

УДК 579.8

А.А. Кривушина¹, Т.В. Бобырева¹, Т.В. Яковенко¹, Е.В. Николаев¹**МЕТОДЫ ХРАНЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ В КОЛЛЕКЦИИ ФГУП «ВИАМ» (обзор)**

DOI: 10.18577/2071-9140-2019-0-3-89-94

Для проведения испытаний на микробиологическую стойкость материалов и изделий используются культуры микроорганизмов-деструкторов. Коллекция в лаборатории ФГУП «ВИАМ» насчитывает свыше сотни штаммов микроорганизмов, выделенных в различных климатических зонах. Для поддержания коллекции используются различные методы хранения культур микроорганизмов. К краткосрочным относятся субкультивирование и метод хранения на образцах биоповреждаемых материалов, к долгосрочным – метод криогенного замораживания и лиофилизации. Для сохранения жизнеспособности и необходимых физиологических свойств штаммов микроорганизмов-деструкторов используются все четыре метода хранения.

Ключевые слова: *биоповреждения, микроорганизмы-деструкторы, микробиологическая стойкость, методы хранения, субкультивирование, замораживание, лиофилизация.*

А.А. Krivushina¹, Т.В. Bobyreva¹, Т.В. Yakovenko¹, Е.В. Nikolaev¹**METHODS OF MICROORGANISMS-DESTRUCTORS STORAGE IN FSUE «VIAM» COLLECTION (review)**

Cultures of microorganisms-destructors are used for testing the microbiological resistance of materials and products. The collection in the laboratory of FSUE «VIAM» numbers over a hundred of strains of microorganisms collected from various climatic zones. Various methods of microorganism culture storage are used to preserve the collection. Short-term methods include subculturing and storage on samples of biodegradable materials. Long-term methods include the method of cryogenic freezing and lyophilization. All four methods of storage are used to preserve the viability and the necessary physiological properties of strains of microorganisms-destructors.

Keywords: *biodeterioration, microorganisms-destructors, microbiological resistance, storage methods, subculturing, freezing, lyophilization.*

¹Федеральное государственное унитарное предприятие «Всероссийский научно-исследовательский институт авиационных материалов» Государственный научный центр Российской Федерации [Federal State Unitary Enterprise «All-Russian Scientific Research Institute of Aviation Materials» State Research Center of the Russian Federation]; e-mail: admin@viam.ru

Введение

Как известно, все виды материалов и изделий подвержены воздействию микроорганизмов. Во ФГУП «ВИАМ» уже более 50-ти лет ведутся микробиологические исследования и испытания стойкости различных видов материалов и изделий. Ускоренные испытания на стойкость к воздействию микроорганизмов-деструкторов проводятся в лабораторных условиях в соответствии с российскими и международными стандартами. В данном случае применяется набор тест-культур, которые обладают определенной физиологической активностью и способностью поражать материалы и их компоненты. Однако помимо лабораторных испытаний во ФГУП «ВИАМ» проводятся и натурные испытания на микробиологическую стойкость в различных климатических зонах, где происходит естественное заражение материалов сотнями микроорганизмов различных видов [1–3].

Практически каждое такое исследование сопровождается выделением с поверхности экспонируемых материалов культур микроорганизмов и дальнейшим выделением их в чистые культуры. За долгие годы во ФГУП «ВИАМ» образовалась большая коллекция микроорганизмов-деструкторов, которая насчитывает свыше сотни штаммов микроорганизмов, выделенных в различных климатических зонах [4, 5]. Вся коллекция разделена на две части – музейную и рабочую, каждый штамм микроорганизма представлен в обеих частях. Рабочие культуры используются для постоянных пересевов с целью получения споровых суспензий для проведения испытаний на грибоустойкость. Музейные культуры служат для сохранения депозитария и восстановления рабочей культуры в случае ее гибели. С увеличением количества культур микроорганизмов увеличилось и количество применяемых методов их хранения.

В данной статье речь пойдет о методах, используемых в микробиологической лаборатории ФГУП «ВИАМ», для поддержания и сохранения культур микроорганизмов-биодеструкторов.

