

DOI 10.54596/2958-0048-2026-3-77-89

УДК 60; 636.09

МРНТИ 34.27.29; 34.27.51

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ РАЗРАБОТКА КОРМОВЫХ ПРОБИОТИКОВ НА ОСНОВЕ *BACILLUS SUBTILIS* С ПРИМЕНЕНИЕМ ЛИОФИЛИЗАЦИИ

Абдулжанова М.А.^{1*}, Бахытжан Н.Н.^{1,2}

¹ НАО «Казахский национальный университет имени аль-Фараби»,
Алматы, Казахстан

² КГУ «Общеобразовательная школа №9» УО города Алматы, Алматы, Казахстан

*Автор для корреспонденции: malika.abdulzhanova@kaznu.edu.kz

Аннотация

Данное исследование было проведено с целью оценки биотехнологического потенциала штамма *Bacillus subtilis* A-12 для разработки пробиотических кормовых добавок. В качестве основного метода хранения для обеспечения стабильности пробиотической биомассы была использована лиофилизация. В ходе исследования была оценена лиофилизационная толерантность штамма *B. subtilis* A-12 с использованием различных составов криопротекторных сред. В частности, были протестированы среда на основе желатина, сахарозы и молока, среда на основе сахарозы, среда на основе молока, среда на основе желатина и сахарозы и среда на основе желатина.

Результаты показали, что жизнеспособность клеток *B. subtilis* A-12 после лиофилизации в значительной степени зависела от состава криопротекторной среды. Среди испытанных составов среда на основе желатина и сахарозы обеспечивала наибольшую жизнеспособность клеток после лиофилизации и показала статистически значимое преимущество по сравнению со средами без углеводов ($p < 0,05$). Хотя количество жизнеспособных клеток после лиофилизации уменьшилось примерно на 25-35%, дальнейшие потери составили всего 2-5% при хранении в течение шести месяцев при температуре 4°C. Это свидетельствует о долгосрочной стабильности полученной лиофилизированной биомассы.

Кроме того, было установлено, что спорообразующая природа штамма *B. subtilis* A-12 повышает его устойчивость к дегидратации и тепловому стрессу, что положительно влияет на стабильность лиофилизированного препарата. В результате исследования была разработана экспериментальная пробиотическая кормовая добавка на основе лиофилизированной биомассы *B. subtilis* A-12. Полученные данные свидетельствуют о перспективности разработанной технологии для практического применения и обосновывают необходимость оценки ее эффективности *in vivo* на животных моделях в будущем.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, пробиотики, лиофилизация, криопротекторные среды, жизнеспособность, кормовые добавки.

ВАСИЛЛУС СУБТИЛИС НЕГІЗІНДЕ ЛИОФИЛИЗАЦИЯ ӘДІСІН ҚОЛДАНА ОТЫРЫП, АЗЫҚТЫҚ ПРОБИОТИКТЕРДІ БИОТЕХНОЛОГИЯЛЫҚ ӘЗІРЛЕУ

Абдулжанова М.А.^{1*}, Бахытжан Н.Н.^{1,2}

¹ «Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті» КЕАҚ, Алматы, Қазақстан

² «№9 жалпы білім беретін мектеп» КММ, Алматы қаласы Білім басқармасы,
Алматы, Қазақстан

*Хат-хабар үшін автор: malika.abdulzhanova@kaznu.edu.kz

Аңдапта

Бұл зерттеу *Bacillus subtilis* A-12 штаммының негізінде пробиотикалық жемшөптік қоспаларды әзірлеу мақсатындағы биотехнологиялық әлеуетін бағалауға арналған. Пробиотикалық биомассаның тұрақтылығын қамтамасыз ету үшін негізгі сақтау әдісі ретінде лиофилизация қолданылды. Зерттеу барысында *B. subtilis* A-12 штаммының лиофилизацияға төзімділігі әртүрлі криопротекторлық орта

құрамдарын пайдалана отырып бағаланды. Атап айтқанда, желатинді-сахарозалы-сүтті орта, сахарозалы орта, сүтті орта, желатинді-сахарозалы орта және желатинді орта сыналды.

Нәтижелер *B. subtilis* A-12 жасушаларының лиофилизациядан кейінгі өміршеңдігі қорғаныш ортаның құрамына едәуір тәуелді екенін көрсетті. Сыналған нұсқалар ішінде желатин мен сахароза негізіндегі орта лиофилизациядан кейінгі ең жоғары жасуша өміршеңдігін қамтамасыз етті және көмірсусыз орталармен салыстырғанда статистикалық тұрғыдан сенімді артықшылық көрсетті ($p < 0,05$). Лيوфилизация нәтижесінде тіршілікке қабілетті жасушалар саны бастапқыда шамамен 25-35% төмендегенімен, 4°C температурада алты айға дейін сақтау барысында қосымша жоғалулар небәрі 2-5% деңгейінде болды. Бұл алынған лиофилизделген биомассаның ұзақ мерзімді тұрақтылығын дәлелдейді.

Сонымен қатар, *B. subtilis* A-12 штаммының спора түзуші табиғаты оның дегидратация мен термиялық стресс жағдайларына төзімділігін арттырып, лиофилизделген препараттың тұрақтылығына оң әсер ететіні анықталды. Зерттеу нәтижесінде *B. subtilis* A-12 лиофилизделген биомассасы негізінде эксперименттік пробиотикалық жемшөптік қоспа әзірленді. Алынған деректер әзірленген технологияның практикалық қолдану үшін перспективалы екенін көрсетеді және алдағы уақытта жануар модельдерінде *in vivo* тиімділігін бағалау қажеттігін негіздейді.

Кілт сөздер: *Bacillus subtilis*, пробиотиктер, лиофилизация, криопротекторлық орталар, өміршеңдік, жемдік қоспалар.

BIOTECHNOLOGICAL DEVELOPMENT OF FEED PROBIOTICS BASED ON *BACILLUS SUBTILIS* USING FREEZE-DRYING

M. Abdulzhanova^{1*}, N. Bakhytzhana^{1,2}

¹*NJC “Al-Farabi Kazakh national university”, Almaty, Kazakhstan

²MPI “Secondary School No. 9”, Department of Education of Almaty, Almaty, Kazakhstan

*Corresponding author: malika.abdulzhanova@kaznu.edu.kz

Abstract

This study was conducted to assess the biotechnological potential of the *Bacillus subtilis* A-12 strain for the development of probiotic feed additives. Lyophilisation was employed as the primary storage method to ensure the stability of the probiotic biomass. During the study, the lyophilisation tolerance of the *B. subtilis* A-12 strain was assessed using various cryoprotective medium compositions. Specifically, a gelatin–sucrose–milk medium, a sucrose medium, a milk medium, a gelatin–sucrose medium, and a gelatin medium were tested.

