

<https://elibrary.ru/TSCEYL><https://doi.org/10.21603/1019-8946-2026-5-105>

ВЫЖИВАЕМОСТЬ КОЛЛЕКЦИОННЫХ КУЛЬТУР *LACTOBACILLUS HELVETICUS* ПРИ ЛИОФИЛИЗАЦИИ И ХРАНЕНИИ*

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Нинель Петровна Сорокина, канд. техн. наук, ведущий научный сотрудник

E-mail: n.sorokina@fncps.ru

Ирина Валентиновна Кучеренко, старший научный сотрудник

E-mail: i.kucherenko@fncps.ru

Анна Юрьевна Дуганова, аспирант, младший научный сотрудник

E-mail: a.duganova@fncps.ru

Елена Сергеевна Масежная, младший научный сотрудник

E-mail: e.masezhnaya@fncps.ru

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, г. Углич

Лиофилизация является одним из самых распространенных методов сушки для сохранения микроорганизмов в биоресурсных коллекциях и получения сухих заквасок и пробиотиков с высокой стабильностью и длительным сроком хранения. Однако в процессе лиофилизации бактериальные клетки в той или иной степени повреждаются и часть популяции гибнет. Для защиты клеток от повреждений и повышения их выживаемости используются различные криопротекторы и режимы замораживания. Целью работы являлось установление режимов предварительного замораживания и криопротекторов, обеспечивающих максимально возможные выживаемость и сохранность метаболической активности термофильных молочнокислых палочек вида *Lactobacillus helveticus* в процессе лиофилизации и последующего хранения. Исследовали три температурных режима замораживания перед лиофилизацией (минус 20, 30 и 55 °С) и два вида криопротекторов – сахароза и трегалоза в концентрации 4 %. Наиболее низкая выживаемость наблюдалась при температуре замораживания минус 55 °С без криопротекции и с добавлением криопротекторов. Максимальная выживаемость штамма *L. helveticus* 158-16 в процессе лиофилизации (32–33 %) выявлена при использовании предварительного замораживания при температуре минус 20 °С с сахарозой, наименьшая (около 15 %) наблюдалась с трегалозой. Выживаемость штамма *L. helveticus* 305-10 была практически одинаковой при использовании сахарозы (26,6 %) и трегалозы (27,7 %). Установлено, что использование сахарозы и трегалозы в качестве криопротекторов уменьшало гибель бактериальных клеток при хранении в течение 12 мес. в 3–11 раз по сравнению с вариантом без криопротекции. Для увеличения выживаемости изученных штаммов *L. helveticus* в процессе лиофилизации и хранения предложен режим лиофильной сушки при температуре предварительного замораживания минус 20 °С с добавлением сахарозы.

Ключевые слова: коллекционные культуры, *Lactobacillus helveticus*, лиофилизация, криопротекторы, выживаемость, хранение, метаболическая активность

Для цитирования: Выживаемость коллекционных культур *Lactobacillus helveticus* при лиофилизации и хранении / Н. П. Сорокина, И. В. Кучеренко, А. Ю. Дуганова, Е. С. Масежная // Молочная промышленность. 2026. № 5. С. 35–41. <https://doi.org/10.21603/1019-8946-2026-5-105>

*Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FRFF 2023-0001 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

ВВЕДЕНИЕ

Сохранение микроорганизмов имеет решающее значение не только в микробиологической науке и практике, но особенно в коллекционной деятельности. Существуют различные методы кратковременного и долгосрочного хранения коллекционных культур [1]. Для длительного сохранения жизнеспособности бактерий и их свойств необходимо затормозить метаболические процессы в бактериальных клетках, сохранив их целостность и способность к реактивации. При этом важна максимально низкая скорость инактивации клеток для обеспечения очень длительного срока хранения, требуемого для сохранности фондов биоресурсных коллекций. В настоящее время достаточно эффективным и относительно недорогим способом консервации и хранения микроорганизмов, включая молочнокислые бактерии, считается лиофильная сушка [2]. Лيوфилизация широко используется и при промышленном изготовлении различных бактериальных средств: заквасок для производства пищевых продуктов, кормов, пробиотиков, поскольку производство концентрированных сухих заквасочных и пробиотических культур с длительными сроками хранения имеет первостепенное значение для пищевой промышленности. Несмотря на ряд преимуществ, включая долгосрочную стабильность, удобство хранения и возможность восстановления, у этого метода есть и недостаток – гибель большей части бактериальных клеток.