Хранение на питательных средах

Метод хранения на питательных средах еще называют методом субкультивирования или методом перевиваемых культур [6]. Сущность метода заключается в том, что культуры хранятся в стеклянных пробирках на скошенной агаризованной питательной среде (рис. 1). Пробирки закрываются целлюлозными или ватно-марлевыми пробками, а для уменьшения высыхания среды оборачиваются парафином и помещаются в холодильник с температурой 5–8°C. Данный метод является распространенным и применяется многими микробиологическими лабораториями для поддержания культур мицелиальных грибов, дрожжей, бактерий и других микроорганизмов, поскольку не требует наличия дорогостоящего оборудования и является наиболее доступным.

Субкультивирование относится к методам непродолжительного хранения микроорганизмов. Состав применяемой питательной среды зависит от типа микроорганизмов, его физиологических особенностей. В депозитории ФГУП «ВИАМ» для хранения штаммов мицелиальных грибов наиболее часто используются агаризованная среда Чапека и агаризованное сусло, для хранения культур бактерий – мясопептонный агар (МПА). Подбор питательной среды проводится индивидуально для каждого штамма микроорганизма [7]. Так, некоторые виды рода *Cladosporium* довольно медленно растут на среде Чапека, однако на среде агаризованного сусла показывают хороший рост. Еще один пример – это вид *Aureobasidium pullulans*, входящий в состав тест-культур в ГОСТ 9.048–89 [8] и в ASTM G21-15 [9]. Данный микробиотип обладает мицелиально-дрожжевым диморфизмом. На более богатой среде агаризованного сусла преобладает мицелиальная стадия с конидиальным спороношением, а на среде Чапека – дрожжевая. Этот факт является важным для прове-

дения испытаний, поскольку для обработки материала используют споровую суспензию, полученную путем смыва именно конидиального спороношения гриба. Следовательно, для выращивания *Aureobasidium pullulans* при подготовке к испытаниям необходимо применять агаризованное сусло.

Культуры микроорганизмов, хранящиеся на питательных средах, нуждаются в периодических пересевах. Периодичность данной процедуры зависит от типа микроорганизмов – для мицелиальных грибов пересев проводится приблизительно один раз в шесть месяцев. Проводить частые пересевы также не рекомендуется, поскольку в данном случае есть риск потери необходимых физиологических свойств культуры. После каждого посева культуру проверяют на чистоту и периодически проводят сокращенную проверку для выявления каких-либо изменений в фенотипических свойствах микроорганизмов [10, 11].

Метод субкультивирования имеет как достоинства, так и недостатки. Данный метод не подходит для долгосрочного хранения культур. Кроме того, есть риск вторичного заражения культуры другим штаммом плесневого гриба. В таких случаях требуется долгая и трудоемкая «расчистка» первоначальной культуры через ряд пересевов, из-за которых в некоторых случаях можно потерять культуру.

К достоинствам можно отнести доступность рабочей культуры, которая не требует специальной подготовки и может быть пересеяна на свежую питательную среду в любое время. Поэтому данная методика идеально подходит для поддержания рабочей коллекции, применяемой при испытаниях материалов и изделий на микробиологическую стойкость в лабораторных условиях.

Хранение на образцах материалов

Сущность данного метода заключается в том, что культуры микроорганизмов-деструкторов хранятся непосредственно на образцах материалов, с которых они были выделены или на их компонентах (рис. 2). Так, штаммы «керосинового» гриба *Hormoconis resiniae* хранятся в пробирках с



Рис. 1. Субкультивирование мицелиальных грибов на питательных средах



Рис. 2. Хранение культур мицелиальных грибов на материалах

топливом ТС-1 и водно-минеральной средой по ГОСТ 9.023–74 [12] в холодильнике при температуре 5–8°C [13–15]. Штаммы вида *Aspergillus flavus*, наиболее часто выделяемого с образцов различных видов тканей, хранятся на небольших образцах хлопчатобумажной ткани без пропитки, помещенных в стерильные чашки Петри, также в холодильнике при температуре 5–8°C.

Преимущество данного метода по сравнению с предыдущим заключается в возможности сохранения на должном уровне физиологических свойств микроорганизма-деструктора, а конкретно – его способности развиваться за счет компонентов материала, поскольку при частых пересевах на питательных средах вероятность потери свойств существенно возрастает. Перед проведением испытаний материалов и изделий необходимо проводить реинюляцию культуры с поверхности материалов с дальнейшим выделением чистой культуры.