The results showed that the post-lyophilisation viability of *B. subtilis* A-12 cells was significantly dependent on the composition of the protective medium. Among the tested formulations, the gelatin- and sucrose-based medium provided the highest cell viability after lyophilisation and showed a statistically significant advantage compared with carbohydrate-free media ($p < 0.05$). Although the number of viable cells decreased by approximately 25-35% following lyophilisation, further losses during storage for up to six months at 4°C were only 2-5%. This demonstrates the long-term stability of the obtained lyophilised biomass.

Furthermore, the sporulating nature of the *B. subtilis* A-12 strain was found to enhance its resistance to dehydration and thermal stress, positively affecting the stability of the lyophilised preparation. As a result of the study, an experimental probiotic feed additive based on lyophilised *B. subtilis* A-12 biomass was developed. The obtained data indicate that the developed technology is promising for practical application and justify the need to assess its *in vivo* efficacy in animal models in the future.

Keywords: *Bacillus subtilis*, probiotics, freeze-drying, cryoprotective media, cell viability, feed additives.

Введение

Растущий спрос на устойчивое и не содержащее антибиотиков животноводство стимулировал значительные исследования пробиотических кормовых добавок в качестве натуральной альтернативы традиционным стимуляторам роста. Среди них особое внимание привлекает пробиотическая бактерия *Bacillus subtilis*. Благодаря

способности к спорообразованию *B. subtilis* рассматривается как перспективный пробиотический микроорганизм для животноводства [1].

Недавние исследования продемонстрировали многогранные преимущества пробиотиков на основе бактерий рода *Bacillus* в питании скота. Одно из недавних исследований показало, что добавление в рацион штамма *Bacillus subtilis* PS-216 значительно улучшило показатели роста, коэффициент конверсии корма, состав кишечной микробиоты, иммунные параметры и качество мяса у бройлерных цыплят, подчеркнув его потенциал в качестве устойчивой альтернативы антибиотическим стимуляторам роста в птицеводстве [2].

В другом исследовании было продемонстрировано улучшение морфологии кишечника, повышение экспрессии иммунных генов и общее повышение численности полезных микроорганизмов у бройлеров за счет добавления в корма двух штаммов *B. subtilis* [3].

В системах жвачных животных пробиотики на основе *Bacillus* улучшили усвояемость клетчатки в кормовых рационах для бычков *Bos indicus*, что указывает на улучшенное усвоение питательных веществ и потенциальные преимущества в продуктивности крупного рогатого скота, получающего корма с высоким содержанием клетчатки [4].

Добавление *B. subtilis* также повышает яйценоскость и качество яичной скорлупы у кур-несушек, одновременно модулируя микробный профиль слепой кишки, что может принести пользу предприятиям по производству яиц, ориентированным на качество продукции и здоровье животных [5].

Всесторонние обзоры подчеркивают ведущую роль пробиотиков на основе бактерий рода *Bacillus* в улучшении здоровья животных за счет модуляции микробиома кишечника, усвоения питательных веществ и повышения иммунной функции [6-10]. Актуальность использования пробиотиков на основе бактерий *Bacillus* подтверждают и другие исследования, которые изучали механизмы воздействия бактерий на повышение продуктивности и благополучия скота [1, 9, 10]. Полученные данные подтверждают перспективность использования пробиотиков в качестве компонентов устойчивого животноводства [11, 12].

Результаты этих исследований подчеркивают сельскохозяйственную ценность кормовых добавок на основе *B. subtilis* для поддержки устойчивого животноводства, улучшения показателей продуктивности и укрепления здоровья животных. Кроме того, они указывают на необходимость дальнейших исследований влияния конкретных штаммов, оптимальных стратегий добавления и механизмов действия.

Научная новизна данного исследования заключается в комплексной оценке стабильности процесса лиофилизации для ранее охарактеризованного пробиотического штамма *B. subtilis* A-12 [13]. Для этой цели были использованы различные комбинации криопротекторных сред, а также разработана технологическая схема производства лиофилизированной биомассы для дальнейшего использования в кормовых добавках.

В отличие от ранее опубликованных исследований [1, 5, 9, 10], в данном исследовании был проведен сравнительный анализ криопротекторных сред, эффективных именно для штамма *B. subtilis* A-12, а также оценена стабильность биомассы в условиях длительного хранения, что имеет практическое значение для кормовой биотехнологии.

Материалы и методы исследования

Микроорганизмы и условия культивирования

В качестве биологического объекта исследования использовался пробиотический штамм *B. subtilis* A-12, который был получен ранее [13]. Штамм поддерживался путем последовательного пассирования и культивировался в аэробных условиях в питательном бульоне, подходящем для роста бацилл. Культивирование проводилось для получения высокоплотной бактериальной суспензии перед последующей обработкой.

Для минимизации кислотного стресса и повышения выживаемости клеток во время последующей лиофилизации pH культуральной среды регулировали до нейтрального значения (pH 7,0) путем добавления стерильных 10% растворов цитрата натрия и бикарбоната натрия, как рекомендовано для приготовления пробиотиков перед дегидратацией [8]. После чего культуральную среду центрифугировали, а полученную биомассу ресуспендировали в криопротекторной среде в соотношении 1:1 (об/об).

Выбор криопротекторных сред для лиофилизации

Для оценки устойчивости *B. subtilis* A-12 к лиофилизации были исследованы несколько сред, состоящих из крио- и ксеропротекторных агентов, включая желатиново-сахарозно-молочную среду (желатин - 5 г, сахароза - 5 г, сухое обезжиренное молоко - 8 г, дистиллированная вода - 82 мл), сахарозную среду (сахароза - 5 г, дистиллированная вода - 95 мл), молочную среду (лактоза - 1 г, сухое обезжиренное молоко - 20 г, дистиллированная вода - 80 мл), желатиново-сахарозную среду (желатин - 5 г, сахароза - 10 г, дистиллированная вода - 85 мл) и желатиновую среду (желатин - 5 г, дистиллированная вода - 95 мл). Выбор крио- и ксеропротекторов основывался на их известной способности стабилизировать клеточные мембраны и белки во время дегидратации за счет сохранения остаточной влаги и повышения внутриклеточного осмотического давления [8, 14-16].

Процедура лиофилизации

Лيوфилизация проводилась с использованием полочной лиофилизационной сушилки (LyoQuest-85, Испания) в вакуумных условиях. Процесс состоял из трех основных этапов: замораживание, первичная сушка и вторичная сушка. Замораживание проводилось путем постепенного снижения температуры от комнатной до -40°C с контролируемой скоростью понижения, после чего следовал период выдержки для обеспечения полного затвердевания. Первичная сушка проводилась при пониженном давлении, при этом температура на полке постепенно повышалась до -20°C для удаления несвязанной воды путем сублимации. Вторичная сушка включала дальнейшее повышение температуры до $+35^{\circ}\text{C}$ для снижения остаточной влажности до 2,5-4,0%.

