

# Влияние среды культивирования на жизнеспособность бифидобактерий после криоконсервации

А.В. СИДОРЕНКО, Г.И. НОВИК

Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск

## Effect of Medium Culturing on Bifidus Bacteria Viability After Cryopreservation

A.V. SIDORENKO, G.I. NOVIK

Institute of Microbiology of the National Academy of Science of Belarus, Minsk, Belarus

Криоконсервация является эффективным методом хранения производственных и коллекционных культур, обеспечивающим сохранность жизнеспособности, основных морфофункциональных и генетических свойств микроорганизмов в течение длительного времени. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют, что жизнеспособность микроорганизмов после криоконсервации зависит от ряда факторов, в частности среды, используемой для культивирования клеток перед замораживанием.

Цель работы – изучить влияние среды культивирования на выживаемость бифидобактерий после криоконсервации.

Объектом исследований служил штамм *Bifidobacterium adolescentis* 94 БИМ. Криоконсервации подвергали 18–20-часовые культуры, выращенные при 37°C в следующих средах: MRS с добавлением 0,05% L-цистеина (MRS-C), “Бифидум” (БД) и тиогликолевой (ТГ). В качестве суспензионной среды применяли физиологический раствор. Образцы замораживали путем непосредственного погружения в жидкий азот.

При исследовании жизнеспособности бифидобактерий после криоконсервации установлено, что выживаемость клеток, выращенных в среде MRS-C (82%), достоверно выше клеток, выращенных в средах ТГ (50,9%) и БД (48,1%). В то же время показатели накопления биомассы и активности кислотообразования через 24 ч культивирования, полученные для криоконсервированных клеток независимо от среды культивирования перед замораживанием, практически не отличались от величин, полученных для интактных клеток. Изучение устойчивости бифидобактерий к действию стрессовых факторов выявило существенное увеличение чувствительности криоконсервированных культур к кислотному шоку: выживаемость клеток, выращенных в среде MRS-C, снижалась на 23,3%, БД – 25%, ТГ – 28,7% по отношению к показателям выживаемости интактных клеток. Устойчивость бифидобактерий к тепловому шоку после криоконсервации независимо от среды предварительного культивирования достоверно не изменялась.

Полученные данные свидетельствуют, что оптимальной средой для культивирования бифидобактерий перед замораживанием является MRS-C, применение которой позволяет повысить выживаемость и уменьшить количество нелетальных повреждений, развивающихся в клетках данных микроорганизмов на этапах замораживания-отогрева.

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

Cryopreservation is effective method of storage of commercial and collection cultures, providing the preservation of viability and basic morphofunctional and genetic properties of microorganisms for the long time. Numerous experimental data testify that the microorganism viability after cryopreservation depends on several factors, particularly, the medium used for the cell culturing prior to freezing.

The research aim was to study the effect of culturing on viability of bifidus bacteria after cryopreservation.

The research object was *Bifidobacterium adolescentis* 94 BIM strain. The cultures of 18–20 hrs were exposed to cryopreservation, grown at 37°C in following media: MRS with adding of 0.05% L-cysteine (MRS-C), “Bifidum” (BD) and thioglycolate (TG). As the suspension medium the physiological solution was used. The samples were frozen by a direct plunging into liquid nitrogen.

When investigating the viability of bifidus bacteria after cryopreservation, it has been established, that survival of cells, grown in the MRS-C (82%) medium was significantly higher if compared to the cells grown in TG (50.9%) and BD (48.1%). At the same time the indices of biomass accumulation and activity of acid production over 24 hrs of culturing, obtained for the frozen-thawed cells independently on medium of culturing prior to freezing, practically did not differ from the intact cells. Studying of bifidus bacteria resistance to the stress effect revealed the significant increase in sensitivity of frozen-thawed culture to the heat shock: survival of cells, grown in MRS-C medium decreased to 23.3%, 25% for BD, 28.7% for TG comparing to survival indices of intact cells. The resistance of bifidus bacteria to thermal shock after freeze-thawing irrespectively to the preculturing media did not change significantly.

Obtained data testify to the fact that the optimal media for culturing of bifidus bacteria prior to freezing is MRS-C, which application enables to increase the survival and to decrease the number of nonlethal damages, appearing in cells of the studied microorganisms at the stages of freeze-thawing stages.

The work was carried out with financial support from Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research., grant № B07K-024.