

С.Г.Асланян, Э.В.Маршавина

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И РЕПРОДУКЦИИ КУЛЬТУРЫ-ПРОДУЦЕНТА
ЛИЗИНА М.ГЛУТАМИСИС ШТ.95

Наиболее удобным и широко используемым в настоящее время методом длительного хранения биологических препаратов является метод лиофилизации или консервирование высушиванием под глубоким вакуумом из замороженного состояния. Высокая устойчивость биологических объектов при этом объясняется тем, что обезвоживание при лиофилизации не вызывает изменений коллоидной структуры высушиваемого материала.

В литературе имеется немало работ, освещающих вопросы консервирования путем лиофилизации биологических объектов /Бланков, Клебанов, 1961; Колесов, 1952; Кузнецов, Пивоварова, 1965; Greaves, 1960; Flosdorf, Mudd, 1935; Fasquelle, Barbier, 1950, Харрис, 1956/. Исследованиями указанных авторов показано, что длительность хранения биологических свойств высушенных препаратов зависит от многих факторов и, в первую очередь, от применяемой аппаратуры, условий обезвоживания, суспензионных сред, остаточной влажности и условий хранения.

По мнению некоторых авторов, суспензионные или защитные среды способствуют сохранению клеточной оболочки, тем самым регулируют остаточную влажность, препятствуют пересушке, предохраняют клетки от доступа кислорода, служат источником питания /Fry, Greaves, 1951; Greaves, 1960 / и играют большую роль при реактивации и хранении культур /Record, Taylor, Miller, 1962/.

Большое значение для длительного хранения бактериальных культур в лиофилизированном состоянии имеет показатель остаточной влажности /Besett, 1954, Ней, Сакагами, 1960/.

Как правило, с возрастанием остаточной влажности длительность хранения препаратов сокращается. Для живых бактерий и вирусов оптимальной остаточной влажностью, по мнению некоторых авторов, может считаться 1-3% /Георгис, 1968/, тогда как для биохимических продуктов, антибиотиков и тканей допус-

кается очень низкая остаточная влажность до 0,1-1%; при этом длительность хранения может быть до 10 лет, а для продуктов питания она составляет от 2 до 10. Поскольку лиофилизированный продукт очень гигроскопичен, то не допускается проникновение даже сухого воздуха, поэтому ампулы или флаконы должны быть герметичными или, что значительно лучше, храниться при вакууме в условиях рефрижератора /Куплетская, 1961; Фадеева, 1963; Париж, 1966; Лукьяненко, 1968/.

В последние годы, в связи с интересом, который проявляется к вопросам организации микробиологической промышленности у нас в стране, метод хранения производственных культур в лиофилизированном состоянии находит широкое применение /Беккер, 1967/.

Целью настоящей работы явилось изучение возможности консервации культуры *M. glutamicus* шт.95 - продуцента лизина методом лиофилизации для длительного сохранения биосинтетических свойств и отработки методов репродукции культур для ферментации.

В литературе имеется, пожалуй, несколько работ, указывающих на возможность сохранения продуцентов лизина под вазелиновым маслом /Унанян и др., 1969/, однако нам не удалось найти сведений об условиях их поддержания в лиофилизированном состоянии.

В связи с поставленной задачей изучались следующие вопросы:

1. Отбор защитных или суспензионных сред и их влияние на сохранение жизнеспособности и биосинтетической активности культуры *M. glutamicus* шт.95 в лиофилизированном состоянии.
2. Условия замораживания суспензий культуры перед сублимационным обезвоживанием.
3. Оптимальные условия сублимации.
4. Условия реактивации лиофилизированных культур.
5. Условия хранения ампул с лиофилизированной культурой.

Объекты и методы

Работа проводилась с гомосериндефицитным мутантом *M. glutamicus* шт.95, полученным из лаборатории генетики и селекции микроорганизмов ИАЭ им.Курчатова.

Для получения бактериальной суспензии испытуемая культура *M. glutamicus* выращивалась на агаризованном рыбном экстракте в чашках Петри в течение 20-24 часов. Клетки смывались физиологическим раствором, центрифугировались в 7 защитных средах: обезжиренное молоко, лошадиная сыворотка, среда *Mist. Desiobain*, среда Хоттингера /100мг% аминного азота/, раствор пептона /5%/, желатиновая, физиологический раствор. Среда обогащалась 10% раствором глюкозы.

