

ИССЛЕДОВАНИЕ СОХРАНЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БИФИДОБАКТЕРИЙ ПРИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ В ГЛИЦЕРОЛЕ

Г.И. Новик, Н.И. Астапович, Б. Шостко*, А. Гамьян*

Институт микробиологии НАН Беларуси. г. Минск, Беларусь. natali@mbio.bas-net.by

*Институт иммунологии и экспериментальной терапии им. Людвига Гиршфельда
ПАН. г. Вроцлав, Польша. gamian@iitd.pan.wroc.pl

Бифидобактерии - грамположительные, анаэробные, неспорообразующие бактерии, являются естественными обитателями желудочно-кишечного тракта человека и животных [1]. На основе бифидобактерий созданы лечебно-профилактические препараты - про-, пре-, и синбиотики, эффективные при острых и хронических кишечных инфекциях, аллергических, иммунодефицитных состояниях и других заболеваниях. С этой точки зрения, представляется необходимым детальное изучение биологии микроорганизмов рода *Bifidobacterium*.

Для развития современных технологий производства биопрепаратов нового поколения актуальным является разработка принципов длительного сохранения жизнеспособности и физиолого-биохимических свойств бифидобактерий. Ранее нами детально описаны условия хранения промышленных штаммов бифидобактерий при субкультивировании, лиофилизации и криоконсервации в жидком азоте [2]. Целью настоящей работы явилось исследование возможности длительного сохранения жизнеспособности и биологических свойств бифидобактерий при криоконсервации в глицероле. Используемая методология доступна и в настоящее время широко применяется в биотехнологии и медицинской промышленности для хранения различных биологических объектов.

Исследовано сохранение жизнеспособности и физиолого-биохимических свойств *Bifidobacterium bifidum* №791, *Bifidobacterium adolescentis* MC-42, *Bifidobacterium adolescentis* 94-БИМ, *Bifidobacterium longum* В 379 М при криоконсервации в глицероле. Условия хранения: концентрация глицерола - 50 - 80%, температура хранения - (-80) °С, срок хранения 6 лет, исходная концентрация клеток бифидобактерий (КОЕ/мл) ~ 10^9 - 10^{10} , уровень кислотообразования (рН) ~ 4,5 - 5,0. Хранение популяций исследованных штаммов бифидобактерий характеризовалось различной интенсивностью пролиферации и ацидогенеза клеток при репарации. Для штаммов с более высокой активностью роста (*Bifidobacterium adolescentis* MC-42, *Bifidobacterium adolescentis* 94-БИМ) характерно более быстрое максимальное накопление клеток и конечных продуктов метаболизма (ацетата и лактата) при пересеве на свежие порции типовых питательных сред. Способность к росту популяции сохранялась для *Bifidobacterium bifidum* №791, *Bifidobacterium adolescentis* MC-42, *Bifidobacterium adolescentis* 94-БИМ, *Bifidobacterium longum* В 379 М для в течение 365 суток при показателе КОЕ/мл ~ 10^7 - 10^9 . В целом, при первом - третьем пассажах культур на средах ВНВ или TSB наблюдалось восстановление численности популяций и физиолого-биохимических свойств бифидобактерий к 48-72 часам роста. Оценка морфологического статуса популяций бифидобактерий показала, что в культурах преобладают палочковидные и коккоидные формы [3-4].

Криоконсервация культур в глицероле в течение 6 лет позволяет сохранить биологически важные свойства исследованных штаммов. В процессе хранения штаммы были проверены по признаку сохранения способности продукции иммуногенных субстанций - полисахаридов и гликолипидов. Полученные нами данные

свидетельствуют об использовании популяциями бифидобактерий программ осуществления сохранения жизнеспособных форм при криоконсервации, способных к росту, воспроизведению и реверсии в исходные клетки. Дальнейшая детализация особенностей использования популяцией бифидобактерий регуляторных возможностей при состояниях покоя и анабиоза представляет значительный теоретический и практический интерес с точки зрения направленного использования данных свойств в биотехнологии производства биопрепаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Poupard J.A., Husain I., Norris R.F. Biology of the Bifidobacteria // *Bacteriol. Rev.* 1973. V.37. № 32. P. 136-165.
2. Новик Г.И., Астапович Н.И., Кадникова Н.Г., Рябая Н.Е. Сохранение жизнеспособности и физиологических свойств бифидобактерий при криоконсервации и лиофилизации // *Микробиология.* 1998. Т.67, № 5. С. 637-642.
3. Новик Г.И., Высоцкий В.В. Репродукция и дифференциация клеток в цикле развития популяций *Bifidobacterium adolescentis* и *Bifidobacterium bifidum* // *Микробиология.* 1996. Т.65. № 3. С. 357-364.
4. Новик Г.И. Исследование структурно-функциональной организации бифидобактерий // *Микробиология.* 1998. Т.67. № 3. С. 376-383.