

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ЗАКВАСОК

Данная работа посвящена проблеме сохранения жизнеспособности, стабильности и активности термофильных молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus bulgaricus* при криоконсервации. Исследовано влияние различных режимов замораживания и низкотемпературного хранения на физико-химические и микробиологические показатели, а также стабильность ДНК заквасок, содержащих термофильные молочнокислые бактерии *L. acidophilus* и *L. bulgaricus*. На основании проведенных исследований определена оптимальная температура замораживания и хранения заквасок термофильных молочнокислых бактерий.

Криоконсервирование, режимы и условия замораживания, закваски термофильных молочнокислых бактерий, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*.

Введение

Криоконсервация – совокупность методов хранения биологических объектов при низких температурах. Теоретическая основа криоконсервации – криобиология – раздел биологии, изучающий действие на живые системы низких и сверхнизких температур – от 0 °С до близких к абсолютному нулю. Основные задачи криобиологии – изучение жизни в условиях холода, выяснение причин устойчивости организмов к переохлаждению и замерзанию, исследование повреждающего действия низких температур [1].

При замораживании микроорганизмов большинство воды превращается в лед и клеточный метаболизм прекращается. Поэтому с точки зрения теоретической криобиологии процесс криоконсервирования рассматривают как способ перевода клетки в состояние глубокого холодового анабиоза с последующим возвратом в исходное состояние [2].

Молочнокислые бактерии совершенно необходимы для поддержания нормальной работы микрофлоры кишечника человека. Как известно, микрофлора кишечника принимает участие в обмене веществ, синтезе витаминов и ряда биологически активных соединений, обладает антагонистической активностью по отношению к патогенным и условно-патогенным бактериям, выполняя тем самым защитную функцию в организме. Очень важна роль микробной флоры кишечника в формировании иммунобиологической реактивности организма.

Молочнокислые бактерии семейства *Lactobacillaceae* (*Lactobacillus acidophilus* и *Lactobacillus bulgaricus*) входят в состав большинства заквасок, используемых для производства таких кисломолочных продуктов, как ацидофильное молоко, ацидофилин, ацидофильная паста, детские ацидофильные смеси, кисломолочные продукты с использованием бифидобактерий, йогурт, простокваша южная, ряженка и варенец.

Бактериальная закваска играет определяющую роль в производстве кисломолочных продуктов. Качество бактериальной закваски, в свою очередь, зависит от применяемой для ее производства технологии, а также от тщательной селекции, сохранения и последующего культивирования микрофлоры закваски. Чтобы иметь постоянный запас микроорганизмов для приготовления производст-

венной закваски, необходимо тщательно сохранять исходные (стартерные) культуры. Эффективным способом хранения бактериальных заквасок является криоконсервирование.

Метод криоконсервации имеет ряд преимуществ, поскольку сохраняемые таким образом микроорганизмы могут использоваться в технологическом процессе сразу же после отогрева, что позволяет сократить адаптационный период у бактериальных культур, в то время как использование лиофилизированных объектов требует длительной процедуры репарации [1, 3–5].

В связи с вышеизложенным актуальной является проблема длительного сохранения заквасок, содержащих термофильные молочнокислые бактерии.

Целью данной работы являлось исследование свойств криоконсервированных заквасок, содержащих промышленно-ценные штаммы *L. bulgaricus* и *L. acidophilus*.

Материалы и методы

Для получения лабораторных заквасок были использованы лиофилизированные бактериальные заквасочные культуры производства ООО «Барнаульская биофабрика»: *L. bulgaricus* (БПВ – болгарская палочка вязкая, БПНВ – болгарская палочка не вязкая); *L. acidophilus* (АПВ – ацидофильная палочка вязкая, АПНВ – ацидофильная палочка не вязкая).