Бактериальная суспензия /0,25мл / в защитных средах разливалась в стерильные ампулы из молибденового стекла, размерами 8см длины, объемом - 2мл. Ампулы с суспензией замораживались при разных температурных режимах: при -30° в течение 10-12 часов в холодильнике типа "фрижера", при -50° в парах углекислоты /сухой лед/ и при $-75-78^{\circ}$ в смеси изопропилового спирта с сухим льдом. Сублимацию осуществляли в двух аппаратах. I/. В аппарате лиофильной сушки, изготовленном в мастерских РБО ИАЭ им.Курчатова. В этом случае высушивание ампул с замороженной суспензией клеток осуществлялось под вакуумом при остаточном давлении 10^{-2} . Первые 2-3 часа температура в сублиматоре была минусовой, а затем постепенно повышалась до $18-20^{\circ}\text{C}$. Продолжительность высушивания варьировалась от 8 до 24 часов;

2/. В аппарате КС-6 фирмы Мотокова Чехословацкого производства. Процесс сублимации длится 24 часа, из них первые 6-8 часов высушивание осуществлялось при $-27-15^{\circ}$, затем температура постепенно поднималась до $+10^{\circ}$, а последние 4-5 часов сублимация проходила при температуре $20-25^{\circ}$.

Ампулы с высушенным материалом запаивались под вакуумом и хранились при температуре $+4$ и 6° . Уровень вакуума проверялся высокочастотным трансформатором типа "Тесла". Остаточную

влажность в сухих культурах определяли по методу Долинова /1960/.

Выживаемость и биосинтетическая активность культур проверялись непосредственно после лиофилизации и через 3,6,12,15 и 18 месяцев хранения ампул.

Реактивация культуры

Ампулы вскрывались, сухой препарат постепенно, в течение 8-10 минут суспензировался в объеме 0,25мл, одним из следующих растворов: физиологический, 1% гидролизата казеина, 5% пептона. Полученная суспензия выдерживалась в течение двух часов, после чего делалось разведение 10^{-8} , 10^{-10} , 10^{-12} и т.д. и каплей заражались чашки Петри с рыбным агаром. Через 48 часов инкубации подсчитывалось число клеток и определялся процент выживаемости. Биосинтетическая активность реактивированных культур проверялась в условиях ферментации в колбах Эрленмейера /250мл./, на качалке при $28-30^{\circ}$ на среде /состав в %: меласса - 15,0; кукурузный экстракт - 3,0; хлористый аммоний - 1,5.

Результаты исследований

Защитные или суспензионные среды, как показали наши опыты, оказывают существенное влияние на выживаемость *Micrococcus glutamicus*.

На рис.1 представлены данные, показывающие, что обезжиренное молоко и раствор пептона /5%/ обладали лучшими защитными свойствами. Коллоидные вещества и свободные аминокислоты, содержащиеся в молоке, обеспечивали, повидимому, высокий процент выживаемости /80-90%/. Однако в процессе хранения культур в лиофилизированном состоянии с использованием в качестве защитной среды обезжиренного молока наблюдалась инактивация клеток. Уже к третьему месяцу хранения выживаемость noticeably снижалась, затем к 6 и 12 месяцам хранения она составляла около 50%, а через 18 месяцев количество жизнеспособ-

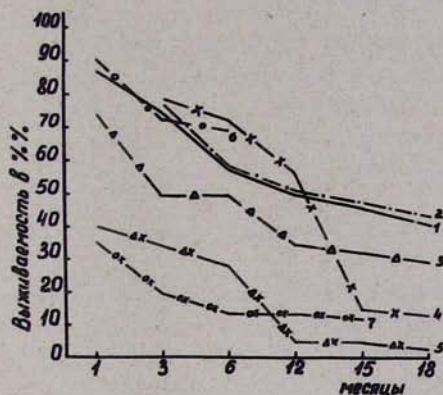


Рис. I Выживаемость обезжиренной культуры *M. glutamicus* шт. 95 в зависимости от состава защитных сред и сроков хранения.

1 - Обезжиренное молоко, 2- *M. desiccans*
3 - лошадиная сыворотка, 4 - желатиновая среда, 5 - среда Хоттингера, 6 - 5% пептон, 7 - физиологический раствор.

ных клеток оставалось в пределах 40%. В зависимости от сроков хранения проверялась биосинтетическая способность культуры. Как видно из результатов, представленных в таблице I, несмотря на то, что выживаемость клеток в процессе хранения снижалась, свойство лизинообразования у культуры сохранялось без изменений.