Леофильная сушка – это процесс удаления влаги из замороженных объектов в условиях вакуума, когда лед сублимируется непосредственно в пар, минуя жидкую фазу [3]. В результате этого микроорганизмы подвергаются воздействию двух стрессовых факторов – замораживания и высушивания, которые негативно сказываются на их выживаемости и сохранении функциональных свойств [4]. Часть клеточной популяции погибает из-за возникающего в процессе лиофилизации физиологического стресса, обусловленного кристаллизацией воды и механическим повреждением клеток, осмотическим шоком из-за увеличения концентрации растворенных веществ по мере удаления воды. Значительному негативному воздействию подвергаются цитоплазматические мембраны, у которых снижается текучесть, клетка становится более хрупкой и появляются повреждения [5]. При этом замедляются связанные с мембраной процессы, например, активный транспорт и секреция белков. Холодовый шок приводит к снижению стабильности нуклеиновых кислот, синтеза белка и активности ферментов, участвующих в клеточных процессах, что приводит к замедлению роста и развития клеток [6].

Для снижения гибели бактериальных клеток во время лиофильной сушки используются разнообразные защитные вещества [7]. Многие материалы были исследованы в качестве защитных агентов и используются на практике: лактоза, сахароза, трегалоза, мальтодекстрин, обезжиренное молоко, сывороточные белки и др. [8, 9]. Углеводные криопротекторы, такие как сахароза и трегалоза, увеличивают температуру стеклования и уменьшают образование кристаллов льда в клетках при замораживании, предотвращают снижение текучести клеточной мембраны [10]. Криопротекторы белковой природы, такие как обезжиренное молоко и сыворотка, стабилизируют клеточную мембрану за счет создания защитного покрытия на ее поверхности [11]. Оптимальный выбор защитных сред является ключевым моментом для повышения выживаемости микроорганизмов при лиофилизации. Наряду с этим, важным фактором влияния на сохранность жизнеспособности и активности бактериальных клеток являются технологические режимы процесса лиофильной сушки, в частности, температура замораживания микроорганизмов перед сублимацией. При этом результаты исследований показали необходимость индивидуального подбора режимов замораживания для культур различных видов и даже штаммов [8, 12].

Коллекция микроорганизмов ВНИИМС включает многие виды промышленно значимых видов молочнокислых бактерий, необходимых для производства заквасок для ферментированных молочных и других пищевых продуктов. Поэтому подбор криопротекторов и режимов замораживания для всех хранящихся в коллекции видов молочнокислых микроорганизмов является актуальной задачей.

Лактобактерии играют важную роль в процессах изготовления пищи, в том числе кисломолочных продуктов, сыров, квашеных овощей, обеспечивая формирование их органолептических показателей и увеличение сроков хранения. Главной характеристикой этих микроорганизмов является их кислотообразующая активность, поскольку продуцируемая ими молочная кислота является естественным консервантом, тормозит рост вредных микроорганизмов и продлевает сроки годности продукции [13]. Кроме осуществления процесса ферментации молочнокислые бактерии выполняют функцию пробиотиков, способствуя улучшению пищеварения, поддержанию иммунитета и предотвращению желудочно-кишечных расстройств [14].

Одним из технологически значимых видов молочнокислых бактерий является *Lactobacillus helveticus* – термофильная гомоферментативная молочнокислая палочка, которая традиционно используется в производстве швейцарских и итальянских выдержанных сыров, отечественных сортов сыра с высокой температурой второго нагревания, а также кисломолочных напитков. *L. helveticus* обладает способностью уменьшать горечь и придавать сыру характерный вкусовой букет, что делает эту бактерию важным компонентом заквасок для молочной промышленности [15]. При ферментации молока культурами *L. helveticus* в результате протеолиза образуются биоактивные пептиды [16], являющиеся сигнальными молекулами, которые в организме человека регулируют обмен веществ, ускоряют усвоение микроэлементов, укрепляют иммунитет, поддерживают здоровье сердечно-сосудистой системы и стимулируют регенерацию клеток.