Для проведения исследований влияния замораживания и низкотемпературного хранения на стабильность ДНК молочнокислых бактерий использовались 10 штаммов промышленно значимых бактерий рода *Lactobacillus*, зарегистрированные во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) ФГУП ГосНИИгенетика, пять из которых по паспортным данным принадлежали к *L. acidophilus*, а другие пять – к *L. delbruesckii ssp. bulgaricus* (табл. 1).

Таблица 1

Штаммы микроорганизмов из ВКПМ (ГосНИИгенетика)

№ п/п	№ в коллекции ВКПМ	Название штамма
1	В-6551	L.a. T-3
2	В-8153	L.a. AE-5
3	В-194	L.a. 1k

4	B-8634	L.a. 3
5	B-5863	L.a. 57S
6	B-6516	L.d. b. 21
7	B-3964	L.d. b.
8	B-3141	L.d. b. Л20/2
9	B-6543	L.d. b. Б-259
10	B-6515	L.d. b. 19

В качестве среды культивирования молочнокислых бактерий использовали восстановленное сухое обезжиренное молоко, соответствующее требованиям ГОСТ Р 52090-2003, без посторонних привкусов и запахов, не содержащее ингибирующих веществ.

Стерилизацию молока проводили в автоклаве (стерилизатор паровой серии DGM, модель DGM-500) в течение 10–15 минут при давлении 0,1 МПа и температуре 121 ± 2 °С.

Приготовление лабораторной закваски осуществляли в стерильных условиях в боксе БАВ-ПЦР «Ламинар-С». Лиофилизированные заквасочные культуры вносили в охлажденное до 38–39 °С стерильное молоко и тщательно перемешивали. Скваживание проводили в термостате ТСО-1/80 СПУ при температуре 40–41 °С до образования сгустка требуемого качества.

В лабораторных заквасках определяли следующие физико-химические показатели: титруемую кислотность согласно ГОСТ 3624-92; активную кислотность (рН) согласно ГОСТ 26781-85; относительную вязкость при температуре 25 °С, используя капиллярный вискозиметр Оствальда; количество жизнеспособных молочнокислых микроорганизмов определяли методом предельных разбавлений по ГОСТ 10444.11-88 «Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов»; патогенную микрофлору по ГОСТ 9225-84.

Замораживание заквасок проводили при температурных режимах: –45, –25 и –10 °С на воздухе и в хладоносителе (тосол А-40). Для замораживания использовали специальные низкотемпературные камеры.

Измерение температур заквасок в процессе замораживания осуществляли посредством хромелькопелевых термоэлектрических преобразователей (термопар), сигнал которых воспринимался аналоговым модулем ввода МВА-8, преобразователем интерфейса АС-4 и фиксировался персональным компьютером.

Выделение ДНК молочнокислых бактерий осуществляли с помощью «Набора для выделения геномной ДНК из бактерий» компании «Синтол» (Москва) [6]. Амплификацию гена 16S рРНК проводили на приборе типа «Терцик» (Москва) с применением термостабильной Taq-полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск) согласно рекомендациям фирмы-производителя полимеразы. Для амплификации использовали видоспецифичные праймеры: 16SbulF: 5'- CAA CAG AAT CGC ATG ATT CAA GTT TG (26) и 16SbulR: 5'- ACC GGA AAG TCC CCA ACA CCT A (22) [6].

Результаты и их обсуждение

Основными показателями, характеризующими производственную пригодность заквасок, являются предел кислотообразования, активность сквашивания, структурно-механические свойства сгустка, микрокартина, органолептические свойства полученного сгустка и содержание жизнеспособной микрофлоры.

Полученные лабораторные закваски имеют белый, нежный и ровный сгусток с небольшим отделением сыворотки, у вязких заквасок АПВ и БПВ количество отделившейся сыворотки было немного больше, чем у невязких АПНВ и БПНВ, кисломолочные сгустки легко разбиваются и при перемешивании приобретают однородную консистенцию. Все полученные закваски обладают приятным ароматом, имеют кисломолочный вкус, без посторонних привкусов, запахов. Цвет сгустка молочно-белый, равномерный по всей массе. Патогенная микрофлора в полученных лабораторных заквасках отсутствует. Количество молочнокислых микроорганизмов в полученных заквасках приведено в табл. 2.