Хорошие результаты по выживаемости культуры при лиофилизации были получены нами при использовании в качестве защитной среды раствора пептона /5%/. В этом случае жизнеспособность клеток *M. glutamicus* шт.95 сразу после лиофилизации сохранялась в пределах 90%, через три и шесть месяцев хранения процент выживаемости несколько снижался и оставался на уровне 70%. На биосинтетической активности штамма обезвоживание и хранение не отразились.

Достаточно высокую выживаемость и биосинтетическую активность обеспечивали также защитные среды *M. desiccans*, лошадиная сыворотка и желатиновая среда, процент выживаемости после лиофилизации соответственно составлял 78,75 и 78%. Однако, в процессе хранения в зависимости от защитной среды выживаемость менялась. Наиболее благоприятной средой для сохранения выживаемости культуры в процессе длительного хранения оказалась среда *M. desiccans*. Через шесть месяцев хранения процент выживаемости культуры составлял 58, а через восемнадцать - 43,3%, тогда как выживаемость культуры, хранившейся с лошадиной сывороткой через год снижалась почти вдвое, а через полтора года хранения выживаемость падала до 29%. Еще более неблагоприятной средой для сохранения жизнеспособности клеток в процессе длительного хранения оказалась желатиновая среда. Через полтора года хранения выживаемость клеток падала до 13%, хотя, как мы уже указывали, процент выживаемости сразу после лиофилизации и в процессе хранения до шести месяцев был достаточно высоким. На всех этих средах биосинтетическая активность штамма, вне зависимости от сроков хранения, оставалась на одном и том же первоначальном уровне.

Наименее пригодными средами для сохранения жизнеспособности клеток *M. glutamicus* шт.95 в процессе лиофилизации и

Таблица I

Биосинтез лизина *M. glutamicus* шт. 95 в различные сроки хранения в лиофилизированном состоянии

Защитные среды	Остаточная влажность, %	Титр клеточной массы, до лиофилизации	Д и з и н, г/д					
			Сроки хранения (в месяцах)					
			после сушки	3	6	12	15	18
Обезжиренное молоко	2,5	$2,3 \times 10^9$	17	17	16	14	16,5	16,5
<i>M. desiccatus</i>	1,5	$2,3 \times 10^9$	16	16	15	16	16,0	17,0
Лошадина сыворотка	2,1	$7,0 \times 10^8$	12	15	16	15	16,0	16,0
Желатиновая	3,7	$2,3 \times 10^9$	-	12	13	16	17,0	19,0
Хоттингер	2,2	$1,2 \times 10^{11}$	15	-	16	15	15,0	14,0
5% пептон	2,9	$7,8 \times 10^6$	18	18	18	-	-	-
Физиологический раствор	2,7	$2,5 \times 10^{13}$	20	20	20	17	15,0	-

хранения оказались физиологический раствор и среда Хоттингера /с 100мг% аминного азота/. Процент выживаемости клеток на этих средах сразу после лиофилизации (см.таблицу I) составлял 36-40%, через 3 и 6 месяцев - 29-14%, а через полтора года хранения процент выживаемости падал до 3-10%.

Свойство лизинообразования у культур, хранившихся на этих средах, несколько изменялось в случае физиологического раствора.

В качестве защитной среды нами была использована также среда с мелассой и кукурузным экстрактом, обычно применяемая для ферментации лизина. При сублимации на этой среде происходило вспенивание суспензии, а высев из оставшейся части показывал потерю жизнеспособности клеток.

Температура замораживания /полное затвердевание/ является одним из важнейших факторов для сохранения структуры клеток, выживаемости и биосинтетической активности бактериальных культур. Полученные нами данные по выживаемости и биосинтезу лизина *M.glutamicus* шт.95 в зависимости от температуры замораживания суспензии в процессе лиофилизации представлены в табл.2. Температура замораживания при лиофилизации культуры оказывала определенное влияние на изучаемые нами свойства, однако, более четкие различия в показателях получились под действием состава защитных сред. Так, при замораживании суспензии культуры в защитной желатиновой среде лучшие результаты по выживаемости были получены при -75° . Подобное влияние низких температур / $-55-75^{\circ}$ / на выживаемость культуры наблюдалось в случае использования в качестве защитной среды *M.debiscans*. В случае замораживания суспензии культуры в обезжиренном молоке понижение температуры не сказывалось на выживаемости штамма. Высокий процент выживаемости был отмечен нами при замораживании суспензии при -30° .