Известно, что молочнокислые бактерии используют свою сложную протеолитическую систему для получения всех необходимых свободных аминокислот, требуемых для их роста в молоке. *L. helveticus* имеет сложную трофическую потребность в свободных аминокислотах. Поэтому при культивировании в молоке он использует свою мощную протеолитическую систему для продуцирования коротких пептидов и свободных аминокислот из белковой матрицы [17]. Именно поэтому эта лактобацилла отличается более высокой протеолитической активностью по сравнению с другими молочнокислыми бактериями.

Метаболиты молочнокислых и пробиотических бактерий представляют собой сложную смесь, содержащую углеводы, ферменты, белки, пептиды, аминокислоты, низкомолекулярные органические кислоты, витамины и другие соединения. Органические кислоты относят к основным ингибиторам роста многих микроорганизмов за счет разрушения клеточной мембраны. Выявленная бифидогенная и антимикробная активность комплекса метаболитов *L. helveticus* с определенным профилем органических кислот свидетельствует о ценности этих культур для разработки пищевых добавок с потенциальными пробиотическими свойствами [18].

Целью работы являлось установление режимов предварительного замораживания и криопротекторов, обеспечивающих максимально возможные выживаемость и сохранность метаболической активности термофильных молочнокислых палочек вида *Lactobacillus helveticus* в процессе лиофилизации и последующего хранения.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования были штаммы из коллекции микроорганизмов ВНИИМС *Lactobacillus helveticus* 158-16 и 305-10 как представительные термофильные микроорганизмы рода *Lactobacillus*, обладающие ценными технологическими свойствами и входящие в состав бактериальных заквасок для сыров с высокими и промежуточными температурами второго нагревания. В качестве криопротекторов применяли сахарозу (МСД Кемикал, г. Москва) и трегалозу (Gold AS, Китай).

Для культивирования лактобацилл использовали 10 % восстановленное стерильное обезжиренное молоко, приготовленное из сухого обезжиренного молока (АО «Учебно-опытный молочный завод», г. Вологда). Температура инкубации составляла 40 ± 1 °C. Перед лиофилизацией в стерильные флаконы вносили 16-часовые культуры в количестве 1 см³ (контрольный вариант), в опытных вариантах с криопротекторами во флаконы вносили 0,8 см³ культуры и 0,2 см³ раствора криопротектора концентрацией 20 % из расчета получения 4 % концентрации в лиофилизируемой культуре. Предварительное замораживание осуществляли в течение 16 часов при трех температурных режимах: минус 20 ± 1 °C, минус 30 ± 1 °C, минус 55 ± 1 °C в низкотемпературном морозильном шкафу ILKA SGS 300/1000 (Veb Elektro-anlagenbau, Германия). Сушку культур проводили на лиофильной сушилке серии Scientz-10N/10ND в исполнении Top-Press (Scientz Bio-technology CO, Китай) с температурой конденсатора до минус 55 °C и предельным остаточным давлением 10 Па в течение $6,0 \pm 0,5$ ч и с продолжительностью досушивания в течение $3,0 \pm 0,5$ ч при температуре 25 ± 1 °C.

Количество жизнеспособных клеток перед лиофилизацией и после нее определяли на среде MRS по ГОСТ 33951-2016 с культивированием анаэробно в анаэроостате Small (производство Schuett, Германия) при температуре 40 ± 1 °C в течение 72 ч. Выживаемость культур выражали в виде доли количества жизнеспособных клеток в фиксированном объеме во флаконе после лиофилизации и хранения в процентах относительно исходного количества клеток до лиофилизации.

Реактивацию лиофилизированных культур осуществляли ресуспендированием в 10 см³ 10 % стерильного обезжиренного молока с последующим культивированием при температуре 40 ± 1 °C до сквашивания. Метаболическую активность оце-

нивали после двухкратных перевивок реактивированной культуры по снижению активной кислотности молока при культивировании в течение 6 ч при температуре 40 ± 1 °С. Активную кислотность молока определяли по ГОСТ 32892-2014 на pH-метре STARTER 2100 с пределом абсолютной погрешности $\pm 0,01$ ед. pH (ОНАУС, Китай).