Таблица 2

Количество молочнокислых микроорганизмов в лабораторных заквасках

Бактериальная закваска	Количество молочнокислых микроорганизмов, КОЕ/см ³
АПВ	$1,1 \cdot 10^9$
БПВ	$6,0 \cdot 10^9$
АПНВ	$2,5 \cdot 10^9$
БПНВ	$3,0 \cdot 10^9$

Физико-химические показатели свежих лабораторных заквасок приведены в табл. 3.

Таблица 3

Физико-химические показатели свежих лабораторных заквасок

Бактериальная закваска	Время сквашивания, ч	Титруемая кислотность, °Т	рН	Относительная вязкость
АПВ	8	127	4,3	6,95
БПВ	8	138	4,2	4,31
АПНВ	14	111	4,3	2,43
БПНВ	16	136	4,2	1,75

Все полученные лабораторные закваски имеют необходимую кислотность, причем время сквашивания для вязких заквасочных культур АПВ и БПВ было в 2 раза меньше, чем для невязких – АПНВ и БПНВ. Относительная вязкость лабораторных заквасок, полученных из вязких заквасочных культур, в 2,6 раза больше, чем у заквасок из невязких заквасочных культур.

Следующим этапом исследования было изучение влияния низких температур на жизнеспособность микроорганизмов заквасок.

Устойчивость микроорганизмов к замораживанию зависит от нескольких факторов, таких как род

и вид микроорганизма, стадии их развития, температура, скорость замораживания, среда замораживания и время хранения. Действие низких температур на микроорганизмы характеризуется внутри- и внеклеточными изменениями. Максимальное повреждающее действие оказывает внутриклеточное образование льда, при этом происходит нарушение плазматических мембран и клеточных оболочек. Кроме того, образование льда приводит к повышению концентрации внутри- и внеклеточных растворов, что ведет к денатурации белков и нарушению барьеров проницаемости [7].

Свежеприготовленные закваски в стерильных условиях разливали в стерильные пробирки объемом 10 мл и далее замораживали. После замораживания пробирки с заквасками оставляли на хранение в термоизолированных контейнерах при температурах, соответствующих температурам замораживания. Замороженные закваски хранили в течение 6 месяцев.

Замороженные закваски (АПВ, АПНВ, БПВ, БПНВ) исследовали по микробиологическим и физико-химическим показателям. Перед проведением исследований закваски, замороженные при -10°C , размораживали в холодильной камере при температуре $4-8^{\circ}\text{C}$. Закваски, замороженные при -25°C и -45°C , размораживали в водяной бане при 20°C .

Зависимость количества молочнокислых микроорганизмов от способов замораживания и продолжительности хранения лабораторных заквасок представлена в табл. 4.

Температура и скорость замораживания способны в значительной степени повлиять на выживаемость микроорганизмов. На протяжении всего периода хранения наилучшая выживаемость микроорганизмов отмечена в заквасках, замороженных в хладонносителе при -45°C . Через 6 мес. хранения она составила в среднем 17 % от исходного количества микроорганизмов т.е. количество микроорганизмов уменьшилось меньше чем на порядок. Выживаемость микроорганизмов в заквасках, замороженных на воздухе при -45°C , была несколько ниже – через 6 мес. количество микроорганизмов уменьшилось примерно в 10 раз по сравнению с исходным количеством. Количество микроорганизмов в заквасках, замороженных при -25°C , составило в среднем 5–10 % от исходного в зависимости от режима замораживания. Наименьшая выживаемость микроорганизмов отмечена в заквасках, замороженных при -10°C .

