

Сохранность иммобилизованных пробиотиков после замораживания-отогрева в модифицированных гелях альгината натрия

И.А. Буряк¹, Л.Г. Абрафикова¹, О.В. Пишко¹, О.М. Бабинец²

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²КУОЗ «Харьковская городская многопрофильная больница №18», г. Харьков

Survival of Immobilized Probiotics After Freeze-Thawing in Modified Gels of Sodium Alginate

I.A. Buriak¹, L.G. Abrafikova¹, O.V. Pishko¹, O.M. Babinets²

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

²Public Health Institution 'Kharkiv City Multidisciplinary Hospital №18', Kharkiv, Ukraine

В настоящее время интенсивно разрабатывают иммобилизованные пробиотические препараты. Основными методами консервирования пробиотических препаратов являются хранение при разных низких температурах и лиофилизация.

Цель нашей работы – изучение возможности повышения криозащитных свойств гелевой матрицы альгината натрия с помощью модификации активированным углем и хитозаном.

Эксперименты проводили с пробиотиками *S. boulardii* и *B. bifidum*. Носителями были гранулы альгината натрия. Гранулы с иммобилизованными микробными клетками получали капельным способом. Модифицировали носители по методикам, предложенным А.В. Корочинским (2014). Для создания хитозановой оболочки альгинатные гранулы выдерживали в течение часа в 0,4%-м растворе хитозана и затем высушивали. Для модификации гелевой матрицы активированным углем суспензии микробных клеток смешивали в соотношении 1:1 (v/v) с активированным углем. Полученную взвесь смешивали с равным количеством 2%-го раствора альгината натрия и вносили капельно в 0,2 М раствор кальция хлорида. Полученные образцы замораживали погружением криопробирок объемом 1,5 мл в жидкий азот и по 2-этапной программе: охлаждали до -70°C со скоростью 1 град/мин с последующим погружением в жидкий азот. Полученные результаты сравнивали с данными до замораживания.

Установлено, что на сохранность иммобилизованных микроорганизмов в процессе криоконсервирования оказывают влияние режимы охлаждения и модификация гелевых носителей. В медленно охлажденных образцах *S. boulardii* и *B. bifidum* количество жизнеспособных клеток в суспензии и альгинатных гранулах, без модификации и с модификацией активированным углем и хитозаном, не отличалось от исходного. После быстрого охлаждения образцов *S. boulardii* количество жизнеспособных клеток в суспензии, альгинатных гранулах, гранулах с хитозановой оболочкой и гранулах, модифицированных активированным углем, уменьшилось на 2,5; 1; 0,5 и 0,3 lg КОЕ/мл соответственно. После быстрого охлаждения образцов *B. bifidum* количество жизнеспособных клеток в суспензии, альгинатных гранулах, гранулах с хитозановой оболочкой и в гранулах, модифицированных активированным углем, уменьшилось на 1,8; 0,6; 0,3 и 0,2 lg КОЕ/мл соответственно.

Таким образом, модификация гелевых гранул хитозаном и активированным углем позволяет повысить сохранность клеток пробиотиков после криоконсервирования.

Currently the immobilized probiotics are intensively developed. The main methods of probiotics' preservation are storage at low temperatures and freeze-drying.

The aim of our work was to study the possibility of increasing the cryoprotective properties of the gel matrix of sodium alginate by modification with activated carbon and chitosan.

The experiments were carried out with the *S. boulardii* and *B. bifidum* probiotics. The carriers were sodium alginate granules with immobilised microbial cells were obtained using a drop method. The carriers have been modified according to the methods proposed by A.V. Korochinsky (2014). To create a chitosan shell, the alginate granules were incubated for an hour in a 0.4% chitosan solution and then dried. To modify the gel matrix with activated carbon, the microbial cell suspensions were mixed in a ratio of 1: 1 (v/v) with activated carbon. The resulting suspension was mixed with an equal amount of 2% sodium alginate and added dropwise to a 0.2 M calcium chloride. The obtained samples were frozen by immersing the tubes into liquid nitrogen and by a 2-stage program: cooled down to -70°C at the rate of 1 deg/min, followed by immersion in liquid nitrogen. The findings were compared with the data prior to freezing.

It has been established that the survival of immobilized microorganisms during cryopreservation was affected by cooling regimens and modification of gel carriers. In slowly cooled samples of *S. boulardii* and *B. bifidum*, the number of viable cells in the suspension and the alginate granules, with no modification and modified with activated carbon and chitosan, did not differ from the initial one. After rapid cooling of the samples of *S. boulardii*, the number of viable cells in the suspension, alginate granules, chitosan-coated granules, those modified with activated carbon decreased by 2.5; 1; 0.5 and 0.3 lg CFU/ml, respectively. After rapid cooling of *B. bifidum* samples, the number of viable cells in the suspension, alginate granules, chitosan-coated granules, and those modified with activated carbon decreased by 1.8; 0.6; 0.3 and 0.2 lg CFU/ml, respectively.

Thus, the modification of gel granules with chitosan and activated carbon enables increasing the survival of probiotic cells after cryopreservation.