Эксперименты проводили в трехкратной повторности, статистический анализ полученных результатов и построение графиков проводили с использованием программы Microsoft Office Excel 2019 при уровне значимости $< 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения влияния режимов предварительного замораживания и добавления криопротекторов на выживаемость штаммов *Lactobacillus helveticus* при лиофилизации представлены в таблице. Использованный в работе режим лиофилизации обеспечил получение массовой доли влаги в сухих культурах на уровне от 4,4 до 4,6 %. При этом не было установлено достоверных различий (при уровне достоверности $p < 0,05$) в массовой доле влаги после лиофилизации между штаммами, а также между использованными криопротекторами и режимами замораживания.

Полученные данные продемонстрировали различное влияние температуры замораживания перед лиофилизацией на выживаемость исследованных штаммов *L. helveticus* при уровне достоверности $p < 0,001$. Самая низкая выживаемость без криопротекции наблюдалась при температуре замораживания минус 55 °С и составила 12,5 % у штамма *L. helveticus* 158-16 и 15,8 % у штамма *L. helveticus* 305-10. Для обоих штаммов оптимальной является температура замораживания минус 20 °С. Более низкие температуры неприемлемы, т. к. при высокой скорости замораживания при температуре минус 55 °С происходит быстрая кристаллизация воды, которая приводит не только к повреждениям цитоплазматической мембраны бактериальных клеток, но и резкому осмотическому шоку.

В исследовании Г. В. Семенова с соавторами [19] установлено, что при лиофильной сушке йогурта и простокваши высокая выживаемость молочнокислых бактерий достигается при повышении температуры замораживания с минус 40 до минус 25 °С. Сравнение полученных нами результатов наиболее

сопоставимо именно с этими данными, поскольку условия лиофилизации йогурта, в котором микроорганизмы подвергаются сушке в сквашенном молоке, такие же, как в условиях данного эксперимента. В большинстве других исследований выживаемость микроорганизмов определялась после отделения клеток от культуральной среды и смешивания с криопротекторами. К примеру, G.-Q. Wang с соавторами [20] выявили при лиофилизации бактериальной массы трех штаммов молочно-кислых палочек *L. plantarum* максимальную выживаемость у двух штаммов при использовании температуры замораживания минус 60 °С, а один штамм имел практически одинаковую выживаемость при температуре минус 20, 30 и 60 °С.

При проведении данного исследования отмечено, что при любых режимах замораживания и криопротекции выживаемость исследованных штаммов *L. helveticus* была довольно низкой: максимальная выживаемость при температуре минус 20 °С не превышала 32,3 % у штамма 158-16 при добавлении сахарозы и 27,7 % у штамма 305-10 при добавлении трегалозы. Без добавления криопротекторов выживаемость штаммов составила от 12,5 до 20,1 %. Это свидетельствует о низкой устойчивости данных штаммов *L. helveticus* к лиофильной сушке.

Выявлена достоверная связь между штаммом и видом использованного криопротектора ($p < 0,01$). Для штамма *L. helveticus* 158-16 максимальная выживаемость установлена при внесении сахарозы $32,3 \pm 1,8$ %, что статистически значимо выше

Таблица. Влияние температуры замораживания и криопротекторов на выживаемость штаммов *Lactobacillus helveticus*

Температура замораживания, °С	Криопротектор	Выживаемость культур, % от исходного количества жизнеспособных клеток	
		Штамм 158-16	Штамм 305-10
Минус 55 $\pm$ 1	Контроль	12,5 $\pm$ 0,9	15,8 $\pm$ 0,3
	Сахароза	13,1 $\pm$ 1,1	18,1 $\pm$ 0,8
	Трегалоза	10,7 $\pm$ 0,8	16,7 $\pm$ 1,0
Минус 30 $\pm$ 1	Контроль	13,1 $\pm$ 1,2	20,1 $\pm$ 1,8
	Сахароза	12,3 $\pm$ 1,2	24,9 $\pm$ 2,4
	Трегалоза	14,6 $\pm$ 1,1	20,6 $\pm$ 0,8
Минус 20 $\pm$ 1	Контроль	28,3 $\pm$ 1,3	21,2 $\pm$ 0,8
	Сахароза	32,3 $\pm$ 1,8	26,5 $\pm$ 0,9
	Трегалоза	14,9 $\pm$ 1,5	27,7 $\pm$ 1,9