Таблица 4

Количество молочнокислых микроорганизмов в лабораторных заквасках после замораживания

Срок хранения, сут.	Количество микроорганизмов, КОЕ/г · 10 ⁻⁹					
	t = -10 °C		t = -25 °C		t = -45 °C	
	1*	2**	1	2	1	2
АПВ						
1	0,90	0,90	0,81	0,90	0,90	1,0
14	0,40	0,40	0,60	0,75	0,75	0,9
30	0,25	0,25	0,44	0,60	0,60	0,70
60	0,08	0,08	0,26	0,44	0,44	0,50

90	0,03	0,03	0,15	0,30	0,30	0,30
180	0,009	0,009	0,09	0,13	0,13	0,20
АПНВ						
1	1,10	1,20	1,30	2,00	2,00	2,50
14	0,20	0,25	1,20	2,00	2,00	2,00
30	0,020	0,025	1,20	1,20	1,30	1,30
60	0,012	0,013	0,60	0,70	0,70	1,30
90	0,009	0,010	0,30	0,30	0,70	0,70
180	0,007	0,010	0,20	0,20	0,30	0,50
БПВ						
1	2,19	3,00	4,50	4,60	5,21	6,00
14	1,10	2,10	3,30	3,80	4,00	4,50
30	0,50	1,30	2,50	3,00	3,50	3,60
60	0,08	0,45	1,50	2,00	2,20	2,50
90	0,03	0,12	0,60	1,10	1,50	1,70
180	0,009	0,009	0,30	0,50	0,5	1,10
БПНВ						
1	1,10	1,20	1,90	2,00	2,50	2,70
14	0,30	0,50	1,40	1,50	2,00	2,20
30	0,10	0,25	1,10	1,20	1,60	2,00
60	0,01	0,07	0,60	0,70	1,1	1,40
90	0,007	0,007	0,30	0,45	0,80	1,10
180	0,003	0,005	0,12	0,20	0,30	0,50

* Замораживание в воздушной среде.

** Замораживание в среде хладонносителя.

Достаточно высокую выживаемость микроорганизмов, замороженных в среде хладонносителя, можно объяснить следующим. Эффективность теплообмена при замораживании заквасок в жидком хладонносителе значительно выше, чем при замораживании в воздушной среде. Поэтому продолжительность замораживания заквасок будет значительно меньше, чем в воздушной среде, и, соответственно, скорость кристаллизации влаги выше на порядок при замораживании заквасок в жидком хладонносителе. При таких условиях замораживания сведены к минимуму деструктивные факторы, сопровождающие кристаллизацию влаги в клетках и межклеточном пространстве, которые являются причиной гибели большого числа микроорганизмов закваски.

Высокая выживаемость молочнокислых микроорганизмов после замораживания не является гарантией сохранения полноты их свойств и жизнеспособности. О функциональной активности бактерий изучаемых заквасок (АПВ, АПНВ, БПВ, БПНВ) судили по интенсивности кислотообразования. Активность кислотообразования определяли по времени достижения $\text{pH} = 4,5$ при культивировании микроорганизмов в сухом обезжиренном восстановленном молоке. В табл. 5 представлены данные об активности кислотообразования молочнокислых заквасок, замороженных в хладонносителе при -45°C .

Таблица 5

Активность кислотообразования лабораторных заквасок

Бактериальная закваска	Активность сквашивания 100 мл молока 1 мл закваски, ч	
	до замораживания	после замораживания
БЗ-АПВ	8	8–9

БЗ-БПВ	8	8–9
БЗ-АПНВ	14	14–15
БЗ-БПНВ	16	16–17

Анализ полученных данных показывает, что через 6 мес. хранения закваски сохранили высокую биохимическую активность, продолжительность сквашивания увеличилась всего на 1 час. Динамика роста молочнокислых микроорганизмов *L. acidophilus*, бактериальных заквасок АПВ и АПНВ, замороженных в среде хладоносителя при $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ и хранившихся в течение 6 мес., после размораживания представлена на рис. 1.