Конечный высушенный продукт герметизировали в асептических условиях в стерильных стеклянных флаконах и хранили при 4°C . Жизнеспособность клеток после лиофилизации и в течение шести месяцев хранения определяли путем посева серийных разведений на питательный агар после регидратации. Параметры лиофилизации и оценка жизнеспособности проводились в соответствии с установленными протоколами стабилизации пробиотиков [17, 18].

Леофилизированная биомасса *B. subtilis* A-12, полученная в оптимальных криопротекторных условиях, была использована для производства экспериментальной пробиотической кормовой добавки.

Статистический анализ

Все эксперименты проводились в трех независимых биологических повторах ($n=3$), результаты представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение (SD). В качестве количественной переменной отклика использовалось количество жизнеспособных клеток *B. subtilis* A-12 до лиофилизации, после лиофилизации и в процессе хранения. Учитывая небольшой размер выборки, тесты на нормальность распределения были ограничены и использовались в качестве приблизительной оценки. Основное внимание уделялось сравнительному анализу средних значений. С учетом малого объема выборки тесты на нормальность распределения (Шапиро-Уилка [19]) и однородность дисперсий (тест Левена [20]) использовались с ограничениями и носили ориентировочный характер.

Для оценки различий между группами использовался однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) при соблюдении соответствующих условий. В случае нарушения этих условий использовался непараметрический критерий Краскела-Уоллиса [21, 22]. Различия интерпретировались как статистически значимые при уровне $p < 0,05$, однако результаты следует рассматривать с учетом ограниченного объема выборки ($n = 3$).

Все статистические расчеты и построение графиков выполнялись с использованием Python (версия ≥ 3.9) со стандартными научными библиотеками [22, 23].

Результаты исследования

Основываясь на ранее опубликованных исследованиях, лиофилизация была оценена и выбрана как стратегия разработки экспериментальных пробиотических кормовых добавок на основе *B. subtilis* A-12 [24 - 26].

Кроме того, спорообразующая природа бактерии *B. subtilis* еще больше повышает ее пригодность для лиофилизации, поскольку споры обладают повышенной устойчивостью к дегидратации и тепловому стрессу по сравнению с вегетативными клетками [27, 28].

Жизнеспособность штамма после лиофилизации оценивалась с использованием различных криопротекторных сред, включая желатино-сахарозо-молочную среду, сахарозную среду, молочную среду, желатино-сахарозную среду и желатиновую среду.

Результаты показали, что выживаемость *B. subtilis* A-12 после лиофилизации сильно зависела от состава среды. Содержащие сахар составы обеспечивали более высокий уровень защиты по сравнению со средами, не содержащими углеводов. Это объясняется тем, что сахара способны удерживать некоторое количество влаги, необходимое для сохранения жизнеспособности микроорганизмов [29, 30]. Кроме того, углеводы вызывают повышение осмотического давления в клетке, препятствуя тем самым разрыву клеточной стенки при высушивании [31].

Криопротекторные среды в данном исследовании можно ранжировать по выживаемости после лиофилизации следующим образом: желатин-сахароза > желатин-сахароза-молоко > сахароза > молоко > желатин (рисунок 1). Таким образом, среди испытанных вариантов защитная среда, содержащая желатин и сахарозу, обеспечивала наибольшую жизнеспособность бактериальных клеток после лиофилизации.

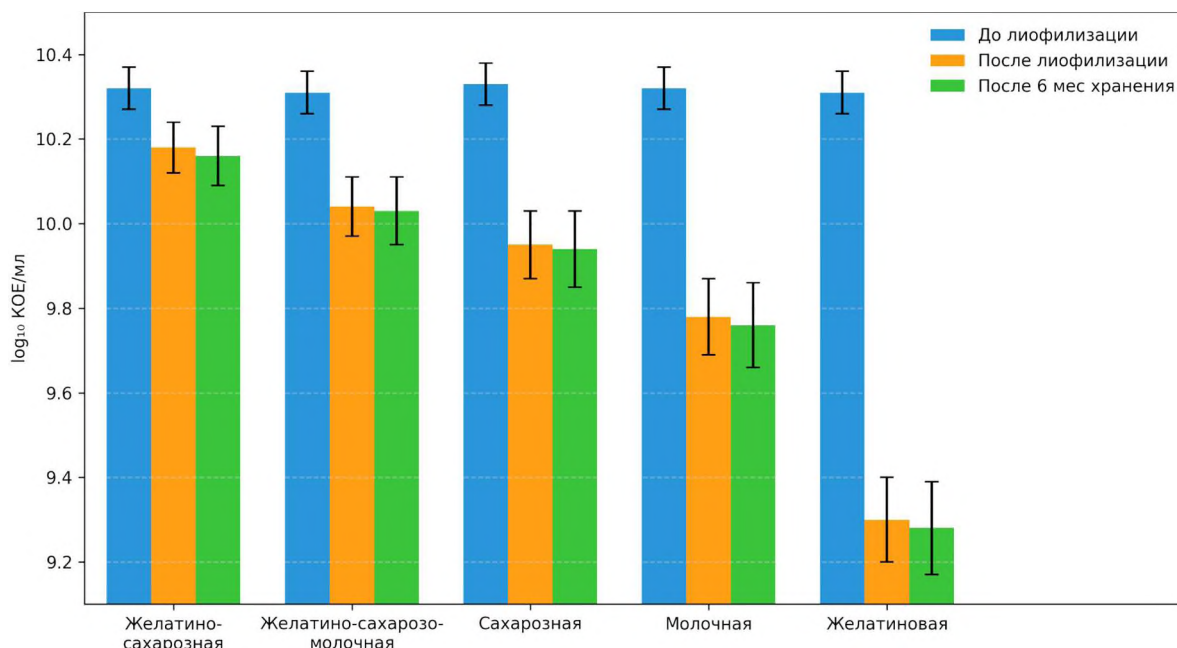


Рисунок 1. Динамика жизнеспособности штамма *Bacillus subtilis* A-12 на криопротекторных средах до, после лиофилизации и после хранения в течение 6 месяцев ($\log_{10}$ КОЕ/мл, Mean $\pm$ SD, n = 3)

В среде с желатином и сахарозой наблюдалось увеличение выживаемости клеток, интерпретируемое как тенденция к статистически значимому, по сравнению с криопротекторными составами, не содержащими углеводов ($p < 0,05$) (таблица 1). Превосходные характеристики желатино-сахарной среды можно объяснить комбинированным осмопротективным эффектом сахаров и белковой матрицы, образованной желатином, которая, вероятно, стабилизирует клеточные мембраны и внутриклеточные структуры во время дегидратации. Кроме проявленных криопротекторных свойств в отношении микробной культуры, желатино-сахарозная среда оказалась более выгодной и с экономической точки зрения [32, 33].