Лучший результат по выживаемости культуры с использованием в качестве защитной среды лошадиной сыворотки /85%/ был при замораживании -55° . На среде Хоттингера и в физиологическом растворе вне зависимости от изменения температуры

Таблица 2

Выживе мость и биосинтез лизина *M. glutamicus* шт.95
при различных температурах замораживания

Защитные среды	Остаточная влажность, %	Температура замораживания					
		- 30°		-55°		-75°	
		Выживе- мость, %	Лизин, г/л	Выживе- мость, %	Лизин, г/л	Выживе- мость, %	Лизин, г/л
Обезжиренное молоко	2,1	88	20	78	18	88	22
Домашняя сыворожка	2,7	67	20	83	17	70	24
<i>M. deliseae</i>	1,6	-	-	78	16	86	12
Хелатиновая среда	3,7	58	20	78	12	95	19
Ср. Хоттингера	3,0	-	-	66	16	60	17
Физиологический раствор	2,6	-	-	36	22	21	20

замораживания суспензии выживаемость культуры была низкой, в особенности в случае использования физиологического раствора /36,21%/. На биосинтетическую активность *M.glutamicus* шт.95 температура замораживания в процессе лиофилизации не оказывала заметного влияния.

Продолжительность замораживания бактериальных суспензий, независимо от состава защитных сред, не оказывала какого-либо существенного влияния на жизнеспособность и биосинтетическую активность штамма /таблица 3/.

Для полного замораживания суспензии клеток *M.glutamicus* шт.95 достаточно было двухчасовой экспозиции; дальнейшее выдерживание на льду не привело ни к положительным, ни к отрицательным результатам. По-видимому за это время происходит однородная кристаллизация, не повреждающая биологической структуры клетки.

Остаточная влажность обезвоженных препаратов, как известно, является весьма существенным фактором при длительном хранении культур. Проведенные нами опыты с хранением в условиях холодильника /2-4°/ лиофилизированных культур с различной остаточной влажностью показали, что процент их выживаемости с остаточной влажностью в пределах от 2% до 4% не менялся. Некоторое исключение в этом плане представляли культуры, где защитной средой был физиологический раствор. В этом случае сухие препараты с остаточной влажностью 3,3% в процессе хранения свыше шести месяцев значительно снижали жизнеспособность /таблица 4/.

Биосинтетическая активность культуры, независимо от состава защитных сред, сроков хранения и остаточной влажности, сохранялась без существенных изменений. Исключение составляли образцы культуры с защитной средой - физиологическим раствором.

Реактивация - восстановление жизнедеятельности путем добавления влаги к лиофилизированной культуре. Регидратацию живых материалов, чтобы не вызывать осмотического шока, проводят с помощью изотонических растворов. В зависимости от сорта обезвоженного материала, реактивация осуществляется добавле-

Таблица 3

Выживаемость клеток и биосинтетическая активность *M. glutamicus* шт. 95 при различной продолжительности замораживания (Выживаемость — %, лизин — г/л)

Продолжительность замораживания, в часах	Остаточная влажность, %	Защитные среды				Дополнительная выживаемость	Лизин
		Молоко обезжиренное		Остаточная влажность, %			
		Выживаемость	Лизин	Выживаемость	Лизин		
2	2	88	22	3,2	70	22	
3	0,3	81	17	2,7	83	17	
5	2,5	86	20	1,3	60	22	
10	4	88	20	5	67	20	
16	2,8	50	18	2,5	60	17	

Таблица 4

Влияние остаточной влажности на выживаемость и свойства
лизинообразования у *M. glutamiae* шт.95 в процессе
хранения в лиофилизированном состоянии

Защитные среды	Оста- точ- ная влаж- ность %	Выживаемость, %						Лизин, г/л					
		Сроки хранения (в месяцах)						после сушки					
		3	6	12	15	18	после сушки	3	6	12	15	18	после сушки
Обезжиренное молоко	0,3	81	75	75	53,7	-	-	17	17	16	16	-	-
	2,0	88	75	58	50	46	40	17	16	16	16	16	16
	4,0	88	82	73	-	34	28	20	20	-	17	20	20
Дополненная сыворотка	2,0	75	50	35	32	29	22	12	15	15	16	16	16
	4,3	60	55	-	-	-	22	18	22	-	-	-	-
<i>M. deliseae</i>	1,6	-	86	48	33	26	26	-	17	16	17	18	18
	3,7	-	91	48	43	26	26	-	15	16	18	19	19
Лецитиновая	1,9	62	57	60	34,2	31	-	26	19	18	16	-	-
	3,7	-	78	73	57	15	13	-	20	16	16	17	17
Физиологический раствор	1,4	-	-	50	46	35	35	-	14	13	11	13	13
	3,3	40	-	40	12	2	1,6	13	12	6	5	11	11

нием к препарату либо воды, в случае фармацевтических препаратов, либо физиологической сыворотки для восстановления свойств тканей, либо различных питательных растворов - в случае бактерий и вирусов.

