus lactis* 8 and *Streptococcus thermophilus* K-2 are promising producers of lactic acid. They showed high acid-forming activity, in comparison with other studied strains. The selection of variants of strains of lactic acid bacteria and lactose-fermenting yeast included in the consortium was carried out according to parameters such as the duration of coagulation and acid-forming activity and in the future they can be used as probiotics.

The data obtained as a result of experimental work indicate a good acid-forming ability of the strains of lactic acid bacteria and lactose-fermenting yeasts included in the consortium, compared with the collection strains of lactic acid bacteria.

References:

- 1 Gridneva E.E., Kaliakparova G.SH., Padalko I.U. Problemy i perspektivy razvitiya rynka hleba i hlebobulochnykh izdelij v Respublike Kazahstan // *Problemy agrorynka*, 2018, №1, 112-119.
- 2 Datta R. et al. Technological and economic potential of poly(lactic acid) fnd lactis acid derivative// *FEMS Microbiology Revivs*.1995.Vol.16.221-231.
- 3 Trenina M.A., Lysenko A.M., Ahveredyan V.Z., Mchedlishvili E.B. Izuchenie vidovoj variabel'nosti bakterij *Lactococcus lactis* po priznaku adaptacii k vysokoj kislotnosti sredy.// *Mikrobiologiya*. 2006.T.75.№1.118-126.
- 4 Duwat P., Cesselin B., Souris S.,Gruss A. *Lactococcus lactis*, a bacterial model for stress responses and survival// *J.Food Microbiol*.2000.Vol.55.83-86.
- 5 Sjoberg A.,Persson I.,Quednau M.,Hahn-Hagerdal B. The influence of limited and non-limited growth conditions on glucose and maltose metabolism in *Lactococcus lactis* ssp.lactis strains// *Appl.Microbiol.fnd Biotechnol*.1995.Vol.42.№6.931-938.
- 6 Sheh Punia Bangar, Shweta Suri, Monica Trif, Fatih Ozogul. Organic acid production from lactic acid bacteria: A preservation approach. *Food bioscience*, Volume 46, 2022.101615/doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101615.
- 7 Ganina V.I. Stabil'nye zakvaski - kachestvennye i bezopasnye molochnye produkty// *Molochnaya promyshlennost'*. 1999. №8. 25-27.
- 8 Katarzyna Garbacz. Anticancer activity of lactic acid bacteria. *Seminar in Cancer biology available online* 4.2022./doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.12.013.
- 9 Kuksova E.V. *Razrabotka tekhnologii kompleksnyh pishchevyh dobavok s ispol'zovaniem kislotoobrazuyushchih bakterij: Avtoref.... dis. kand. tekhn. nauk. M.* 2008. 27.
- 10 Warminska-Radyko I., Olszewska M.,Miks-Krajnik M. Effect of temperature and sodium chloride on growth and metabolism of *Lactococcus* strainsin long-term incubation of milk // *Milchwissenschaft-Milk Science International*.2010.Vol.65.32-35.
- 11 Bannikova L. A. *Mikrobiologicheskie osnovy molochnogo proizvodstva*. Moskva, 1975.
- 12 L. A. Bannikova, N. S. Koroleva, V. F. Semenihina M.: *Agro-promizdat*, 1987.400.
- 13 SHteffen S. Konfiguraciya molochnoj kisloty, obrazuemoj razlichnymi shtammami molochnokislyh bakterij, kak funkciya uslovij kul'tivirovaniya / S. SHteffen, B. Nik, B. X. Blan // *Mezhd. Kongress po molochnomu delu. M., Pishchevaya promyshlennost'*, 1978.156-157.
- 14 Puhon 3. Sostav molochnokisloy flory i konfiguraciya molochnoj kisloty v jogurte / 3. Puhon, O. Flueler, M. Banhedzhi // *19 Mezhd. kongress po molochnomu delu. M.: Pishchevaya prom-st'*, 1978. 192.
- 15 Pechurkin N.S. *Populyacionnaya mikrobiologiya*. Novosibirsk: Nauka. 1978.
- 16 Pechurkin N.S., Bril'kov A.V., Marchenkova T.V. *Populyacionnye aspekty biotekhnologii*. Novosibirsk: Nauka (Sib. otd.). 1991.
- 17 Lihoded V.G., Bondarenko V.M. Antiendotoksinovyy immunitet v regulyacii chislennosti esherihioznoj mikroflory kishchnika. *Medicina*, 2007.216.
- 18 Arkad'eva Z.A. i dr. *Promyshlennaya mikrobiologiya*. M.,1989. 686.
- 19Varfalomeev S.D. Kineticheskie zakonomernosti razvitiya mikrobyh populyacij // *Sovremennye problemy biokinetiki*. M.,1987. 6-77.

- 20 Minevich I.G. Material'no-energeticheskij balans i kinetika rosta mikroorganizmov.M., 2005.
353.
- 21 Proskuryakov M.T.*Biohimiya*. Krasnodar,2007.199.
- 22 Gurevich YU.L. Ustojchivost' i regulyaciya v mikrobnih populyacijah.Novosibirsk, 1984.98.