выживаемости в контрольном варианте без криопротекции ($p < 0,05$). У штамма *L. helveticus* 305-10 криопротекция с обоими дисахаридами обеспечила достоверное увеличение сохранности бактериальных клеток по сравнению с контролем ($p < 0,01$), при этом достоверных различий между видами использованных криопротекторов (сахарозой и трегалозой) не обнаружено ($p > 0,05$).

Наименьшая выживаемость (на уровне 14,9 %) наблюдалась с трегалозой при лиофилизации штамма *L. helveticus* 158-16, что достоверно ниже, чем во всех других вариантах эксперимента, за исключением варианта замораживания при температуре минус 55 °С в отсутствии криозащиты. Полученные результаты согласуются с данными Z. Cheng et al. [8], показавшими практически полное отсутствие криозащиты штамма молочнокислых палочек *L. fermentum* при добавлении трегалозы, выживаемость которого составила 7 %.

Для сохранения фондов биоресурсных коллекций важное значение имеет выживаемость лиофилизированных культур в процессе длительного хранения. Результаты изучения влияния температурных условий замораживания перед лиофилизацией и криопротекции на вымирание клеток штаммов *L. helveticus* 158-16 и 305-10, представленные на рисунках 1 и 2, выявили существенное снижение гибели под влиянием криопротекторов при всех исследованных температурах замораживания. Сахароза и трегалоза снижали гибель клеток в 3–11 раз по сравнению с контролем без применения криопротекции. Это статистически значимое и важное преимущество использования криопротекторов для обеспечения длительной сохранности культур в коллекциях. Очевидно, что и при хранении бактериальных заквасок и пробиотиков использование криопротекторов будет оказывать положительный эффект.

Наименьшая гибель клеток при замораживании *L. helveticus* 158-16 наблюдалась в присутствии сахарозы при температуре минус 20 °С и при добавлении трегалозы при температуре минус 30 °С. Высокий уровень защиты клеток при хранении у штамма *L. helveticus* 305-10 был практически одинаковым при температуре замораживания минус 20 °С и минус 30 °С как при использовании сахарозы, так и трегалозы ($p = 0,58 > 0,05$).

Наблюдается штаммовая специфичность в реакции на лиофильную сушку, проявляющуюся не только в

процессе собственно лиофилизации, но и в хранении. Штамм *L. helveticus* 305-10 проявил большую чувствительность, особенно в вариантах без криозащиты: гибель клеток в контроле при хранении в течение 12 месяцев достигла 0,89 log, а у *L. helveticus* 158-16 гибель составила 0,6 log. Минимальная потеря жизнеспособных клеток обоими штаммами выявлена не при самой низкой температуре замораживания минус 55 °С, а при температуре минус 30 °С (0,74 log у штамма 305-10 и 0,56 log у штамма 158-16).

Следует отметить, что нет однозначного лидера среди использованных криопротекторов, их эффективность зависит от штамма и температуры. Но температура замораживания менее значима, чем добавление защитных веществ. Это позволяет сделать вывод об отсутствии целесообразности проводить предварительное замораживание перед сушкой изученных штаммов при температуре минус 55 °С, поскольку замораживание при температуре минус 20 °С или минус 30 °С обеспечивает наибольшую выживаемость микроорганизмов как в про-