Таблица 1. Влияние криопротекторных сред на жизнеспособность *Bacillus subtilis* A-12 до, после лиофилизации и после хранения в течение 6 месяцев ($\log_{10}$ КОЕ/мл и $\times 10^9$ КОЕ/мл, Mean $\pm$ SD, n = 3)

Защитная среда	До лиофилизации, $\log_{10}$ КОЕ/мл	До лиофилизации, $\times 10^9$ КОЕ/мл	После лиофилизации, $\log_{10}$ КОЕ/мл	После лиофилизации, $\times 10^9$ КОЕ/мл	После 6 мес хранения, $\log_{10}$ КОЕ/мл	После 6 мес хранения, $\times 10^9$ КОЕ/мл
Желатино-сахарозная	10.32 ± 0.05	20.9	10.18 ± 0.06	15.0	10.16 ± 0.07	14.5
Желатино-сахарозо-молочная	10.31 ± 0.05	20.4	10.04 ± 0.07	11.0	10.03 ± 0.08	10.7
Сахарозная	10.33 ± 0.05	21.4	9.95 ± 0.08	9.0	9.94 ± 0.09	8.7
Молочная	10.32 ± 0.05	20.9	9.78 ± 0.09	6.0	9.76 ± 0.10	5.8
Желатиновая	10.31 ± 0.05	20.4	9.30 ± 0.10	2.0	9.28 ± 0.11	1.9

Хотя лиофилизация привела к первоначальному снижению количества жизнеспособных клеток на 25-35 %, последующее хранение при температуре 4°C вызвало лишь минимальные дополнительные потери (2-5 %), что свидетельствует об эффективной долгосрочной стабилизации (рисунок 1). Полученные параметры стабильности соответствуют основным требованиям, предъявляемым к пробиотическим кормовым добавкам, предназначенным для промышленного хранения и распространения. Наблюдаемое снижение жизнеспособности (25-35%) сопоставимо или ниже значений, зарегистрированных для других штаммов *Bacillus* и молочнокислых бактерий, где после лиофилизации обычно отмечаются потери в размере 30-60% [34-36].

Таким образом, применение подходящей криопротекторной среды при лиофилизации клеток *Bacillus* позволяет сохранять жизнеспособность культуры и поддерживать её биологическую активность при длительном хранении. Лيوфилизированная культура *B. subtilis* сохранила стабильные биологические свойства и может быть использована в качестве исходного материала для производства экспериментальных пробиотических кормовых добавок на основе концентрированной биомассы (рисунок 1, 2).

По результатам исследования был подготовлен экспериментальный образец пробиотической кормовой добавки на основе лиофилизированной биомассы *B. subtilis* А-12. Общая схема биотехнологического процесса разработки образца показана на рисунке 2.

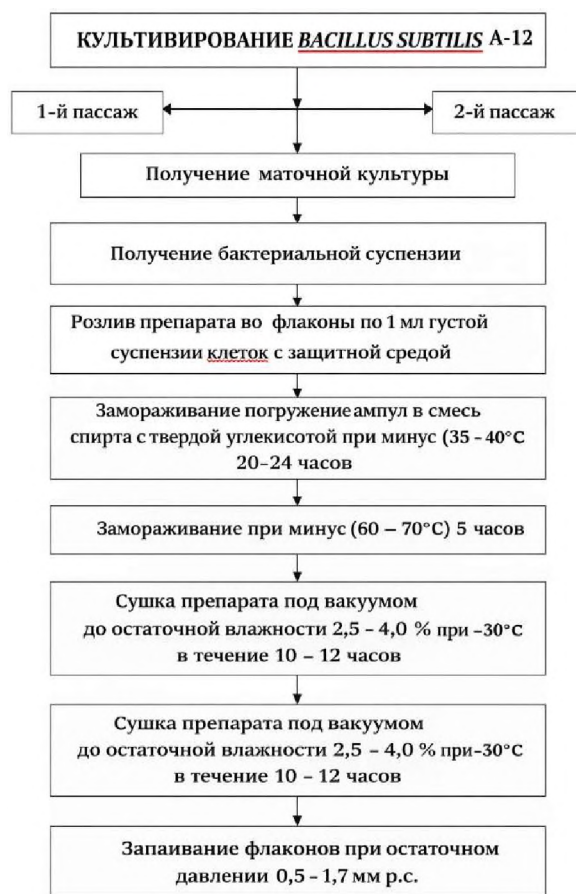


Рисунок 2. Схема проведения лиофильной сушки биомассы *Bacillus subtilis* А-12

Настоящее исследование ограничивалось оценкой жизнеспособности *in vitro* и стабильности при хранении в период до 6 месяцев. В этой связи, для полной проверки функциональной эффективности разработанной кормовой добавки необходимы дальнейшие исследования по оценке выживаемости в желудочно-кишечном тракте и эффективности *in vivo* на животных.

Обсуждение

Результаты проведенных исследований показали, что эффективность лиофилизации пробиотических микроорганизмов напрямую зависит от состава используемой криопротекторной среды. В нашем исследовании было установлено, что среда на основе желатина и сахарозы обеспечивает наивысший уровень жизнеспособности штамма *B. subtilis* A-12 после лиофилизации. Это объясняется синергетическим эффектом её компонентов. Сахароза способствует стабилизации клеточных мембран и белковых структур за счёт формирования стеклообразной матрицы и сохранения остаточной влаги [14, 29, 30]. Желатин, в свою очередь, образует белковую матрицу, защищающую клетки от повреждений во время замораживания и сублимации воды [32].

Низкая жизнеспособность клеток в желатиновой среде без углеводов подтверждает важную роль сахаров в процессе лиофилизации, что согласуется с ранее опубликованными исследованиями [14, 17, 24]. Так, например, схожие результаты были получены в исследовании штаммов *Lactobacillus* и *Bacillus*, где потери жизнеспособности после лиофилизации составляли от 30 до 60% в зависимости от состава среды [25, 34, 35].

Полученные результаты согласуются с данными других исследований. Согласно ранее проведенным исследованиям, сахароза, компоненты молока и другие криопротекторы могут значительно повысить жизнеспособность пробиотических бактерий после лиофилизации [17, 24, 29].