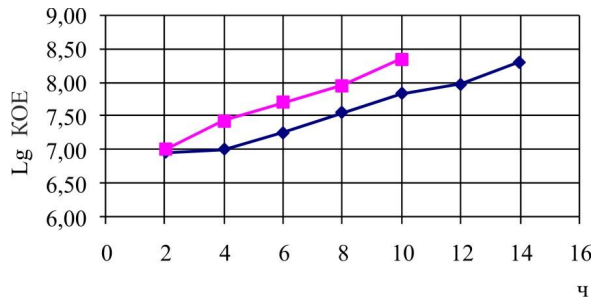


Рис. 1. Динамика роста молочнокислых микроорганизмов в процессе сквашивания молока заквасками: ■ – АПНВ; ■ – АПВ

Важным физико-химическим показателем закваски является вязкость. На рис. 2 и 3 представлены зависимости изменения относительной вязкости заквасочных культур БПВ и АПНВ под действием различных режимов замораживания и длительности хранения.

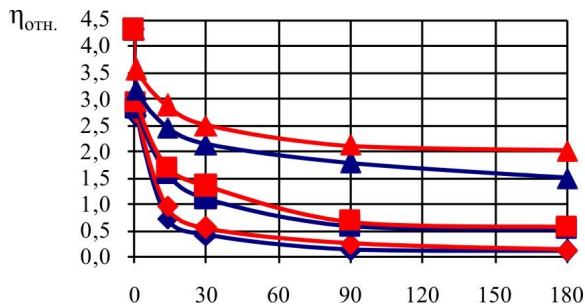


Рис. 2. Влияние режимов замораживания на изменение относительной вязкости закваски БПВ: замораживание в воздушной среде: ◆ – $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$; ■ – $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$; ▲ – $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$; замораживание в хладоносителе: ◆ – $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$; ■ – $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$; ▲ – $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$

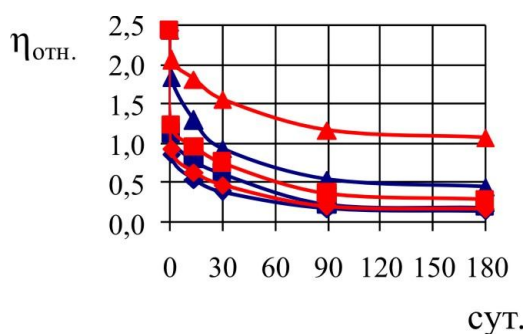


Рис. 3. Влияние режимов замораживания на изменение относительной вязкости закваски АПНВ: замораживание в воздушной среде: ◆ – $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$; ■ – $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$; ▲ – $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$; замораживание в хладоносителе: ◆ – $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$; ■ – $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$; ▲ – $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что наибольшее влияние на уменьшение относительной вязкости оказывает сам процесс замораживания, при этом относительная вязкость уменьшается в 1,5–6 раз в зависимости от вида заквасочной культуры и способа замораживания. Наибольшее уменьшение относительной вязкости в 6 раз отмечено для БПВ, замороженной в воздушной среде при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, а наименьшее снижение относительной вязкости отмечено для АПНВ, замороженной в хладоносителе при $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$. Различия в уменьшении относительных вязкостей бактериальных заквасок, замороженных при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ в воздушной среде и хладоносителе, незначительны. Относительная вязкость бактериальных заквасок, замороженных в воздушной среде, через 14 суток хранения уменьшилась в среднем в 4,6 раза, а в хладоносителе – в 3,7 раза.

Значительное снижение относительной вязкости бактериальных заквасок, замороженных в воздушной среде и в хладоносителе при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, можно объяснить тем, что при медленном замораживании происходит образование крупных кристаллов льда вне клеток, при этом изменяется первоначальное соотношение объемов межклеточного и внутриклеточного пространства за счет перераспределения влаги и фазового перехода воды.