Данный метод также не универсален, поскольку питательные вещества со временем истощаются, также существует риск вторичного заражения культуры, как и в случае с питательными средами, поэтому метод подходит для недолгосрочного хранения микроорганизмов. Таким образом, для успешного хранения рабочих культур микроорганизмов-деструкторов необходимо использовать оба метода краткосрочного хранения.

Криогенное замораживание культур

Долгосрочное хранение культур микроорганизмов-деструкторов без потери необходимых качеств проводится методами, которые обеспечивают замедление жизненных процессов микроорганизмов [6]. Один из таких способов – это метод глубокого (или криогенного) замораживания штаммов. Сущность метода заключается в хранении криопробирок со споровым материалом микроскопических-деструкторов в специально подготовленной среде с криопротектором при температуре (-80–86)°C. Из литературных научно-технических источников известно, что при данных температурах гибель клеток может быть в 1000 раз меньше, чем при -10°C [16]. Метод криогенного замораживания также широко используется в различных лабораториях, поскольку большинство видов микроорганизмов остаются жизнеспособными при криогенных температурах и правильном проведении процедуры заморозки. Так, согласно данным Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ), жизнеспособность около 350 штаммов микроскопических разных таксонов, которые выборочно проверили после 20 лет хранения, сохранилась [17].

Довольно широкое распространение для криогенного замораживания биоматериала получил жидкий азот, который позволяет сохранять культуры при наиболее низких температурах – менее -153°C [6, 17]. Однако применение жидкого азота является довольно дорогостоящим и не всегда

рентабельно. Многие лаборатории применяют современные морозильники и кельвинаторы, в которых успешно хранятся коллекции культур при температуре до -86°C. О том, что метод криоконсервации действительно востребован можно судить по хорошо развитой инфраструктуре производства и высоким показателям продаж криогенного оборудования, которое включает замораживатели, различные резервуары, контейнеры, морозильники и другие виды оборудования.

Во ФГУП «ВИАМ» для метода криогенного замораживания используется ультранизкотемпературный холодильник Sanyo MDF-U3386S с контролируемым диапазоном температур – от -50 до -86°C. Морозильник оборудован специальной аварийной сигнальной системой, позволяющей предотвратить потерю коллекции при перебоях с электропитанием или других форс-мажорных обстоятельствах. Культуры хранятся в специальных полипропиленовых криопробирках объемом 2 мл. Процедура криоконсервации каждого отдельного штамма требует длительной подготовки. Изначально культуры высевают в чашки Петри с твердой питательной средой и выращивают в течение 12–14 дней до образования обильного спороношения. В качестве криопротекторов используются глицерин и диметилсульфоксид, которые успешно проникают сквозь мембрану клетки и обеспечивают как внутриклеточную, так и неклеточную защиту от замораживания. В качестве протекторной среды также может быть использовано обезжиренное молоко [18].



Рис. 3. Криопробирки с биоматериалом

После выращивания культур путем смыва готовят споровую суспензию и добавляют криопротектор в концентрации 10%. Все используемые материалы, в том числе криопротекторы, заранее стерилизуют в автоклаве. Готовый препарат перемешивают в стерильные маркированные криопробирки, герметично закрывают и встряхивают (рис. 3). Для наибольшего выживания и впоследствии благополучного восстановления культуры лучше всего применять медленное замораживание

материала [10–19]. Для этого криопробирки со споровым материалом помещают в контейнер из пенопласта и переносят в ультраморозильник. Через несколько часов после замораживания спорового материала криопробирки переносят в специальные картонные контейнеры, в которых они и остаются на хранении.

Для криоконсервации рекомендуется использовать свежeweделенные культуры микроорганизмов, поскольку установлено, что чем дольше культура микроорганизма поддерживается в коллекции способом периодических пересевов, тем хуже она переносит впоследствии процедуру замораживания [17].

Различными исследованиями показано, что замороженные культуры быстро восстанавливаются при нагревании [20]. Так, исследования проводились с замороженными препаратами бактерий из Коллекции типовых культур в Америке. Для восстановления замороженных культур бактерий их подогревали способом водяной бани при 37°C и периодически встряхивали до полного исчезновения льда. Для размораживания стеклянных ампул требовалась температура 40–60°C, для полипропиленовых – от 60 до 120°C. Культуры бактерий были успешно восстановлены [10].

В случае, приведенном в данной статье, разморозку криопробирок проводили при комнатной температуре, затем криопробирки дезинфицировали в 70%-ном этаноле. В стерильных условиях криопробирку открывали и переносили споровый материал на свежую питательную среду.