Данная работа показала оптимальное снижение жизнеспособности клеток микроорганизмов на уровне 25-30% в оптимально подобранной криопротекторной среде. Полученный результат может быть связан как с особенностями исследуемого штамма *B. subtilis* A-12, обладающего способностью к спорообразованию, так и с оптимально подобранным составом криопротекторной среды [6, 9, 27].

Однако данное исследование имеет ряд ограничений: оценка проводилась только *in vitro*, без анализа выживаемости клеток в условиях желудочно-кишечного тракта и без *in vivo* испытаний на животных; не рассматривались вопросы включения лиофилизированной биомассы в состав готовых кормов и её стабильности в реальных технологических условиях. Поэтому полученные результаты следует рассматривать как предварительные и требующие дальнейшего подтверждения в условиях, приближенных к реальному применению.

Заключение

В данном исследовании показан биотехнологический потенциал штамма *B. subtilis* A-12 с целью разработки пробиотических кормовых добавок для сельского хозяйства. В качестве метода стабилизации микроорганизмов использовалась лиофилизация. Результаты исследования показали, что выживаемость *B. subtilis* A-12 после лиофилизации сильно зависит от состава криопротекторной среды. Среди протестированных в работе составов желатиново-сахарозная среда обеспечила самую высокую жизнеспособность бактериальной культуры после лиофилизации.

Несмотря на то, что лиофилизация вызвала первоначальное снижение количества жизнеспособных клеток примерно на 25-35%, последующее хранение при 4°C привело лишь к незначительным дополнительным потерям (2-5%), что указывает на эффективную долговременную стабилизацию лиофилизированной биомассы и технологическую пригодность выбранного подхода для кормовых пробиотиков.

В целом, полученные результаты подтверждают, что лиофилизация в сочетании с соответствующей криопротекторной средой является надежным подходом для сохранения жизнеспособности и биологической стабильности культур *B. subtilis*.

По результатам работы был разработан экспериментальный образец пробиотической добавки на основе лиофилизированной биомассы *B. subtilis* A-12, а также предложена технологическая схема последующего производства. Дальнейшие исследования должны быть сосредоточены на оценке выживаемости в желудочно-кишечном тракте и эффективности *in vivo* на животных моделях для полной проверки функциональных свойств разработанной лиофилизированной биомассы.

Результаты исследования демонстрируют перспективность применения лиофилизированной биомассы *B. subtilis* A-12 при разработке стабильных пробиотических кормовых добавок для сельского хозяйства. Использование оптимизированной криопротекторной среды позволит повысить сохранность жизнеспособных клеток при хранении и транспортировке, что имеет практическое значение для промышленного производства пробиотических препаратов.

Литература:

1. Vieco-Saiz N., Lemâle O., Evans N.P., Quinteiro-Filho W.M., Mellouk A., Consuegra J., Yakout H., Goossens T. (2025). Winning the battle of intestinal peace with *Bacillus* — a multifaceted approach to animal health, immunity, and future applications in monogastric livestock production [Text] / N. Vieco-Saiz et al. // *Frontiers in Microbiology*. – Vol. 16. – Art. 1711747. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1711747>.
2. Šimunović K., Rezar V., Štefanič P. et al. (2025). Probiotic effect of *Bacillus subtilis* PS-216 in broiler chickens: modulation of weight, feed conversion, short-chain fatty acids, microbiota and meat quality [Text] / K. Šimunović et al. // *Animal Microbiome*. – Vol. 7. – Art. 121. <https://doi.org/10.1186/s42523-025-00489-7>.
3. Cai Y., Xiao C., Tian B., Sandvang D., Meuter A., Song B., Song Z. (2024). Dietary probiotic based on a dual-strain *Bacillus subtilis* improves immunity, intestinal health, and growth performance of broiler chickens [Text] / Y. Cai et al. // *Journal of Animal Science*. – Vol. 102. – Art. skae183. <https://doi.org/10.1093/jas/skae183>.
4. Eyre K.E., Pan L., Harper K., Prada e Silva L.F. (2025). The effect of a *Bacillus*-based probiotic on feed intake and digestibility of a forage and a feedlot diet in *Bos indicus* steers [Text] / K.E. Eyre et al. // *Veterinary and Animal Science*. – Vol. 29. – Art. 100463.
5. Park J.M., An B.K., Yang T.S., Kim K.E. (2024). Effects of single or combined feeding with *Bacillus subtilis* and organic acid mixture on egg production, physiological responses, and cholesterol level in chicken eggs [Text] / J. M. Park et al. // *Journal of Animal and Feed Sciences*. – Vol. 33(4). – P. 486–492. <https://doi.org/10.22358/jafs/186959/2024>.
6. Ramlucken U., Lalloo R., Roets Y., Moonsamy G., van Rensburg C. Jansen, Thantsha M. S. (2020). Advantages of *Bacillus*-based probiotics in poultry production [Text] / U. Ramlucken et al. // *Livestock Science*. – Vol. 241. – Art. 104215.
7. Calaca A.M.M., Figueiredo C.B., Silva M.B., Fernandes J.J.R., Fernandes M.H.M.R., Silva L.F., Couto V.R.M. (2022). Effect of a *Bacillus* probiotic strain on Nellore cattle finished on pasture during the dry season [Text] / A.M.M. Calaca et al. // *Livestock Science*. – Vol. 264. – Art. 105068. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.105068>.
8. Wang B., Middleton A., Gibson R., Khanolkar J., Klymenko O., Wu C.-Y. (2024). Understanding lethal mechanisms and preventive strategies in probiotic tablet production – a review [Text] / B. Wang et al. //

