

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МЕТОД ХРАНЕНИЯ ПРОМЫШЛЕННОЦЕННЫХ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ХЛЕБНЫХ ЗАКВАСОК

Савкина О.А., канд. техн. наук; Терновской Г.В., канд. техн. наук;
Локачук М.Н.

Санкт-Петербургский филиал ГНУ ГОСНИИ хлебопекарной промышленности Россельхозакадемии, г. Санкт-Петербург

В статье представлены экспериментальные данные по жизнеспособности и биотехнологическим свойствам промышленноценных штаммов молочнокислых бактерий и дрожжей из коллекции для хлебопекарной промышленности при хранении их в замороженном состоянии.

Молочнокислые бактерии играют ведущую роль в брожении ржаных и пшеничных хлебных заквасок и в обеспечении качества хлебобулочных изделий, особенно с использованием ржаной муки. Для снабжения хлебопекарных предприятий чистыми культурами микроорганизмов необходимо постоянно поддерживать их в условиях музейной коллекции в активном состоянии, отслеживая сохранность биотехнологических свойств [1].

Известны способы хранения культур микроорганизмов методом периодических пересевов, под слоем минерального масла, в сухой стерильной почве и песке, в солевых растворах, в лиофилизированном состоянии и при низких температурах. В настоящее время молочнокислые бактерии в коллекции СПбФ ГОСНИИ хлебопекарной промышленности поддерживаются методом периодических пересевов [2]. Недостатками метода являются необходимость соблюдения регламентов пересевов, потребность в большом количестве посуды, питательных сред, значительные затраты времени, риск загрязнения культуры, ошибки при обозначении штаммов, случаи селекции, риски потерь культур [2, 3].

Перспективным методом долгосрочного хранения микроорганизмов является криоконсервация. Преимуществами криогенного хранения микроорганизмов являются малая вероятность заражения культуры, сохранение в стабильном состоянии свойств микроорганизмов, небольшие временные и материальные затраты, возможность использования замороженных культур в качестве прямого инокулята и исключение риска генетических изменений культур при хранении. Кроме того, как известно из литературы, культуры микроорганизмов, хранимые при низких температурах в замороженном состоянии, оказываются менее поврежденными и имеют более высокий уровень жизнеспособности, чем при высушивании и лиофилизации [3].

Целью настоящей работы явилось изучение влияния криоконсервации при минус 80°C на жизнеспособность и биотехнологические свойства молочнокислых бактерий из коллекции для хлебопекарной промышленности

для разработки методических рекомендаций по их криоконсервированию и использованию при производстве разных видов заквасок.

Объектами исследования явились 10 промышленноценных штаммов молочнокислых бактерий видов *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. fermentum* из коллекции «Молочнокислые бактерии и дрожжи для хлебопекарной промышленности» СПбФ ГНУ ГОСНИИХП Россельхозакадемии.

Влияние криоконсервации на жизнеспособность и биотехнологические свойства молочнокислых бактерий оценивали на плотных питательных средах по количеству колониеобразующих единиц, а также при выведении заквасок по разным технологическим схемам в сравнении с культурами, замороженными без криопротекторов и поддерживаемыми в музейной коллекции методом периодических пересевов.

При расसेве молочнокислых бактерий на плотные питательные среды установлено (таблица 1), что сохранение жизнеспособности клеток в процессе криоконсервации обусловлено их штаммовыми особенностями, начальной концентрацией клеток и наличием криопротекторов.

Установлено, что жизнеспособность МКБ, заложенных на хранение без криопротекторов через 24 месяца хранения снизилась до 72,1-85,3%. Криоконсервирование молочнокислых бактерий с использованием защитной среды (водный раствор, содержащий 30% глицерина и 17% сахарозы), обеспечивает высокую сохранность их жизнеспособности в течение 24 месяцев. Сравнение полученных данных с результатами опытов по замораживанию культур без криопротекторов, показало, что применение защитной среды и повышение концентрации клеток перед криоконсервацией при помощи центрифугирования позволило увеличить жизнеспособность промышленноценных штаммов молочнокислых бактерий с 72,1-85,3 % до 81,9 – 97,4% .

В жидких питательных средах у большинства штаммов МКБ, после замораживания с криопротекторами, наблюдался активный рост, подтверждаемый интенсивным равномерным помутнением среды, выделением пузырьков газа и хорошим кислотообразованием. При хранении МКБ без криопротекторов в течение 24 месяцев отмечалось снижение кислотообразующей активности у штамма *L. plantarum* 63 на 54%, а у остальных штаммов не более чем на 10-30% . При применении криопротекторов через 24 месяца хранения кислотообразование снизилось не более чем на 3- 12% (таблица 2).