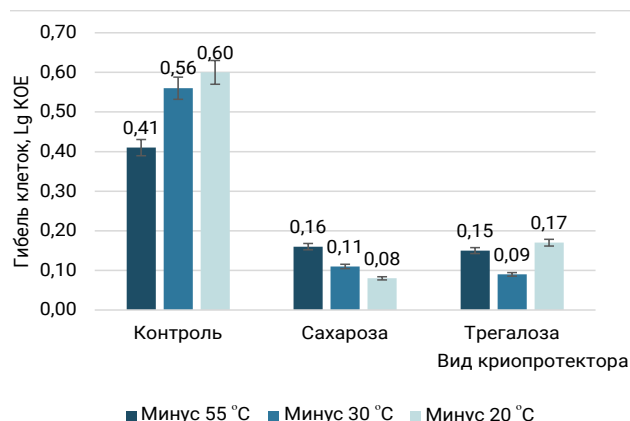


Рисунок 1. Влияние криопротекторов на гибель *Lactobacillus helveticus* 158-16 через 12 мес. хранения

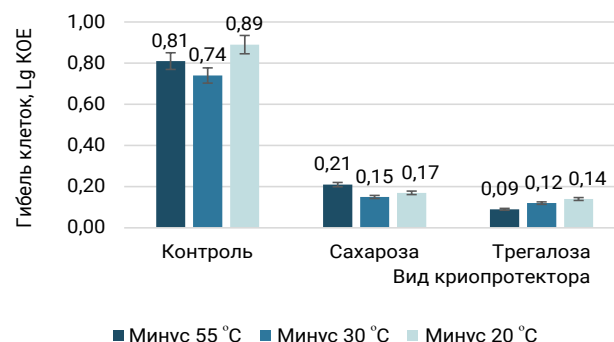


Рисунок 2. Влияние криопротекторов на гибель *Lactobacillus helveticus* 305-10 через 12 мес. хранения



Источник изображения: pixelfix.com

цессе лиофилизации, так и при хранении. Кроме того, при этой температуре предварительного замораживания гибель клеток при хранении была практически одинаковой с обоими криопротекторами – с сахарозой 0,17 log, с трегалозой 0,14 log.

Полученные данные согласуются со сложившемся мнением о том, что подбор криопротекторов для лиофилизации микроорганизмов до настоящего времени остается эмпирическим и требует индивидуального подбора режимов замораживания и вида криозащитных веществ с учетом индивидуальной видовой и даже штаммовой специфичности [4, 8, 10, 11]. При этом должны также учитываться и технические характеристики используемых лиофильных установок.

При изучении метаболической активности лиофилизированных при разных режимах замораживания и криопротекции штаммов *L. helveticus* достоверных различий между исследованными вариантами замораживания и добавления криопротекторов не установлено ($p > 0,05$). Это может быть обусловлено тем, что в процессе лиофилизации у выживших клеток не возникло значимых нарушений активности основных ферментов (лактатдегидрогеназы, пируваткиназы и АТФазы) и двухкратный пассаж после реактивации привел к полному восстановлению активности штаммов при развитии в молоке.

На основании полученных результатов для практической реализации стратегии повышения сохран-

ности коллекционных культур изученных штаммов *L. helveticus* рекомендовано проводить их лиофильную сушку при температуре замораживания минус 20 °С с добавлением сахарозы. Этот режим обеспечит меньшую энергозатратность и большую экономичность процесса, поскольку сахароза является более дешевым ингредиентом по сравнению с трегалозой. Представляется целесообразным валидация данных условий лиофилизации на других коллекционных штаммах *L. helveticus*.

ВЫВОДЫ

Результаты проведенных исследований выявили значимые отличия в реакции штаммов *Lactobacillus helveticus* 158-16 и 305-10 на лиофилизацию при различных режимах предварительного замораживания и виды криопротекторов. Наиболее низкая выживаемость наблюдалась при температуре замораживания минус 55 °С без криопротекции и с добавлением криопротекторов. Подтверждено увеличение выживаемости культур *L. helveticus* при использовании для криопротекции сахарозы и трегалозы.

Установлена зависимость между выживаемостью штаммов и видом использованного криопротектора. Максимальная выживаемость штамма *L. helveticus* 158-16 в процессе лиофилизации (32,3 %) выявлена в условиях предварительного замораживания при температуре минус 20 °С с использованием сахарозы, наименьшая выживаемость (около 15 %) наблюдалась с трегалозой. Выживаемость штамма *L. helveticus* 305-10 была практически одинаковой при использовании сахарозы (26,6 %) и трегалозы (27,7 %).