- Powder Technology. – Vol. 443. – Art. 119905. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2024.119905>.
9. Cutting S.M. (2011). *Bacillus* probiotics [Text] / S.M. Cutting // Food Microbiology. – Vol. 28(2). – P. 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.007>.
10. Osho S., Bolek K., Saddoris-Clemons K., Humphrey B., Garcia M. (2023). Impact of a direct-fed microbial supplementation on intestinal permeability and immune response in broiler chickens during a coccidia challenge [Text] / S. Osho et al. // Frontiers in Microbiology. – Vol. 14. – Art. 1283393. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1283393>.
11. Rahman M.R.T., Fliss I., Biron E. (2022). Insights in the development and uses of alternatives to antibiotic growth promoters in poultry and swine production [Text] / M.R.T. Rahman et al. // Antibiotics (Basel). – Vol. 11(6). – Art. 766. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060766>.
12. Idowu P.A., Mbambalala L., Idowu A.P. (2025). Probiotics as sustainable alternatives to antibiotic growth promoters: mechanisms, applications, and future perspectives in livestock production [Text] / P.A. Idowu et al. // Letters in Animal Biology. – Vol. 5(1). – P. 129–142. <https://doi.org/10.62310/liab.v5i1.258>.
13. Абдулжанова М.А., Бахытжан Н.Н., Мирзагаликова Б.В., Доктыбай Г. (2025). Скрининг и характеристика антагонистически и ферментативно активных штаммов *Bacillus* для пробиотического применения в птицеводстве [Text] / М.А. Абдулжанова и др. // Ғылым және білім. Наука и образование. Science and Education. – № 3-1 (80). – P. 134–144. <https://doi.org/10.52578/2305-9397-2025-3-1-134-144>. (In Russian)
14. Santivarangkna C., Higl B., Foerst P. (2008). Protection mechanisms of sugars during different stages of preparation process of dried lactic acid starter cultures [Text] / C. Santivarangkna et al. // Food Microbiology. – Vol. 25(3). – P. 429–441. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.12.004>.
15. Berner D., Viernstein H. (2006). Effect of protective agents on the viability of *Lactococcus lactis* subjected to freeze-thawing and freeze-drying [Text] / D. Berner, H. Viernstein // Scientia Pharmaceutica. – Vol. 74. – P. 137–149.
16. Abadias M., Benabarre A., Teixidò N., Usall J., Viñas I. (2001). Effect of freeze drying and protectants on viability of the biocontrol yeast *Candida sake* [Text] / M. Abadias et al. // International Journal of Food Microbiology. – Vol. 65. – P. 173–182.
17. Savedboworn W., Teawsomboonkit K., Surichay S., Riansa-Ngawong W., Rittisak S., Charoen R., Phattayakorn K. (2018). Impact of protectants on the storage stability of freeze-dried probiotic *Lactobacillus plantarum* [Text] / W. Savedboworn et al. // Food Science and Biotechnology. – Vol. 28(3). – P. 795–805. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0523-x>.
18. Wang J., Wu P., Dhital S., Yu A., Chen X. D. (2025). Impact of freezing and freeze drying on *Lactobacillus rhamnosus* GG survival: mechanisms of cell damage and the role of pre-freezing conditions and cryoprotectants [Text] / J. Wang et al. // Foods. – Vol. 14. – Art. 1817. <https://doi.org/10.3390/foods14101817>.
19. Shapiro S.S., Wilk M.B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples) [Text] / S. S. Shapiro, M. B. Wilk // Biometrika. – Vol. 52(3–4). – P. 591–611. <https://doi.org/10.2307/2333709>.
20. Levene H. (1960). Robust tests for equality of variances [Text] / H. Levene // In: Contributions to Probability and Statistics. Stanford University Press, Palo Alto. – P. 278–292. TUKEY JW. Comparing individual means in the analysis of variance. Biometrics. 1949 Jun;5(2):99-114. PMID: 18151955.
21. Kruskal W.H., Wallis W.A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis [Text] / W.H. Kruskal, W.A. Wallis // Journal of the American Statistical Association. – Vol. 47(260). – P. 583–621. <https://doi.org/10.2307/2280779>.
22. Virtanen P., Gommers R., Oliphant T. E. et al. (2020). SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python [Text] / P. Virtanen et al. // Nature Methods. – Vol. 17. – P. 261–272. <https://doi.org/10.1038/s41592-019-0686-2>.
23. McKinney W. (2010). Data structures for statistical computing in Python [Text] / W. McKinney // Proceedings of the 9th Python in Science Conference. Austin, USA. – P. 56–61. <https://doi.org/10.25080/Majora-92bf1922-00a>.
24. Oluwatosin S.O., Tai S.L., Fagan-Endres M.A. (2022). Sucrose, maltodextrin and inulin efficacy as cryoprotectant, preservative and prebiotic – towards a freeze dried *Lactobacillus plantarum* topical probiotic [Text] / S.O. Oluwatosin, S.L. Tai, M.A. Fagan-Endres // Biotechnology Reports. – Vol. 33. – e00696. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00696>.
25. Bagad M., Pande R., Dubey V., Ghosh A. R. (2017). Survivability of freeze-dried probiotic *Pediococcus pentosaceus* strains GS4, GS17 and *Lactobacillus gasseri* (ATCC 19992) during storage with commonly used pharmaceutical excipients within a period of 120 days [Text] / M. Bagad et al. // Asian

- Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – Vol. 7(10). – P. 921–929. <https://doi.org/10.1016/j.apitb.2017.09.005>.
26. Li C., Zhao K., Ma L., Zhao J., Zhao Z. M. (2022). Effects of drying strategies on sporulation and titer of microbial ecological agents with *Bacillus subtilis* [Text] / C. Li et al. // *Frontiers in Nutrition*. – Vol. 9. – Art. 1025248. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1025248>.
27. Setlow P. (2006). Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals [Text] / P. Setlow // *Journal of Applied Microbiology*. – Vol. 101. – P. 514–525. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02736.x>.
28. Bodzen A., Jossier A., Dupont S., Mousset P.Y., Beney L., Lafay S., Gervais P. (2021). Increased survival of *Lactococcus lactis* strains subjected to freeze-drying after cultivation in an acid medium: involvement of membrane fluidity [Text] / A. Bodzen et al. // *Food Technology and Biotechnology*. – Vol. 59(4). – P. 443–453. <https://doi.org/10.17113/ftb.59.04.21.7076>.
29. Nguyen H.T., Truong D.H., Kouhondé S., Ly S., Razafindralambo H., Delvigne F. (2016). Biochemical engineering approaches for increasing viability and functionality of probiotic bacteria [Text] / H.T. Nguyen et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – Vol. 17(6). – Art. 867. <https://doi.org/10.3390/ijms17060867>.
30. Van Engeland C., Haut B., Debaste F. (2025). A closer look at the potential mechanisms of action of protective agents used in the drying of microorganisms: a review [Text] / C. Van Engeland et al. // *Microorganisms*. – Vol. 13(2). – Art. 435. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020435>.
31. Guyvinska S.O., Paliy A.P., Dunaeva O.V., Paliy A.P., Berezhna N.V. (2018). Biotechnology production of medium for cultivation and lyophilization of lactic acid bacteria [Text] / S.O. Guyvinska et al. // *Ukrainian Journal of Ecology*. – Vol. 8(2). – P. 5–11. https://doi.org/10.15421/2018_302.
32. Грачева И.В., Осин А.В. (2016). Механизмы повреждений бактерий при лиофилизации и протективное действие защитных сред [Text] / И. В. Грачева, А. В. Осин // Проблемы особо опасных инфекций. – № 3. – P. 5–12. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-3-5-12>. (In Russian)
33. Betoret E., Betoret N., Calabuig-Jiménez L., Barrera C., Dalla Rosa M. (2020). Effect of drying process, encapsulation, and storage on the survival rates and gastrointestinal resistance of *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* included into a fruit matrix [Text] / E. Betoret et al. // *Microorganisms*. – Vol. 8. – Art. 654. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050654>.
34. Pyar H. (2016). Investigation of cryoprotection on the viability of freeze-dried probiotics [Text] / H. Pyar // *Malaysian Journal of Microbiology*. – Art. S02116. <https://doi.org/10.21161/MJM.S02116>.
35. García-Robles G., Fajardo-Robledo N.S., Ruvalcaba-Gómez J.M., Solís-Pacheco J.R., Villarruel-López A., Aguilar-Uscanga B.R. (2025). Assessment of the stability and viability of a probiotic formulation with strains of *Lactiplantibacillus* LH05 and LH06 isolated from breast milk [Text] / G. García-Robles et al. // *Journal of Food Science & Nutrition*. – Art. 100222. <https://doi.org/10.24966/FSN-1076/100222>.