Как и другие методы, криогенное замораживание имеет плюсы и минусы. Этот метод позволяет дольше сохранять культуры микроорганизмов по сравнению с предыдущими способами. К достоинствам также можно отнести тот факт, что замораживание в ультраморозильнике не требует дорогостоящего обслуживания, как в случае с применением жидкого азота. Тем не менее метод не универсален, и жизнеспособность и/или физиологические свойства культур тоже имеют свой срок сохранения. К сожалению, невозможно с точностью предсказать, каков срок хранения культур в подобных условиях, этот момент индивидуален для отдельных видов микромицетов и бактерий. Поэтому для сохранности наиболее ценных штаммов микроорганизмов необходимо дублирование штаммов методом, рассмотренным далее.

Метод лиофилизации

Лиофилизация (или сублимационное высушивание) – это метод высушивания из замороженного состояния различных видов биоматериала, при этом испарение воды происходит в условиях вакуума без оттаивания льда, что не нарушает первичную структуру материала или организма. Метод широко распространен, поскольку позволяет сохранять культуры самих микроорганизмов, а

также их необходимые физиологические свойства в течение многих десятилетий [10, 11, 19, 20–24]. Данный метод применяется для поддержания ~80% фонда микромицетов ВКМ. Согласно их данным, от 87 до 92% штаммов выживают после лиофилизации. При этом для 40% всех лиофильно-высушенных культур получены положительные результаты хранения при 5°C не менее 20 лет, а культуры более 130 видов остались жизнеспособными после 30–38 лет хранения [17].

Для проведения лиофилизации существуют сублимационные установки двух типов: коллекторного и камерного. В установках первого типа ампулу, флакон или колбу с биоматериалом в процессе сушки связывают с конденсатором или устройством для захватывания водяных паров. В камерных типах сосуды с биоматериалом помещают в общую камеру, где и происходит, как правило, весь цикл высушивания препарата [6].

Для подготовки к проведению лиофилизации (как и в предыдущем методе) выращивают культуры микроорганизмов на твердых питательных средах в чашках Петри. Очень важно получить качественный споровый материал, поскольку от условий инкубации и от зрелости культуры напрямую зависит успех лиофилизации. Заранее рассчитывают количество используемых чашек Петри с культурами, чтобы итоговая концентрация спор в суспензии была не менее 10^8 спор/мл. Как и в предыдущем методе, обязательно при приготовлении биоматериала используют вещества-криопротекторы. Как один из наиболее оптимальных вариантов в качестве криопротектора применяется 20%-ный раствор обезжиренного молока. Подобную методику используют в Коллекции типовых культур (США) [21] – 20%-ный раствор молока стерилизуют в пробирках в течение 20 мин при температуре 116°C. Очень важно не перегреть молоко, чтобы избежать его карамелизации. Далее в стерильных условиях проводят смыв спорового материала с чашек Петри приготовленным раствором молока. В качестве криопротектора также могут быть использованы сахароза, декстран (10%-ный), инозит и другие компоненты [6]. В ампулы разливают споровую суспензию по 1 мл, закрывают ватной пробкой, концы обрезают ножницами. Лишние края ватных пробок обжигают в пламени горелки. Процедуру рекомендуется выполнять как можно быстрее и с минимальным количеством движений во избежание осаждения клеток и других изменений в биоматериале.

Для лиофилизации применяется специальное оборудование – сублимационная сушилка, во ФГУП «ВИАМ» используется модель Martin Christ Alpha 1-2 LDplus (рис. 4). Сублимационная сушилка пригодна для сушки бактериальных и вирусных культур, фракций сыворотки, антител, вакцин, фармацевтических продуктов и ферментов, а также растительных экстрактов для биохимических



Рис. 4. Сублимационная сушилка для проведения лиофилизации культур микроорганизмов



Рис. 5. Культура мицелиального гриба, восстановленная из лиофилизованного препарата

исследований. Процесс лиофилизации включает несколько этапов. На первом этапе проводится замораживание биоматериала. На втором этапе происходит первичное высушивание, когда вся замороженная свободная влага сублимируется под воздействием вакуума и тепловой энергии. Третий этап – это окончательная сушка продукта, когда удаляется оставшаяся влага [22]. Длительность основной фазы сушки зависит от толщины слоя продуктов, содержания твердой фазы в продукте, количества тепла, подводимого к продукту в процессе сушки, давления внутри сушильной камеры в процессе сушки. С увеличением давления скорость сублимации растет, а период сушки сокращается. Пары воды, образовавшиеся в течение основного периода сушки, не откачиваются вакуум-насосом, а собираются ледовым конденсатором. Функция вакуум-насоса заключается в том, чтобы снизить парциальное давление неконденсирующихся газов так, чтобы пары воды могли переноситься от продукта к ледовому конденсатору. Во время основной сушки влага удаляется сублимацией, а на стадии окончательной сушки связанная влага удаляется десорбцией.

