

Invenția se referă la biotehnologie, și anume la un procedeu de conservare a tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, care poate fi utilizat pentru păstrarea microorganismelor pe un termen îndelungat și utilizarea acestora ca surse de substanțe biologice active.

În prezent este cunoscut un procedeu de conservare a tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 pe un mediu protector constituit din lapte degresat, care după un an de păstrare în stare liofilizată, după 3 pasaje de cultivare, când tulpina revine la starea sa fiziologică normală, asigură obținerea unor valori ale conținutului de proteine de 36,47% din biomasa absolut uscată (BAU) [1].

Dezavantajul acestui procedeu constă în aceea că conținutul de proteine după un an de conservare în stare liofilizată este insuficient de înalt.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui procedeu de conservare a tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 prin liofilizarea acesteia, cu utilizarea unui mediu protector ce asigură sporirea conținutului de proteine din biomasa după un an de conservare.

Procedeu revendicat constă în cultivarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 pe un mediu nutritiv în decurs de 72 de ore la temperatura de 26...28°C, suspensionarea culturii într-un mediu constituit din lapte degresat și 5...10% vol. soluție ce conține 10 mg/ml de extract de polizaharide sulfatate, obținut din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* CNMN-CB-02, până la titrul de $10^5...10^6$ ml⁻¹, congelarea rapidă la temperatura de -20°C, liofilizarea și păstrarea la temperatura de 4°C.

Polizaharidele sulfatate au fost extrase din biomasa de spirulină cu apă distilată în raport de 1:45 (m/V) la temperatura de 90°C, timp de 2 ore. După centrifugare timp de 10 min, la 4800 rot./min, la supernatant s-a adăugat soluție de 1% de bromură de cetiltrimetilamoniu pentru precipitarea polizaharidelor cu centrifugare repetată la aceiași parametri. Precipitatul obținut a fost spălat cu soluție saturată de acetat de sodiu în alcool de 95%, apoi repetat cu alcool de 96% (Ratana C., Nattayaporn C., Panya T., Veara L., Suvit T., Boosya B. Polysaccharide extraction from *Spirulina* sp. and antioxidant capacity. International Journal of Biological Macromolecules. 2013, v.58, p.73-78).

După un an de conservare în stare liofilizată conținutul de proteine atinge valori de 45,70 – 46,17% din BAU.

Suplinirea mediului protector cu extract de polizaharide sulfatate, obținut din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* ce posedă acțiune antioxidantă și antiradicalică pronunțată, a contribuit la majorarea conținutului de proteine în biomasa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20.

Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea conținutului de proteine în biomasa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 după un an de păstrare în stare liofilizată cu 25,32...26,62% față de cea mai apropiată soluție.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

În tuburi înclinate cu mediu măț agarizat se cultivă tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, timp de 72 ore la temperatura de 26...28°C, după care cultura se suspensionază în mediul protector constituit din lapte degresat și 5% vol. soluție ce conține 10 mg/ml de extract de polizaharide sulfatate, obținut din biomasa de spirulină, până la titrul de $10^5...10^6$ UFC ml⁻¹. Suspensia obținută se repartizează câte 1,0 ml în flacoane, se congelează rapid la -20°C, după care se liofilizează. Probele liofilizate sunt sigilate și plasate în frigider la temperatura de 4°C. După un an de păstrare în stare liofilizată tulpina se cultivă pe mediul măț agarizat timp de 3 pasaje consecutive, pentru a reveni la starea fiziologică normală și se determină conținutul de proteine în biomasa.

Biomasa obținută conține 45,70% proteine din BAU, față de 36,47% proteine din BAU conform celei mai apropiate soluții.

Exemplul 2

În tuburi înclinate cu mediu măț agarizat se cultivă tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, timp de 72 ore la temperatura de 26...28°C, după care cultura se suspensionază în mediul protector constituit din lapte degresat și 10% vol. soluție ce conține 10 mg/ml de polizaharide sulfatate, obținut din biomasa de spirulină, până la titrul de $10^5...10^6$ UFC ml⁻¹. Suspensia obținută se repartizează câte 1,0 ml în flacoane, se congelează rapid la -20°C, după care se liofilizează. Probele liofilizate sunt sigilate și plasate în frigider la temperatura de 4°C. După un an de păstrare în stare liofilizată tulpina se cultivă pe mediul măț agarizat timp de 3 pasaje consecutive, pentru a reveni la starea fiziologică normală și se determină conținutul de proteine în biomasa.

Biomasa obținută conține 46,17% proteine din BAU, față de 36,47% proteine din BAU conform celei mai apropiate soluții.

Sporirea conținutului de proteine în biomasa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 în rezultatul conservării pot pune în evidență proprietățile tehnologice a acesteia pentru ulterioara utilizare la producerea industrială.

Tabel

Conținutul de proteine în biomasa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 după un an de conservare în stare liofilizată

Procedeul utilizat	Mediul protector	Conc. extract, %	Conținutul de proteine	
			% BAU	% M
Conform celei mai apropiate soluții	Lapte degresat	–	36,47	100,00
Conform procedeeului revendicat	Lapte degresat + extract biologic activ	5	45,70	125,32
		10	46,17	126,62

Datele din tabel demonstrează majorarea cu 25,32...26,62% a conținutului de proteine în biomasa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 în procedeul propus în invenție față de procedeul descris în cea mai apropiată soluție.