При внеклеточном льдообразовании разрастание кристаллов льда в межклетниках вызывает уменьшение размеров клетки, что приводит к сжатию и образованию складок в оболочке, в результате чего происходит механическое повреждение протоплазмы. Обезвоживание клетки может привести к тесному соприкосновению лежащих друг против друга слоев протоплазмы. При поступлении в клетку воды во время оттаивания соединенные оболочки расходятся. При этом часто происходит отрыв протоплазмы от оболочек, приводящий к повреждению ее структуры [8]. Нарушение структуры замораживаемого объекта приводит к резкому уменьшению его вязкости.

Длительное хранение замороженных объектов при температуре $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ приводит к росту более крупных кристаллов за счет уменьшения мелких (рекристаллизация), что в свою очередь приводит к еще большему нарушению структуры замораживаемого объекта. У вязких заквасочных культур АПВ и БПВ было отмечено большее снижение относительной вязкости, чем у невязких АПНВ и БПНВ. Так, через 6 мес. хранения относительная вязкость АПВ и БПВ, замороженных на воздухе, уменьшилась в 45 раз, а у невязких заквасок БПНВ и АПНВ только в 25 и 16 раз соответственно.

Минимальное уменьшение вязкости наблюдали у заквасок, замороженных при $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$. Так, относительная вязкость заквасок, замороженных в воздушной среде, через 6 мес. хранения уменьшилась в

3,8 раза, а у заквасок, замороженных в хладоносителе, – в 2 раза. Такое незначительное уменьшение относительной вязкости объясняется высокой скоростью замораживания. Быстрое замораживание (температурные режимы -25 и -45 °C) предотвращает значительное диффузионное перераспределение влаги и растворенных веществ и способствует образованию мелких, равномерно распределенных кристаллов льда, что приводит к максимальному сохранению структуры объекта.

В дальнейшем изучалась морфология клеток молочнокислых микроорганизмов *L. bulgaricus* и *L. acidophilus* до и после замораживания. Морфология клеток зависит от многих факторов: условий культивирования, возраста культуры, состава среды. При культивировании на среде *Lactobacillus* MRS Агар бактерии имеют вид палочек, отдельных или собранных в цепочки.

После реактивации замороженные молочнокислые бактерии не имели каких-либо отклонений по морфологическим свойствам по сравнению с исходными культурами. Форма, величина и расположение клеток, а также величина колоний при их восстановлении в молоке и посеве на среду *Lactobacillus* MRS Агар оставались неизменными. Этот факт свидетельствует о соблюдении необходимых условий культивирования щадящих режимов криоконсервирования и низкотемпературного хранения.

Нами проведены исследования влияния замораживания и низкотемпературного хранения на стабильность ДНК 10 промышленно-ценных штаммов *L. acidophilus* и *L. delbrueskii ssp. bulgaricus* (см. табл. 1). Одноштаммовые закваски *L. acidophilus* и *L. delbrueskii ssp. bulgaricus* в стерильных условиях разливали в стерильные пробирки объемом 10 мл и замораживали при -45 °C в хладоносителе. Замороженные закваски хранили в термоизолированных контейнерах при -45 °C в течение 6 мес.

Выделение ДНК 10 штаммов *L. acidophilus* и *L. bulgaricus* осуществляли по методике, описанной в работе [6]. Электрофореграмма продуктов амплификации фрагмента ДНК гена 16S рРНК 10 штам-

мов молочнокислых бактерий с использованием видоспецифичных праймеров 16SbulF и 16SbulR после замораживания и хранения в течение 6 мес. представлена на рис. 4.