Лиофилизация (или сублимационное высушивание) культур является одним из наиболее долговечных методов, но требует наибольших затрат, специальной техники и обученного персонала. Кроме того, во Всероссийской коллекции микроорганизмов выявлены виды, представители которых даже при обильном спороношении теряют жизнеспособность в процессе проведения лиофилизации. Так, представители рода *Botrytis* утрачивают жизнеспособность приблизительно в течение 10 лет, возможно, из-за того, что образуют только склеротии в качестве покоящихся форм [17].

Для того чтобы лиофилизованные культуры остались жизнеспособными и не утратили необ-

ходимые свойства, они должны быть защищены от воздействия влаги, света и кислорода [6]. Лиофилизованные культуры хранятся в холодильниках при температуре не более 5°C в защищенном от света месте. При необходимости восстановления культуры ампулу вскрывают в стерильных условиях, переводят содержимое ампулы в суспензию и рассеивают в чашки Петри с агаризованной питательной средой (рис. 5). При прорастании спорового материала из лиофилизованной культуры довольно часто наблюдают длительную лаг-фазу, это следует учитывать и увеличивать продолжительность инкубации.

Заключения

Для эффективной и непрерывной работы очень важно поддержание культур в коллекции, поскольку при неправильном хранении микроорганизмы либо погибают, либо утрачивают свои физиологические свойства. Вся коллекция микроорганизмов во ФГУП «ВИАМ» разделена на две части: музейную и рабочую, каждый штамм микроорганизма представлен в обеих частях. Рабочие культуры используются для постоянных пересевов с целью получения споровых суспензий для проведения испытаний на грибостойкость. Музейные культуры служат для сохранения депозитария и восстановления рабочей культуры в случае ее гибели. Для поддержания коллекции используются различные методы хранения культур микроорганизмов. К краткосрочным относятся субкультивирование или метод хранения на питательных средах и метод хранения на образцах биоповреждаемых материалов. Краткосрочные методы используются как для рабочих, так и для музейных культур микроорганизмов. К долгосрочным методам относятся методы криогенного замораживания и лиофилизации. Долгосрочные методы используются для музейных культур.

Как описано ранее, каждый из методов имеет как достоинства, так и недостатки. Для хранения каждого штамма из коллекции обязательно используют как минимум один краткосрочный и один долгосрочный метод. Хранение наиболее ценных штаммов, обладающих наибольшей способностью