Для изучения влияния условий реактивации обезвоженной на различных защитных средах культуры *M. glutamicus* шт. 95 в зависимости от сроков хранения нами были проверены три раствора: физиологический раствор, 1% раствор гидролизата казеина, 5% раствор пептона.

О выживаемости и биосинтетической активности штамма в зависимости от состава реактивационных сред можно судить по данным, представленным в таблице 5. Как видно из приведенных данных, состав реактивационного раствора оказывал определенное влияние на выживаемость и даже биосинтетическую активность штамма. Избирательное действие зависело от некоторых факторов, и, в первую очередь, от состава защитных сред, используемых в процессе лиофилизации и сроков хранения сухих препаратов культуры. Во всех вариантах опыта наименее пригодным для реактивации культуры оказался физиологический раствор. Его неблагоприятное действие сказалось и на биосинтетических свойствах культуры. Растворы пептона и гидролизата казеина по своим реактивационным свойствам оказались равнозначными и одинаково благоприятными. Свойство лизинообразования культуры *M. glutamicus* шт. 95 под влиянием этих растворов не только сохранялось вне зависимости от состава защитных сред и сроков хранения, как это имело место в предыдущих опытах, а несколько усиливалось по сравнению с теми вариантами, где реактивационной средой служил физиологический раствор.

Нам не удалось отметить какой-либо закономерности в характере влияния на жизнеспособность клеток состава реактивационной среды в процессе длительного хранения, скорее это зависело от состава защитных сред и условий лиофилизации.

Можно отметить еще тот факт, что растворы пептона и гидролизата казеина не оказывали стимулирующего влияния на восстановление жизнеспособности культуры, если в процессе ее лио-

Таблица 5

Зависимость выживаемости клеток и лимфообразования
M. glutamiosus шт.95 от состава реактивационных сред

Защитные среды	Оста- точная влаж- ность %	Рас- вор	М. Glutamicus шт.95																					
			Выживаемость, %		Лизин, г/л																			
					Сроки хранения (в месяцах)																			
			после сушки		3		6		12		15		18		после сушки		3		6		12		15	
Обезжиренное молоко	2	1	40	36	20	12	11	-	20	20	20	19	16	-	20	20	20	19	18	18	16	-	-	-
		2	88	55	49	42	32	-	24	22	20	20	20	18	-	24	22	20	20	20	18	18	-	-
		3	80	67	39	24	23	-	24	24	19	18	18	-	24	24	17	17	18	18	16	-	-	-
Лошадина сыворотка	2,1	1	58	53	18	12	11	-	21	20	17	17	17	-	21	20	17	17	18	18	17	-	-	-
		2	70	47	59	23	23	-	24	22	20	20	20	-	24	22	24	24	18	18	20	-	-	-
		3	70	56	41	41	35	-	25	24	17	18	18	-	25	24	17	17	18	18	16	-	-	-
Желатиновая	3,7	1	-	78	73	57	15	15	13	-	19	20	16	-	-	19	20	20	16	16	17	17	18	20
		2	-	86	86	48	13	13	10	-	16	20	16	-	-	19	20	20	16	16	17	18	20	
		3	-	87	87	24	22	22	18	-	16	20	16	-	-	16	20	20	13	13	18	18	20	
M. desiosapi	3,7	1	-	-	48	34	33	27	40	18	18	15	15	-	18	15	15	15	13	13	15	15	16	15
		2	-	-	50	41	41	33	40	33	15	15	15	-	15	15	15	13	13	13	14	16	16	
		3	-	-	53	50	50	33	33	27	15	15	15	-	15	15	15	13	13	13	15	16	15	
Физиологический	2,7	1	36	20	14	13	12	10	9	8	8	20	22	21	20	20	20	21	17	18	16	16	16	15
		2	40	30	12	10	9	8	20	22	20	20	20	21	21	20	20	21	17	18	16	16	16	15
		3	36	21	11	8	8	8	20	22	20	20	20	21	21	20	20	21	17	18	16	16	16	15

В графе "раствор" знаком:

1/ - физиологический раствор,
2/ - 1% раствор гидролизата казеина
3/ - 5% раствор пептона

филизации использовался в качестве защитной среды физиологический раствор.