References:

1. Vieco-Saiz N., Lemâle O., Evans N.P., Quinteiro-Filho W.M., Mellouk A., Consuegra J., Yakout H., Goossens T. (2025). Winning the battle of intestinal peace with *Bacillus* — a multifaceted approach to animal health, immunity, and future applications in monogastric livestock production [Text] / N. Vieco-Saiz et al. // *Frontiers in Microbiology*. – Vol. 16. – Art. 1711747. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1711747>.
2. Šimunović K., Rezar V., Štefanič P. et al. (2025). Probiotic effect of *Bacillus subtilis* PS-216 in broiler chickens: modulation of weight, feed conversion, short-chain fatty acids, microbiota and meat quality [Text] / K. Šimunović et al. // *Animal Microbiome*. – Vol. 7. – Art. 121. <https://doi.org/10.1186/s42523-025-00489-7>.
3. Cai Y., Xiao C., Tian B., Sandvang D., Meuter A., Song B., Song Z. (2024). Dietary probiotic based on a dual-strain *Bacillus subtilis* improves immunity, intestinal health, and growth performance of broiler chickens [Text] / Y. Cai et al. // *Journal of Animal Science*. – Vol. 102. – Art. skae183. <https://doi.org/10.1093/jas/skae183>.
4. Eyre K.E., Pan L., Harper K., Prada e Silva L.F. (2025). The effect of a *Bacillus*-based probiotic on feed intake and digestibility of a forage and a feedlot diet in *Bos indicus* steers [Text] / K.E. Eyre et al. // *Veterinary and Animal Science*. – Vol. 29. – Art. 100463.
5. Park J.M., An B.K., Yang T.S., Kim K.E. (2024). Effects of single or combined feeding with *Bacillus subtilis* and organic acid mixture on egg production, physiological responses, and cholesterol level in chicken eggs [Text] / J.M. Park et al. // *Journal of Animal and Feed Sciences*. – Vol. 33(4). – P. 486–492.

<https://doi.org/10.22358/jafs/186959/2024>.

6. Ramlucken U., Laloo R., Roets Y., Moonsamy G., van Rensburg C. Jansen, Thantsha M.S. (2020). Advantages of *Bacillus*-based probiotics in poultry production [Text] / U. Ramlucken et al. // *Livestock Science*. – Vol. 241. – Art. 104215.
7. Calaca A.M.M., Figueiredo C.B., Silva M.B., Fernandes J.J.R., Fernandes M.H.M.R., Silva L.F., Couto V.R.M. (2022). Effect of a *Bacillus* probiotic strain on Nellore cattle finished on pasture during the dry season [Text] / A.M.M. Calaca et al. // *Livestock Science*. – Vol. 264. – Art. 105068. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.105068>.
8. Wang B., Middleton A., Gibson R., Khanolkar J., Klymenko O., Wu C.-Y. (2024). Understanding lethal mechanisms and preventive strategies in probiotic tablet production – a review [Text] / B. Wang et al. // *Powder Technology*. – Vol. 443. – Art. 119905. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2024.119905>.
9. Cutting S.M. (2011). *Bacillus* probiotics [Text] / S.M. Cutting // *Food Microbiology*. – Vol. 28(2). – P. 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.007>.
10. Osho S., Bolek K., Saddoris-Clemons K., Humphrey B., Garcia M. (2023). Impact of a direct-fed microbial supplementation on intestinal permeability and immune response in broiler chickens during a coccidia challenge [Text] / S. Osho et al. // *Frontiers in Microbiology*. – Vol. 14. – Art. 1283393. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1283393>.
11. Rahman M.R.T., Fliss I., Biron E. (2022). Insights in the development and uses of alternatives to antibiotic growth promoters in poultry and swine production [Text] / M.R.T. Rahman et al. // *Antibiotics (Basel)*. – Vol. 11(6). – Art. 766. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060766>.
12. Idowu P.A., Mbambalala L., Idowu A.P. (2025). Probiotics as sustainable alternatives to antibiotic growth promoters: mechanisms, applications, and future perspectives in livestock production [Text] / P.A. Idowu et al. // *Letters in Animal Biology*. – Vol. 5(1). – P. 129–142. <https://doi.org/10.6231/liab.v5i1.258>.
13. Abdulzhanova M.A., Bakhytzhana N.N., Mirzagalikova B.V., Doktybay G. (2025). Skrinig i kharakteristika antagonisticheskoi fermentativno aktivnykh shtammov *Bacillus* dlya probioticheskogo primeneniya v ptitsevodstve [Text] / M.A. Abdulzhanova et al. // *Gylim zhane bilim. Nauka i obrazovanie. Science and Education*. – No. 3-1 (80). – P. 134–144. <https://doi.org/10.52578/2305-9397-2025-3-1-134-144>. (In Russian)
14. Santivarangkna C., Higl B., Foerst P. (2008). Protection mechanisms of sugars during different stages of preparation process of dried lactic acid starter cultures [Text] / C. Santivarangkna et al. // *Food Microbiology*. – Vol. 25(3). – P. 429–441. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.12.004>.
15. Berner D., Viernstein H. (2006). Effect of protective agents on the viability of *Lactococcus lactis* subjected to freeze-thawing and freeze-drying [Text] / D. Berner, H. Viernstein // *Scientia Pharmaceutica*. – Vol. 74. – P. 137–149.
16. Abadias M., Benabarre A., Teixidó N., Usall J., Viñas I. (2001). Effect of freeze drying and protectants on viability of the biocontrol yeast *Candida sake* [Text] / M. Abadias et al. // *International Journal of Food Microbiology*. – Vol. 65. – P. 173–182.
17. Savedboworn W., Teawsomboonkit K., Surichay S., Riansa-Ngawong W., Rittisak S., Charoen R., Phattayakorn K. (2018). Impact of protectants on the storage stability of freeze-dried probiotic *Lactobacillus plantarum* [Text] / W. Savedboworn et al. // *Food Science and Biotechnology*. – Vol. 28(3). – P. 795–805. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0523-x>.
18. Wang J., Wu P., Dhital S., Yu A., Chen X.D. (2025). Impact of freezing and freeze drying on *Lactobacillus rhamnosus* GG survival: mechanisms of cell damage and the role of pre-freezing conditions and cryoprotectants [Text] / J. Wang et al. // *Foods*. – Vol. 14. – Art. 1817. <https://doi.org/10.3390/foods14101817>.
19. Shapiro S.S., Wilk M.B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples) [Text] / S.S. Shapiro, M.B. Wilk // *Biometrika*. – Vol. 52(3–4). – P. 591–611. <https://doi.org/10.2307/2333709>.
20. Levene H. (1960). Robust tests for equality of variances [Text] / H. Levene // In: *Contributions to Probability and Statistics*. Stanford University Press, Palo Alto. – P. 278–292. TUKEY JW. Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics*. 1949 Jun;5(2):99-114. PMID: 18151955.
21. Kruskal W.H., Wallis W.A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis [Text] / W.H. Kruskal, W.A. Wallis // *Journal of the American Statistical Association*. – Vol. 47(260). – P. 583–621. <https://doi.org/10.2307/2280779>.
22. Virtanen P., Gommers R., Oliphant T.E. et al. (2020). SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python [Text] / P. Virtanen et al. // *Nature Methods*. – Vol. 17. – P. 261–272. <https://doi.org/10.1038/s41592-019-0686-2>.