к биоповреждениям материалов, производится всеми четырьмя методами. Именно сочетание различных методов хранения микроорганизмов-деструкторов позволяет успешно проводить различные исследования и испытания при микробиологических повреждениях материалов и изделий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бузник В.М., Каблов Е.Н. Арктическое материаловедение. Томск: Томский гос. ун-т, 2018. Вып. 3. 44 с.
2. Полякова А.В., Кривушина А.А., Горяшник Ю.С., Яковенко Т.В. Испытания на микробиологическую стойкость в условиях теплого и влажного климата // Труды ВИАМ: электрон. науч.-технич. журн. 2013. №7. Ст. 06. URL: <http://www.viam-works.ru> (дата обращения: 25.02.2019).
3. Полякова А.В., Кривушина А.А., Горяшник Ю.С., Бухарев Г.М. Испытания на микробиологическую стойкость в натуральных условиях различных климатических зон // Труды ВИАМ: электрон. науч.-технич. журн. 2016. №4 (40). Ст. 11. URL: <http://www.viam-works.ru> (дата обращения: 25.02.2019). DOI: 10.18577/2307-6046-2016-0-4-11-11.
4. Каблов Е.Н. Ключевая проблема – материалы // Тенденции и ориентиры инновационного развития России. М.: ВИАМ, 2015. С. 458–464.
5. Каблов Е.Н. Инновационные разработки ФГУП «ВИАМ» ГНЦ РФ по реализации «Стратегических направлений развития материалов и технологий их переработки на период до 2030 года» // Авиационные материалы и технологии. 2015. №1 (34). С. 3–33. DOI: 10.18577/2071-9140-2015-0-1-3-33.
6. Похиленко В.Д., Баранов А.М., Детушев К.В. Методы длительного хранения коллекционных микроорганизмов и тенденции развития // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Сер.: Медицинские науки. 2009. №4 (12). С. 99–121.
7. Кривушина А.А., Чекунова Л.Н., Мокеева В.Л. Морфологические особенности штаммов «керосинового» гриба *Normospora resiniae* при росте в авиационном топливе и на питательных средах // Микология и фитопатология. 2019. №1. С. 23–32.
8. ГОСТ 9.048–89. Единая система защиты от коррозии и старения (ЕСЗКС). Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов. М.: Изд-во стандартов, 1994. 23 с.
9. ASTM G21-15. Standard Practice for Determining Resistance of Synthetic Polymeric Materials to Fungi. West Conshohocken (United States): ASTM International, 2015. 6 p.
10. Герна Р. Хранение микроорганизмов // Методы общей бактериологии. Пер. с англ. М.: Мир, 1983. С. 512–534.
11. Donev T. Methods for Conservation of Industrial Microorganisms. Sofia, 2001. 93 p.
12. ГОСТ 9.023–74. Единая система защиты от коррозии и старения (ЕСЗКС). Топлива нефтяные. Метод лабораторных испытаний биостойкости топлив, защищенных противомикробными присадками. М.: Изд-во стандартов, 1994. 9 с.
13. Кривушина А.А. Микромицеты в авиационном топливе: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2012. 24 с.
14. Кривушина А.А., Горяшник Ю.С. Способы защиты материалов и изделий от микробиологического поражения (обзор) // Авиационные материалы и технологии. 2017. №2 (47). С. 80–86. DOI: 10.18577/2071-9140-2017-0-2-80-86.
15. Чайкун А.М., Наумов И.С., Алифанов Е.В. Резиновые уплотнительные материалы (обзор) // Труды ВИАМ: электрон. науч.-технич. журн. 2017. №1 (49). Ст. 12. URL: <http://www.viam-works.ru> (дата обращения: 25.02.2019). DOI: 10.18577/2307-6046-2017-0-1-12-12.
16. Heckly R.J. Preservation of microorganisms // Advances in applied microbiology. San Diego: Academic Press, 1978. Vol. 24. P. 1–53.
17. Озерская С.М. Грибы в коллекциях культур: фундаментальные и прикладные аспекты: автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2012. 50 с.
18. Важинская И.С., Купцов В.Н., Коломиец Э.И. и др. Криоконсервация как эффективный способ хранения фитопатогенных грибов // Известия Национальной академии наук Беларуси. Сер. биол. наук. 2011. №4. С. 57–62.
19. Lapage S.P., Shelton J.E., Mitchell T.G., Mackenzie A.R. Culture collections and the preservation of bacteria // Methods in microbiology. London Academic Press. 1970. Vol. 3A. P. 135–228.
20. Malik K.A., Claus D. Bacterial culture collection: Their importance to biotechnology and microbiology // Biotechnology and Genetic engineering reviews. 1987. Vol. 5. P. 137–197.
21. American type culture collection methods: 1. Laboratory manual on preservation. Freezing and freeze-drying as applied to algae, bacteria, fungi and protozoa. Rockville (Maryland): ATCC. 1980. 51 p.
22. Uzunova-Doneva T., Donev T. Anabiosis and conservation of microorganisms // Journal of Culture Collections. 2004. 2005. Vol. 4. P. 17–28.
23. Morgan C.A., Herman N., White P.A., Vesey G. Preservation of micro-organisms by drying: a review // Journal of Microbiological Methods. 2006. Vol. 66. No. 2. P. 183–193.
24. Беляев А.А., Беспалова Е.Е. Выбор технологических режимов сушки волокнистых пеноматериалов // Труды ВИАМ: электрон. науч.-технич. журн. 2017. №6 (54). Ст. 08. URL: <http://www.viam-works.ru> (дата обращения: 25.02.2019). DOI: 10.18577/2307-6046-2017-0-6-8-8.