Гибель клеток в процессе хранения лиофилизированных штаммов *L. helveticus* без криозащиты была максимальной при всех температурных режимах. Выявлено положительное влияние на сохранность жизнеспособных клеток при использовании для криозащиты сахарозы и трегалозы, гибель клеток снизилась в 3–11 раз по сравнению с вариантом без криопротекции.

Для увеличения выживаемости изученных штаммов *L. helveticus* в процессе лиофилизации и хранения предложен режим лиофильной сушки при температуре предварительного замораживания минус 20 °С с добавлением сахарозы. ■

Поступила в редакцию: 15.06.2026

Принята в печать: 15.09.2026

LACTOBACILLUS HELVETICUS COLLECTION CULTURES: SURVIVAL RATE DURING LYOPHILIZATION AND STORAGE**Ninel P. Sorokina, Irina V. Kucherenko, Anna Yu. Duganova, Elena S. Masezhnaya**

All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking – Branch of V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS, Uglich

ORIGINAL ARTICLE

Lyophilization is a common drying method. It preserves microorganisms in bioresource collections, producing stable dry starter cultures and probiotics with a long shelf life. However, lyophilization always damages bacterial cells, killing a certain share of the population. Cryoprotectants and freezing can protect cells from damage and increase their survival rate. This article investigates the most effective pre-freezing conditions and cryoprotectants that provide the highest survival rates while retaining the metabolic activity of the thermophilic lactic acid bacterium *Lactobacillus helveticus* during freeze-drying and subsequent storage. The research featured three pre-freezing temperatures (–20, –30, and –55°C) and two types of cryoprotectants (sucrose and trehalose at a 4% concentration). The lowest survival rates resulted from a pre-freezing temperature of –55°C, both with and without cryoprotectants. The highest survival rate of *L. helveticus* strain 158-16 during freeze-drying (32–33%) occurred after pre-freezing at –20°C with sucrose. The lowest survival rate (15%) belonged to the sample with trehalose. The survival rates for *L. helveticus* strain 305-10 were virtually identical for the samples with sucrose (26.6%) and trehalose (27.7%). Sucrose and trehalose as cryoprotectants reduced bacterial cell loss during 12 months of storage by a factor of 3 to 11 compared to the control without cryoprotection. Overall, the freeze-drying protocol with pre-freezing at –20°C with sucrose was able to increase the survival rate of the *L. helveticus* strains during freeze-drying and storage.

Keywords: collection cultures, *Lactobacillus helveticus*, lyophilization, cryoprotectants, survival, storage, metabolic activity

