

Жизнеспособность криоконсервированных бифидобактерий в зависимости от суспензионной среды

А.В. СИДОРЕНКО¹, Г.И. НОВИК¹, И.П. ВЫСЕКАНЦЕВ²

¹Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Viability of Cryopreserved Bifidus Bacteria in Dependence on Suspension Media

A.V. SIDORENKO¹, G.I. NOVIK¹, I.P. VYSEKANTSEV²

¹Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

В связи с широким использованием бактерий рода *Bifidobacterium* в пищевой промышленности, медицине и ветеринарии, а также научных исследованиях разработка эффективного метода хранения производственных и коллекционных культур бифидобактерий имеет большое практическое значение.

В настоящее время одним из наиболее перспективных и надежных способов длительного хранения микроорганизмов является криоконсервация. При разработке технологических параметров криоконсервации важен подбор суспензионных сред, обеспечивающих сохранность максимального количества жизнеспособных клеток после замораживания.

Цель работы – изучение выживаемости бифидобактерий после криоконсервации в зависимости от суспензионной среды.

Криоконсервации подвергали 18–20-часовые культуры бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum* 791, *B. longum* B379M и *B. adolescentis* 94 БИМ, выращенные при 37°C в среде MRS-C. В качестве суспензионных сред испытывали физиологический раствор (ФР), 1%-ю пептонную воду (ПВ) и стерильную среду MRS-C. Замораживали образцы по быстрому (погружение в жидкий азот) и медленному (1°C/мин) режимам охлаждения. Исследование выживаемости бифидобактерий после криоконсервации с быстрым охлаждением показало статистически значимое снижение жизнеспособности клеток, суспендированных в ФР и ПВ, в то время как жизнеспособность клеток, замороженных в среде MRS-C, существенно не изменялась. После замораживания с медленной скоростью охлаждения наблюдались достоверное снижение количества жизнеспособных клеток, криоконсервированных в ФР, и 90–100%-я выживаемость клеток, суспендированных в ПВ и среде MRS-C. Развитие периодических культур бифидобактерий, замороженных в ФР и ПВ, характеризовалось удлинением лаг-фазы и снижением скорости роста на начальных этапах развития популяции. Показатели накопления биомассы и активности кислотообразования через 24 ч культивирования, полученные для криоконсервированных клеток, достоверно не отличались от величин интактных клеток, независимо от суспензионной среды и скорости охлаждения. При изучении активности развития бифидобактерий в молоке и питательной среде с pH 5,0 установлено, что развитие культур, замороженных в ФР и ПВ, характеризовалось существенным снижением скорости роста, в то время как замедления роста бифидобактерий, криоконсервированных в MRS-C, не отмечалось.

Таким образом, наиболее выраженным защитным действием при криоконсервации бифидобактерий обладала среда MRS-C. Пептонная вода проявляла хорошие протекторные свойства при замораживании с медленным охлаждением и была менее эффективной защитной средой при быстром охлаждении образцов.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ, грант № Б07К-024.

Due to wide use of bacteria *Bifidobacterium* species in food industry, medicine and veterinary and scientific researches, the development of effective storage method of productional and collection cultures of bifidus bacteria has a practical importance.

Now one of the most perspective and safe methods of long-term storage of microorganisms is cryopreservation. When developing the technological parameters of cryopreservation the selection of suspension media is important, providing survival of maximal number of viable cells after freezing.

The research aim was to study the survival of bifidus bacteria after cryopreservation depending on suspension medium.

The *Bifidobacterium bifidum* 791, *B. longum* B379M and *B. adolescentis* 94 BIM bifidus bacteria of 18–20 hrs' cultures, grown at 37°C in MRS-C medium were cryopreserved. As suspension media the physiologic solution (PS), 1% peptone water (PW) and MRS-C sterile medium were investigated. The samples were frozen by rapid (plunging into liquid nitrogen) and slow (1°C/min) cooling regimens. Investigation of bifidus bacteria survival after cryopreservation with rapid cooling has shown the significant decrease viability of cells suspended in PS and PW, while viability of cells, frozen in MRS-C medium, did not change significantly. After freezing with slow cooling rate the significant decrease of cell viability amount, cryopreserved in PS and 90–100% survival of cells suspended in PW and MRS-C medium has been observed. Development of periodical cultures of bifidus bacteria, frozen in PS and PW, was characterized by extension of lag phase and decrease of growth rate at initial stages of population development. The indices of biomass accumulation and acid formation activity in 24 culturing hrs, obtained for cryopreserved cells did not significantly change from the values of intact cells and did not depend on suspension medium and cooling rate. When studying the activity of bifidus bacteria developing in milk and nutrient media with pH 5.0 it has been established that the development of cultures, frozen in PS and PW was characterized by significant decrease of growth rate, while growth decrease of bifidus bacteria, cryopreserved in MRS-C was not noted.

Thus, the most expressed protection at cryopreservation of bifidus bacteria had the MRS-C medium. Peptone water manifested protective properties during freezing with slow cooling and was less effective protective medium at rapid cooling of the samples.

The work has been carried out with financial support of Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research, grant №B07024.