



MD 1379 Z 2020.05.31

## REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1379** (13) **Z**  
(51) Int.Cl: *C12N 1/04* (2006.01)  
*C12N 1/16* (2006.01)  
*C12N 1/20* (2006.01)  
*C12R 1/865* (2006.01)  
*C08B 37/00* (2006.01)

**(12) BREVET DE INVENȚIE  
DE SCURTĂ DURATĂ**

<p>(21) Nr. depozit: s 2018 0109 (22) Data depozit: 2018.11.27</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.10.31, BOPI nr. 10/2019</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE, MD (72) Inventatori: BATÎR Ludmila, MD; DJUR Svetlana, MD; CHIRIAC Tatiana, MD; CHISELIȚĂ Oleg, MD; RUDIC Valeriu, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE, MD</p>	

(54) **Procedeu de conservare a tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20**

**(57) Rezumat:**

1  
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.

Procedeu, conform invenției, 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

2  
mediu constituit din lapte degresat și 5...10% vol. soluție ce conține 10 mg/ml de extract de polizaharide sulfatate, obținut din biomasa de spirulină, până la titrul de  $10^5...10^6$  ml<sup>-1</sup>, congelarea rapidă la temperatura de -20°C, liofilizarea și păstrarea la temperatura de 4°C.

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%.

Revendicări: 1

MD 1379 Z 2020.05.31

**(54) Process for preserving the *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 yeast strain****(57) Abstract:**

1  
The invention relates to biotechnology, in particular to a process for preserving the *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 yeast strain, which can be used for long-term storage of microorganisms and their use as sources of biologically active substances.

The process, according to the invention, consists in cultivating the *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 yeast strain on a nutrient medium for 72 hours at a temperature of 26...28°C, suspending the culture in a medium consisting of skim milk and 5...10% vol. solution comprising 10 mg/ml of extract of

2  
sulfated polysaccharides, obtained from spirulina biomass, to a titer of  $10^5...10^6$  ml<sup>-1</sup>, rapid freezing at a temperature of -20°C, lyophilization and storage at a temperature of 4°C.

The technical result of the invention consists in increasing the protein content in the *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 yeast biomass after one year of storage in a lyophilized state by 25.32...26.62%.

Claims: 1

**(54) Способ консервирования штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20****(57) Реферат:**

1  
Изобретение относится к биотехнологии, а именно к способу консервирования штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, который может быть использован для длительного хранения микроорганизмов и их использования в качестве источников биологически активных веществ.

Способ, согласно изобретению, заключается в культивировании штамма *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 на питательной среде в течение 72 часов при температуре 26...28°C, суспендировании культуры в среде состоящей из

2  
обезжиренного молока и 5...10%об. раствора содержащего 10 мг/мл экстракта сульфатированных полисахаридов, полученного из биомассы спирулины, до титра  $10^5...10^6$  мл<sup>-1</sup>, быстрое замораживание при температуре -20°C, лиофилизацию и сохранение при температуре 4°C.

Технический результат изобретения заключается в повышении содержания белка в биомассе дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 после одного года хранения в лиофилизированном состоянии на 25,32...26,62%.

П. формулы: 1

**Descriere:**

5 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.

10 In 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].

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

15 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.

20 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<sup>-1</sup>, congelarea rapidă la temperatura de -20°C, liofilizarea și păstrarea la temperatura de 4°C.

25 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  
30 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.

35 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.

40 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

45 În tuburi înclinate cu mediu mălț 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<sup>-1</sup>. Suspensia obținută se repartizează câte 1,0 ml în flacoane, se congelează rapid la -20°C, după care se liofilizează. Probele liofilizate sunt  
50 sigilate și plasate în frigider la temperatura de 4°C. După un an de păstrare în stare liofilizată tulpina se cultivă pe mediul mălț 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.

55 Exemplul 2

În tuburi înclinate cu mediu mălț 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  $10^5 \dots 10^6$  UFC ml<sup>-1</sup>. 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 malț agarizat timp de 3 pasaje consecutive, pentru a reveni la starea fiziologică normală și se determină conținutul de proteine în biomasă.

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

10 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

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

15

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.

#### (56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Батыр Л., Джур С., Бырса М., Рошка М. Изменение биохимического состава некоторых культур дрожжей после года хранения в лиофилизированном состоянии. XII Международная научно-практическая конференция European Scientific Conference. Пенза, 7.11.2018, p. 12-15

#### (57) Revendicări:

Procedeu de conservare a tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, care include 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  $10^5 \dots 10^6$  ml<sup>-1</sup>, congelarea rapidă la temperatura de -20°C, liofilizarea și păstrarea la temperatura de 4°C.