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кишилова, С. А. Основные методы сохранения жизнеспособности и свойств микроорганизмов при разных сроках хранения: обзор / С. А. Кишилова [и др.] // Пищевая промышленность. 2025. № 2. С. 78–84. <https://doi.org/10.52653/PPI.2025.2.2.016>; <https://elibrary.ru/dtckwc>
2. Сидорчук, А. А. Сохранность культур бактерий различных групп при длительном хранении в лиофилизированном состоянии / А. А. Сидорчук, А. А. Краснова // Российский ветеринарный журнал. 2016. № 3. С. 22–25. <https://www.elibrary.ru/witnij>
3. Wolkers, W. F. Cryopreservation and freeze-drying protocols, methods in molecular biology / W. F. Wolkers, H. Oldenhof. – New York: Springer, 2021. – 742 p.
4. Rockinger, U. Current approaches of preservation of cells during (freeze-) drying / U. Rockinger, M. Funk, G. Winter // Journal of Pharmaceutical Sciences. 2021. Vol. 110(8). P. 2873–2893. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2021.04.018>
5. Papadimitriou, K. Stress physiology of lactic acid bacteria / K. Papadimitriou [et al.] // Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2016. Vol. 80(3). P. 837–890. <https://doi.org/10.1128/mmb.00076-15>
6. Al-Fageeh, M. B. Control and regulation of the cellular responses to cold shock: The responses in yeast and mammalian systems / M. B. Al-Fageeh, C. M. Smales // Biochemical Journal. 2006. Vol. 397(2). P. 247–259. <https://doi.org/10.1042/BJ20060166>
7. Синёва, О. Н. Долгосрочное хранение микроорганизмов / О. Н. Синёва, Л. П. Терехова // Результаты исследований естественных и точных наук: междисциплинарный подход и сверхаддитивный эффект: монография. Под ред. В. В. Ерохина, Л. П. Тереховой, О. А. Подкопаева. – Самара: ООО НИЦ «Поволжская научная корпорация», 2018. – 261 с.
8. Cheng, Z. Effects of freeze drying in complex lyoprotectants on the survival, and membrane fatty acid composition of *Lactobacillus plantarum* L1 and *Lactobacillus fermentum* L2 / Z. Cheng [et al.] // Cryobiology. 2022. Vol. 105. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2022.01.003>
9. Явников, Н. В. Влияние различных криопротекторных компонентов на выживаемость пробиотических микроорганизмов после лиофильной сушки / Н. В. Явников // Международный вестник ветеринарии. 2022. № 1. С. 69–73. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2022.1.69>; <https://elibrary.ru/wqshwf>
10. Cui, S. M. Effect of trehalose and lactose treatments on the freeze-drying resistance of lactic acid bacteria in high-density culture / S. M. Cui [et al.] // Microorganisms. 2023. Vol. 11(1.) Art. no. 48. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010048>
11. Lu, Y. J. Optimization of a cryoprotective medium to increase the viability of freeze-dried *Streptococcus thermophilus* by response surface methodology / Y. J. Lu [et al.] // LWT – Food Science and Technology. 2017. Vol. 80. P. 92–97. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.044>
12. Ge, S. Research progress on improving the freeze-drying resistance of probiotics: A review / S. Ge [et al.] // Trends in Food Science and Technology. 2024. Vol. 147. Art. no. 104425. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104425>
13. Zapašnik, A. Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety / A. Zapašnik, B. Sokołowska, M. Bryła // Foods. 2022. Vol. 11. Art. no. 1283. <https://doi.org/10.3390/foods11091283>
14. Salminen, S. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics / S. Salminen [et al.] // Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. 2021. Vol. 18. P. 649–667. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>
15. Gatti, M. Biodiversity among *Lactobacillus helveticus* strains isolated from different natural whey starter cultures as revealed by classification trees / M. Gatti, C. Trivisano, E. Fabrizi // Applied and Environmental Microbiology. 2004. Vol. 70. P. 182–190. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.1.182-190.2004>
16. Wakai, T. Antihypertensive peptides specific to *Lactobacillus helveticus* fermented milk / T. Wakai, N. Yamamoto // Biotechnology – Molecular Studies and Novel Applications for Improved Quality of Human Life. Ed. by R. H. Sammour. – Rijeka: InTech Europe, 2012. – P. 159–172. <https://doi.org/10.5772/28695>
17. Savijoki, K. Proteolytic systems of lactic acid bacteria / K. Savijoki, H. Ingmer, P. Varmanen // Applied Microbiology and Biotechnology. 2006. Vol. 71. P. 394–406.
18. Леонова, В. А. Потенциальные пробиотические свойства и профили органических кислот метаболического комплекса *L. helveticus* / В. А. Леонова // Пищевая промышленность. 2024. № 1. С. 78–82. <https://doi.org/10.52653/PPI.2024.1.1.015>; <https://elibrary.ru/oytntt>
19. Семенов, Г. В. Вакуумная сублимационная сушка пищевых продуктов: температурные границы для рационального использования в промышленном производстве / Г. В. Семенов, С. А. Ермаков, И. С. Краснова // Известия вузов. Пищевая технология. 2022. № 2–3. С. 51–57. <https://doi.org/10.26297/0579-3009.2022.2-3.10>; <https://elibrary.ru/bzoixg>
20. Wang, G.-Q. Influence of freezing temperature before freeze-drying on the viability of various *Lactobacillus plantarum* strains / G.-Q. Wang [et al.] // Journal of Dairy Science. 2020. Vol. 103(4). P. 3066–3075. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17685>