



MD 3538 G2 2008.03.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 3538 (13) G2

(51) Int. Cl.: C12N 1/18 (2006.01)

C12R 1/86 (2006.01)

C07J 9/00 (2006.01)

A61K 31/592 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

<p>(21) Nr. depozit: a 2007 0260 (22) Data depozit: 2007.09.28</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2008.03.31, BOPI nr. 3/2008</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: USATHI Agafia, MD; MOLODOI Elena, MD; MOLDOVEANU Taisia, MD; BORISOVA Tamara, MD; TOPALĂ Lilia, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD</p>	

(54) Tulpină de drojdie *Saccharomyces carlsbergensis* – sursă de steroli

(57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la tulpinile de microorganisme producătoare de substanțe biologice active, și anume la o tulpină de drojdie *Saccharomyces carlsbergensis* care poate fi utilizată pentru obținerea sterolilor, în special a ergosterolului - precursor al vitaminei D<sub>2</sub>.

10  
Tulpina de drojdie *Saccharomyces carlsbergensis*, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neputogene a Republicii Moldova cu numărul CNMN-Y-15, posedă proprietatea de biosinteză a sterolilor.

2  
5 Rezultatul constă în obținerea până la 3,8...3,9% steroli în biomasa uscată.  
Revendicări: 1

MD 3538 G2 2008.03.31

# MD 3538 G2 2008.03.31

3

## Descriere:

Invenția se referă la tulpinile de microorganisme producătoare de substanțe biologic active, și anume la o tulpină de drojdie *Saccharomyces carlsbergensis* care poate fi utilizată pentru obținerea sterolilor, în special a ergosterolului - precursor al vitaminei D<sub>2</sub>.

5 Sunt cunoscute tulpini de drojzii din genul *Saccharomyces* ce conțin în mediu 0,5...1,9% ergosterol în biomasa uscată [1 și 2]. Însă acești reprezentanți posedă capacitate redusă de sinteză a sterolilor.

10 Soluția cea mai apropiată este tulpina *Saccharomyces carlsbergensis* 31, care sintetizează 2,17...3,13% steroli în biomasa uscată [3]. Dezavantajul celei mai apropiate soluții constă în cantitatea mică de steroli sintetizați.

Problema pe care o rezolvă invenția este de a obține o tulpină cu potențial sporit de biosinteză a sterolilor.

Esența invenției constă în aceea că se propune tulpina de drojdie *Saccharomyces carlsbergensis* CNMN-Y-15 în calitate de sursă de steroli.

15 Tulpina a fost obținută din cultura de drojzii de bere comercializată, prin metoda selecției în mai multe etape, pe mediul de must de bere lichid și agarizat.

Caracteristicile morfo-culturale ale tulpinii.

Celule elipsoidale, alungite, dispuse izolat sau în perechi și ocazional formează aglomerări, uneori formează pseudohife, modul de reproducere – prin inmugurire.

20 Colonii S-forme, netede, marginea dreaptă, culoare albă, consistență păstoasă. Formează asce persistente direct din celula diploidă, ascospori neeliberați, ovali, netezi. Formează asce persistente direct din celula diploidă, ascospori neeliberați, ovali, netezi. Tipul respirației - aerob.

Caracteristicile fiziologo-biochimice ale tulpinii:

25 Nu formează peliculă. Fermentația +; nitrat -; ureaza -; testul diazonium blue B (DBB) -; drojdiile de acest tip fermentează glucoză, zaharoză, melibioză, manoză, maltoză, slab arabinoză și ramnoză, nu asimilează lactoza.

Temperatura optimă pentru cultura dată este de + 25...27°C, pH-ul optim fiind de 4,5...5,5.

Tulpina crește bine pe mediile nutritive:

30 1) Mediul sintetic care conține, g/L: peptonă – 20,0; glucoză – 20,0; extract de drojdie – 10 ml; apă potabilă – 1000 ml.

La cultivare în profunzime pe mediul dat timp de 48 ore, tulpina sintetizează până la 3,8% steroli în biomasa uscată.

2) Mediul Rieder care conține, în g/L: glucoză – 30; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 3,0; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,7; NaCl – 0,5; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> – 0,4; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,0; autolizat de drojdie – 10 ml; apă potabilă – 1 000 ml.

35 La cultivare în profunzime timp de 48 ore pe mediul dat, tulpina sintetizează până la 3,9% steroli în biomasa uscată.

Gradul de puritate a tulpinii.

40 Tulpina de drojdie *Saccharomyces carlsbergensis* este izolată în cultură pură și depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene a Republicii Moldova cu numărul CNMN-Y-15.

Rezultatul constă în obținerea până la 3,8...3,9% steroli în biomasa uscată.

Tulpina *Saccharomyces CNMN-Y-15* se folosește în modul următor.

Exemplul 1

45 În baloane Erlenmeyer de 500 ml, pe un mediu de inoculare care conține must de bere de 7%, în condiții aseptice, timp de 2 zile, pe agitator (200 rot/min), la o temperatură de +25...27°C se prepară o suspensie de germeni, care se inoculează în 200 ml mediu de cultură steril ce conține, g/L: peptonă – 20,0; glucoză – 20,0; extract de drojdie – 10 ml; apă potabilă – 1000 ml. Durata cultivării în profunzime, pe agitator (200 rot/min), la temperatura de +25...27°C, este de 48 ore.

Cultivarea în mediul și condițiile indicate asigură acumularea a 3,8% steroli în biomasa uscată.

50 Exemplul 2

În baloane Erlenmeyer de 500 ml, în mediu de inoculare care conține must de bere de 7%, în condiții aseptice, timp de 2 zile, pe agitator (200 rot/min), la o temperatură de +25...27°C se prepară o suspensie de germeni, care se inoculează în 200 ml mediu de cultură steril ce conține, g/L: glucoză – 30; (NH<sub>4</sub>) – 3,0; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 0,7; NaCl – 0,5; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> – 0,4; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,0; autolizat de drojdie – 10 ml; apă potabilă – 1 000 ml.

55 Durata cultivării în profunzime, pe agitator (200 rot/min), la o temperatură de +25...27°C, este de 48 ore.

Cultivarea în mediul și condițiile indicate asigură acumularea a 3,9% steroli în biomasa uscată.

# MD 3538 G2 2008.03.31

4

## (57) Revendicări:

Tulpină de drojdie *Saccharomyces carlsbergensis* CNMN -Y-15 - sursă de steroli.

5

## (56) Referințe bibliografice:

1. Косиков К.В., Ляпунова Т.С., Раевская О.Г., Семихатова Н.М., Кочкина И.Б., Мейсель М.Н. Синтез эргостерина гибридами и штаммами дрожжей рода *Saccharomyces* различной ploидности. Микробиология, 1977. т. 46, вып. 1, с. 86-91
2. Гальцова Р.Д., Вакина И.П. Распределение стеринов по фракциям у дрожжевых организмов в зависимости от их аэрации. Микробиология, 1981, т. 50, вып. 1, с. 84-89
3. Элиазян А.А., Мароян Э.А., Арутюнян Т.Г. Биосинтез стеринов различными дрожжами. Микробиология, 1975, т. 44, вып. 4, с. 632-636

Şef Secție: COLESNIC Inesa

Examinator: GORDIENCO Maria

Redactor: UNGUREANU Mihail