Таблица 1

Влияние продолжительности хранения, увеличения начальной концентрации клеток и наличия криопротекторов на выживаемость разных штаммов МКБ в процессе криоконсервации при минус 80°С

Виды и штаммы молочнокислых бактерий	Выживаемость после замораживания в культуре молочнокислых бактерий (%), криоконсервированной в течение, мес							
	0		6		15		24	
	Без защитной среды	С защитной средой	Без защитной среды	С защитной средой	Без защитной среды	С защитной средой	Без защитной среды	С защитной средой
<i>L. brevis</i> 1	94,4	99,4	87,5	98,7	86,8	93,5	76,4	96,1
<i>L. casei</i> 26	94,6	99,2	83,5	86,5	79,7	86,5	72,1	81,9
<i>L. plantarum</i> 30	95,4	98,8	87,5	97,2	85,8	94,7	85,0	94,4
<i>L. fermentum</i> 34	95,4	100,0	86,3	90,9	77,8	91,8	77,1	89,3
<i>L. plantarum</i> 63	96,7	99,8	88,0	99,0	85,1	94,1	84,3	97,4
<i>L. brevis</i> 5	93,2	97,6	86,5	98,1	85,4	93,7	84,0	93,6
<i>L. brevis</i> 78	100,3	97,6	86,5	93,7	85,7	91,4	85,3	93,1
<i>L. brevis</i> E-36	99,0	98,2	85,3	93,0	82,4	88,8	80,2	95,9
<i>L. plantarum</i> И-30	96,8	97,7	85,8	94,8	84,1	96,6	83,8	93,7
<i>L. brevis</i> 13	90,2	97,3	78,7	85,7	76,5	85,3	72,6	86,0

Таблица 2

Влияние продолжительности замораживания молочнокислых бактерий на их кислотообразующую активность

Виды и штаммы молочнокислых бактерий	Титруемая кислотность через 48ч культивирования, град									
	исходной		криоконсервированной в течение, мес							
	Без защитной среды	С защитной средой	0		6		15		24	
Без защитной среды			С защитной средой	Без защитной среды	С защитной средой	Без защитной среды	С защитной средой	Без защитной среды	С защитной средой	
<i>L. brevis</i> 1	11,1	11,4	11,7	10,6	9,2	10,8	8,4	10,2	11,4	10,0
<i>L. casei</i> 26	17,0	17,6	16,4	17,6	7,6	15,8	15,4	16,0	16,0	13,0
<i>L. plantarum</i> 30	10,7	12,8	11,9	12,0	10,2	8,4	10,4	11,8	11,6	10,4
<i>L. fermenti</i> 34	12,7	11,8	11,9	11,8	8,4	11,0	10,2	11,4	10,6	10,4
<i>L. plantarum</i> 63	10,4	10,4	10,4	9,2	6,8	9,2	8,6	9,8	4,8	9,0
<i>L. brevis</i> 5	10,1	10,4	10,2	9,8	9,0	9,0	7,2	9,2	11,6	9,0
<i>L. brevis</i> 78	11,4	11,4	10,8	11,2	8,8	11,2	7,6	10,0	9,8	10,0
<i>L. brevis</i> E-36	10,7	9,4	10,9	9,0	9,8	8,4	9,4	9,2	9,2	8,2
<i>L. plantarum</i> И-30	11,5	10,6	10,2	12,4	9,6	9,2	9,2	9,4	9,0	10,0
<i>L. brevis</i> 13	12,2	10,4	11,2	10,4	10,6	10,2	8,8	9,2	8,4	9,0

Анализ биотехнологических показателей качества ржаных заквасок - густых, жидких с заваркой и без нее, показал, что при криоконсервации чистых культур молочнокислых бактерий с криопротекторами в течение 24 месяцев не отмечалось существенного изменения кислотообразующей

активности и объема по сравнению с заквасками на культурах, поддерживаемых в коллекции методом периодических пересевов.

Таким образом, культуры молочнокислых бактерий сохраняют свои биотехнологические свойства в течение 24 мес хранения в замороженном состоянии и могут быть использованы при выведении разных видов заквасок по разводочному циклу.

В результате исследований накоплены экспериментальные данные по жизнеспособности и биотехнологическим свойствам промышленноценных штаммов молочнокислых бактерий из коллекции для хлебопекарной промышленности при хранении их в замороженном состоянии. Разработана методика криоконсервации и реактивации промышленноценных штаммов молочнокислых бактерий из коллекции для хлебопекарной промышленности.

Литература

1. Афанасьева, О. В. Микробиология хлебопекарного производства /О.В.Афанасьева.; С. –Петер. Фил. Гос. НИИ хлебопекар. Пром-ти (СПб Ф ГосНИИХП). –СПб.: Береста, 2003. – 220с.

2. Каталог культур микроорганизмов «Молочнокислые бактерии и дрожжи для хлебопекарной промышленности» из Коллекции Санкт-Петербургского филиала ГНУ ГОСНИИХП Россельхозакадемии / О.В. Афанасьева, Е.Н. Павловская, Л.И. Кузнецова – М.: Россельхозакадемия, 2008. – 98с.

3. Сафронова, В.И. Методы консервации коллекционных культур микроорганизмов [Текст]: методические рекомендации/ В.И. Сафронова., Ю.С. Оследкин, О.В. Свиридова, Н.И. Воробьев.-Спб.:ГНУ ВНИИСХМ, 2007.- 32 с.