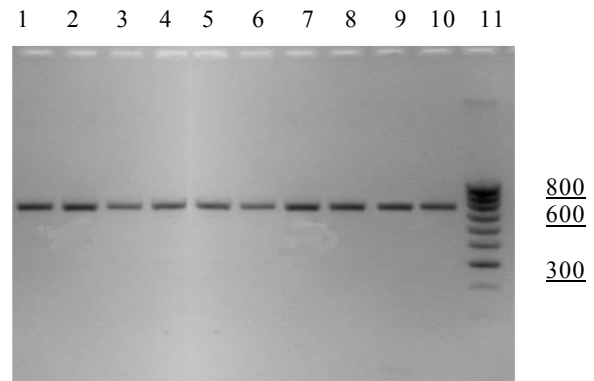


Рис. 4. Электрофореграмма продуктов амплификации фрагмента ДНК гена 16S рРНК молочнокислых бактерий: 1 – L.d. b. Б-259; 2 – L.d. b. 19; 3 – L.a. Т-3; 4 – L.a. АЕ-5; 5 – L.a.1k; 6 – L.a. 3; 7 – L.a. 57S; 8 – L.d. b. 21; 9 – L.d. b.; 10 – L.d. b. Л20/2; 11 – маркер молекулярного веса «Медиген» 400–2500 п.н.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что молекулярный вес и число фрагментов ДНК исследуемых бактерий после замораживания и хранения в течение 6 мес. не изменились, следовательно, молочнокислые бактерии должны сохранить свои морфологические и биохимические свойства.

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что температурный режим от -25 до -45 °C является наиболее оптимальным для замораживания и хранения исследованных заквасок термофильных молочнокислых бактерий *L. bulgaricus* и *L. acidophilus*. После размораживания закваски, хранившиеся в таких условиях, позволяют получить кисломолочные продукты с достаточно плотным сгустком, хорошими органолептическими показателями и высоким содержанием жизнеспособных микроорганизмов.

Список литературы

1. Рахуба, Д.В. Криоконсервация пробиотических микроорганизмов: научные основы практического использования / Д.В. Рахуба, Г.И. Новик // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. работ / Институт микробиологии НАН Беларуси. – Вып. 1. – Минск: И.П. Логинов, 2007. – С. 268–276.
2. Актуальные проблемы криобиологии / под ред. Н.С. Пушкаря, А.М. Белоуса. – Киев: Наук. думка, 1981. – 608 с.
3. Сотченко, О.Г. Кислотообразующая активность мезофильных лактококков, входящих в состав лиофилизированных и замороженных бактериальных концентратов / О.Г. Сотченко, Л.В. Сафроненко // Пищевая промышленность: наука и технологии. – 2009. – № 1 (3). – С. 14–18.
4. Хамагаева, И.С. Биотехнология заквасок пропионовокислых бактерий / И.С. Хамагаева, Л.М. Качанина, С.М. Гумурова. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2006. – 172 с.
5. Сотченко, О.Г. Разработка научно-технических принципов криозамораживания молочнокислых микроорганизмов / О.Г. Сотченко, С.В. Даник // ВЕСЦ НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ. – 2005. – № 5.
6. Беспоместных, К.В. Конструирование родоспецифичных и видоспецифичных праймеров для индикации и идентификации штаммов бактерий рода *Lactobacillus bulgaricus* / К.В. Беспоместных, О.О. Бабич, А.Ю. Просеков, Е.В. Короткая // Техника и технология пищевых производств. – 2010. – № 1. – С. 64–68.
7. Холодовой стресс и биологические системы / под ред. А.А. Цуцаевой. – Киев: Наук. думка, 1991. – 176 с.
8. Криобиология и биотехнология / А.А. Цуцаева и др.; под общ. ред. А.А. Цуцаевой. – Киев: Наук. думка, 1987. – 165 с.

SUMMARY

E.V. Korotkaya

Investigation of properties of cryopreserved lactic ferments

The work is devoted to preserving the viability, stability and activity of thermophilic lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* during cryopreservation. Effects of different regimes of freezing and low temperature storage on the physico-chemical and microbiological indices as well as the stability of the DNA of starters containing thermophilic lactic acid bacteria *L. acidophilus* and *L. bulgaricus* have been investigated. On the basis of these studies the optimum freezing and storage temperatures of starters of thermophilic lactic acid bacteria have been determined.

Cryopreservation, regimes and conditions of freezing, starters of thermophilic lactic acid bacteria, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*.

Kemerovo Institute of Food Science and Technology
47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia
Phone/Fax: +7(3842) 73-40-40
e-mail: office@kemtipp.ru