В ы в о д ы

1. Состав защитных или суспензионных сред оказывает существенное влияние на жизнеспособность клеток *M. glutamicus* шт. 95 в процессе лиофилизации и хранения культуры. Из испытанных сред наиболее благоприятными оказались обезжиренное молоко, лошадиная сыворотка, 5% пептон и среда *Mist. desiccans*.
2. Биосинтетические свойства культуры в процессе лиофилизации и последующего хранения сохранялись без заметных изменений вне зависимости от состава защитных сред и жизнеспособности клеток.
3. Температура замораживания оказывала влияние на жизнеспособность клеток только в связи с составом защитных сред. При использовании обезжиренного молока высокий процент выживаемости был получен при замораживании культуры при -30° . На среде *M. desiccans* лучшие результаты получались при замораживании суспензии при $-55-75^{\circ}$, а у клеток в желатиновой среде процент жизнеспособности был выше при замораживании при более низких температурах -75° .
4. Продолжительность замораживания бактериальных суспензий, независимо от состава защитных сред, не оказывала существенного влияния на жизнеспособность и биосинтетическую активность штамма.
5. Остаточная влажность препарата в пределах от 1-4% не оказывала влияния на выживаемость культуры.
6. Состав сред для реактивации культуры оказывает влияние как на жизнеспособность, так и биосинтетическую активность клеток. Наиболее благоприятными реактивационными средами оказались растворы пептона /5%/ и гидролизата казеина /1%/. Свойство лигнинообразования *M. glutamicus* 95

под влиянием этих растворов сохранялось на исходном уровне и даже несколько усиливалось в не зависимости от состава защитных сред и сроков хранения. Неблагоприятной реактивной средой оказался физиологический раствор.

Ս. Գ. Ասլանյան, Զ. Վ. Մարշավինա

ԼԻՖԻԵ ԱՄՏԱԴՐՈՂ MICROCOCOCCUS GLUTAMICUS 95
ԿՈՒԼՏՈՒՐԱՅԻ ՊԱՀՊԱՆՄԱՆ ԵՎ ՎԵՐԱՄՏԱԴՐՄԱՆ
ՊԱՅՄԱՆԵՐԸ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ա Մ

Աշխատանքում ուսումնասիրվել են Լիֆիլիզացիայի եղանակով *Micrococcus glutamicus* շտ. 95-ի կոնսերվացման հետևողականությունները՝ կուլտուրայի կենսունակության, բիոսինթետիկ ակտիվության, ինչպես նաև Լիզինարտադրման հատկության պահպանման համար:

Լիֆիլիզացիայի ժամանակ պաշտպանողական և վերարտադրող միջավայրերի կազմը կարևոր պայման է բջջի կենսունակության պահպանման համար:

Փորձարկված միջավայրերից ամենից բարենպաստ են հեռացվել պաշտպանող միջավայրերը՝ յուրաքանչյուր կարգ, և իսկ շիճուկը, 5 տոկոս պեպտոնի լուծույթը և *Mist. desiccans* միջավայրը:

Լավագույն վերարտադրող միջավայր են հանդիսանում 5 և 10 տոկոս պեպտոնի և 1 տոկոս կազեինի հիդրոլիզատի լուծույթները:

Դարզվել է, որ *Micrococcus glutamicus* շտ. 95 կուլտուրայի երկարատև պահպանման համար 16-18 ամիս/ կարելի է Օգտագործել Լիֆիլիզացիայի եղանակը:

S.G.ASIANIAN, Z.V.MARSHAVINA.

THE CONDITIONS OF MAINTENANCE AND REPRODUCTION
OF LYSINE PRODUCER MICROCOCCUS GLUTAMICUS STR.95

S U M M A R Y

The conditions for the conservation of tested strain of *M. glutamicus* by lyophilization and reproduction of its activity have been studied. By this method the cells of *M. glutamicus* can be maintained for observed period of 6-12 months. As the preservative media more active were M.

Desiccans, horse serum, defatted milk and 5% solution of peptone. For the reproduction of biosynthetic activity more effective were the solutions of casein hydrolysate (1%) and peptone (5%).