

## Вплив температур зберігання на життєздатність клітин *Escherichia coli* M-17

Т.В. Дорофєєва<sup>1</sup>, О.В. Кудокоцева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>КЗОЗ Харківська обласна клінічна лікарня №1

<sup>2</sup>Інститут проблем криобіології і криомедицини НАН України, м. Харків

## Effect of Storage Temperatures on *Escherichia coli* M-17 Cell Viability

T.V. Dorofeyeva<sup>1</sup>, O.V. Kudokotseva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kharkiv Regional Clinical Hospital N1, Kharkov, Ukraine

<sup>2</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

У сучасному біотехнологічному виробництві усе частіше використовують консервованій посівний матеріал, який важливо стандартизувати і зберігати в необхідній кількості. Було досліджено вплив температурних режимів зберігання на життєздатність пробіотичного штаму *Escherichia coli* M-17. Для цього клітини *E. coli* M-17 суспендували в рідкому живильному середовищі М9 та поміщали в блоки гелів альгінату натрію та к-карагінану і спостерігали за зразками протягом 6 місяців та 1 року. Зразки зберігали за температур 4, –20, –80, –196°C. При температурі 4°C значущого зниження життєздатності бактерій не відмічено. Впродовж 6-ти місяців кількість життєздатних клітин знижувалася на 0,75 lg числа КУО/мл, а впродовж 12-ти місяців – на 1,47 lg числа КУО/мл у порівнянні з контролем. Під час зберігання при –20°C кількість життєздатних клітин поступово зменшувалась та після 12-ти місяців знизилась у 1,8 раза. Після зберігання клітин у середовищі М9 при –80°C протягом 12-ти місяців кількість життєздатних клітин залишалася на тому ж рівні. Під час зберігання клітин у середовищі М9 при –196°C їх життєздатність також залишалася на початковому рівні протягом 12-ти місяців. Під час зберігання *E. coli* M-17 в альгінатному гелі впродовж 12-ти місяців при 4°C життєздатність бактерій знижувалася і через рік складала (9,37 ± 0,06) lg числа КУО/мл, що в 2,1 раза менше, ніж у контролі. При охолодженні клітин у гелі альгінату натрію при –20°C та подальшому зберіганні за цієї температури впродовж 12-ти місяців кількість життєздатних клітин знижувалася в 2,6 раза. При зберіганні клітин в альгінатному гелі при температурах –80 і –196°C впродовж 12-ти місяців не встановлено значущого зниження їх життєздатності. Зберігання клітин *E. coli* M-17 у 1% к-карагінані показало, що при 4°C після 6 і 12-ти місяців показники життєздатності знижувалися в 1,4 і 2,0 раза відповідно, при –20°C кількість життєздатних бактерій складала 58,9 і 26,8% відповідно по відношенню до контролю. Заморожування і зберігання клітин у 1% к-карагінані при –80 та –196°C забезпечувало збереження бактерій на вихідному рівні впродовж 6 і 12-ти місяців.

Таким чином, при зберіганні впродовж року за температури –80, –196°C кількість вільних та іммобілізованих у гелях клітин *E. coli* M-17 не змінюється. При 4°C краще зберігаються клітини, суспендовані в середовищі М9. Найменші значення життєздатності клітин спостерігали після їх зберігання при –20°C.

Contemporary biotechnological industry widely utilizes the banked seeding material, which should be standardized and stored in sufficient amount. We investigated the effect of storage temperature regimens on the viability of probiotic *Escherichia coli* strain M-17. For this purpose the *E. coli* M-17 cells were suspended in liquid nutrient M9 medium and placed into the sodium alginate and k-carrageenan gel blocks. Observation terms were 6 months and 1 year. The samples were stored at 4, –20, –80, –196°C. No significant decrease in bacterial viability was observed at 4°C. Within 6 and 12 months a number of viable cells decreased by 0.75 and 1.47 lg CFU/ml, respectively, as compared to the control. During storage at –20°C a number of viable cells gradually reduced and after 12 months decreased in 1.8 times. After storing the cells in M9 medium at –80°C within 12 months a number of viable cells remained at the same level. When storing the cells in M9 medium at –196°C their viability also remained at an initial level within 12 months. During 12-month-storage of *E. coli* M-17 in alginate gel at 4°C the bacterial viability decreased and a year later was (9.37 ± 0.06) lg CFU/ml, that was in 2.1 times lower, than in the control. Cooling of cells in sodium alginate gel at –20°C and following storage at the same temperature within 12 months resulted in a 2.6 times reduction of viable cells number. During cell storage in alginate gel at –80 and –196°C during 12 months no significant decrease in the viability was revealed. The *E. coli* M-17 cell storage in 1% k-carrageenan demonstrated a decrease in viability indices in 1.4 and 2.0 times after 6 and 12 months at 4°C, respectively, and at –20°C the number of viable bacteria was 58.9 and 26.8% of the control, respectively. Cell freezing and storage in 1% k-carrageenan at –80 and –196°C provided the bacteria preservation at an initial level during 6 and 12 months.

Thus, one-year storage at –80 and –196°C did not result in significant changes of number of free and immobilized in gel *E. coli* M-17 cells. Storage at 4°C represented higher survival of the cells suspended in M9 medium. The lowest values of cell viability were observed after storage at –20°C.