23. McKinney W. (2010). Data structures for statistical computing in Python [Text] / W. McKinney // Proceedings of the 9th Python in Science Conference. Austin, USA. – P. 56–61. <https://doi.org/10.25080/Majora-92bf1922-00a>.
24. Oluwatosin S.O., Tai S.L., Fagan-Endres M.A. (2022). Sucrose, maltodextrin and inulin efficacy as cryoprotectant, preservative and prebiotic – towards a freeze dried *Lactobacillus plantarum* topical probiotic [Text] / S.O. Oluwatosin, S.L. Tai, M.A. Fagan-Endres // Biotechnology Reports. – Vol. 33. – e00696. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00696>.
25. Bagad M., Pande R., Dubey V., Ghosh A. R. (2017). Survivability of freeze-dried probiotic *Pediococcus pentosaceus* strains GS4, GS17 and *Lactobacillus gasseri* (ATCC 19992) during storage with commonly used pharmaceutical excipients within a period of 120 days [Text] / M. Bagad et al. // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – Vol. 7(10). – P. 921–929. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.09.005>.
26. Li C., Zhao K., Ma L., Zhao J., Zhao Z. M. (2022). Effects of drying strategies on sporulation and titer of microbial ecological agents with *Bacillus subtilis* [Text] / C. Li et al. // Frontiers in Nutrition. – Vol. 9. – Art. 1025248. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1025248>.
27. Setlow P. (2006). Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals [Text] / P. Setlow // Journal of Applied Microbiology. – Vol. 101. – P. 514–525. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02736.x>.
28. Bodzen A., Jossier A., Dupont S., Mousset P. Y., Beney L., Lafay S., Gervais P. (2021). Increased survival of *Lactococcus lactis* strains subjected to freeze-drying after cultivation in an acid medium: involvement of membrane fluidity [Text] / A. Bodzen et al. // Food Technology and Biotechnology. – Vol. 59(4). – P. 443–453. <https://doi.org/10.17113/ftb.59.04.21.7076>.
29. Nguyen H.T., Truong D.H., Kouhouné S., Ly S., Razafindralambo H., Delvigne F. (2016). Biochemical engineering approaches for increasing viability and functionality of probiotic bacteria [Text] / H.T. Nguyen et al. // International Journal of Molecular Sciences. – Vol. 17(6). – Art. 867. <https://doi.org/10.3390/ijms17060867>.
30. Van Engeland C., Haut B., Debaste F. (2025). A closer look at the potential mechanisms of action of protective agents used in the drying of microorganisms: a review [Text] / C. Van Engeland et al. // Microorganisms. – Vol. 13(2). – Art. 435. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020435>.
31. Guyvinska S.O., Paliy A.P., Dunaeva O.V., Paliy A.P., Berezhna N.V. (2018). Biotechnology production of medium for cultivation and lyophilization of lactic acid bacteria [Text] / S.O. Guyvinska et al. // Ukrainian Journal of Ecology. – Vol. 8(2). – P. 5–11. https://doi.org/10.15421/2018_302.
32. Gracheva I.V., Osin A.V. (2016). Mekhanizmy povrezhdenii bakterii pri liofilizatsii i protektivnoe deistvie zashchitnykh sred [Text] / I.V. Gracheva, A.V. Osin // Problemy osobo opasnykh infektsii. – No. 3. – P. 5–12. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-3-5-12>. (In Russian)
33. Betoret E., Betoret N., Calabuig-Jiménez L., Barrera C., Dalla Rosa M. (2020). Effect of drying process, encapsulation, and storage on the survival rates and gastrointestinal resistance of *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* included into a fruit matrix [Text] / E. Betoret et al. // Microorganisms. – Vol. 8. – Art. 654. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050654>.
34. Pyar H. (2016). Investigation of cryoprotection on the viability of freeze-dried probiotics [Text] / H. Pyar // Malaysian Journal of Microbiology. – Art. S02116. <https://doi.org/10.21161/MJM.S02116>.
35. García-Robles G., Fajardo-Robledo N.S., Ruvalcaba-Gómez J.M., Solís-Pacheco J.R., Villarruel-López A., Aguilar-Uscanga B.R. (2025). Assessment of the stability and viability of a probiotic formulation with strains of *Lactiplantibacillus* LH05 and LH06 isolated from breast milk [Text] / G. García-Robles et al. // Journal of Food Science & Nutrition. – Art. 100222. <https://doi.org/10.24966/FSN-1076/100222>.

Information about the authors

M. Abdulzhanova – corresponding author, PhD, senior lecturer, NJC “Al-Farabi Kazakh national university”, Almaty, Kazakhstan; e-mail: malika.abdulzhanova@kaznu.edu.kz; ORCID: 0000-0001-7751-2256;

N. Bakhytzhan – intern, student, NJC “Al-Farabi Kazakh national university”, Municipal State Institution “Secondary School No. 9”, Department of Education of Almaty, Almaty, Kazakhstan; e-mail: nurassylbakh@gmail.com; ORCID: 0009-0002-1217-7754.