

Invenția se referă la biotehnologie, și anume la un procedeu de conservare a tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-21, 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-21 pe mediul 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 și carbohidrați de 35,32% și 23,08% din biomasa absolut uscată, respectiv [1].

Dezavantajul acestui procedeu constă în aceea că conținutul substanțelor bioactive (proteinelor și carbohidraților) 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-21 prin liofilizarea acesteia, cu utilizarea unui mediu protector ce asigură stimularea conținutului de proteine și carbohidrați după un an de conservare.

Procedeul revendicat constă în cultivarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-21 pe un mediu nutritiv în decurs de 72 de ore la temperatura de 26-28°C, suspensionarea culturii până la titrul de 10^5 - 10^6 ml⁻¹ într-un mediu constituit din lapte degresat și 5-10% vol. soluție care conține 10 mg/ml de extract, obținut din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* CNMN-CB-02, congelarea rapidă a suspensiei la temperatura de -20°C, liofilizarea și păstrarea la temperatura de 4°C, totodată extractul este obținut prin extragerea biomasei cu soluție alcoolică de 20-30% cu separarea sedimentului, uscarea la temperatura 40-45°C, extragerea repetată cu soluție de NaOH de 0,45% timp de 60 și 30 min la agitare cu centrifugarea, separarea sedimentelor și unirea supernatantelor, dializa până la pH 7,5-8,5 și diluarea cu apă până la concentrația de 1% mas. de substanțe uscate.

După un an de conservare în stare liofilizată conținutul de proteine atinge valori de 47,79-48,40% din BAU iar cel de carbohidrați de 31,30-32,21% din BAU.

Suplinirea mediului protector cu extract bioactiv obținut din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* ce posedă acțiune antioxidantă și antiradicalică pronunțată a contribuit la majorarea conținutului de proteine și carbohidrați în biomasa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-21.

Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea conținutului de proteine și carbohidrați în biomasa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-21 după un an de păstrare în stare liofilizată respectiv cu 35,31-37,03% și 35,62-39,56%.

Rezultatul tehnic al invenției este condiționat de faptul că pentru prima dată în calitate de mediu protector pentru liofilizarea levurilor *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-21 se utilizează laptele degresat combinat cu extractul biologic activ obținut din biomasa de spirulină.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Procedeul de obținere a extractului din biomasa de spirulină se realizează în felul următor. La 1000 ml de biomasa de spirulină (100 mg/ml) se adaugă 1000 ml alcool de 30%, se agită timp de 60 min și se centrifughează la 3500 rot/min timp de 20 min. Precipitatul obținut este uscat la 40-50°C și supus extracției cu 500 ml de soluție de NaOH de 0,45%, timp de 60 min la agitare permanentă. După centrifugarea la 3500 rot/min la precipitat se adaugă 200 ml de soluție de NaOH de 0,45% și se extrage timp de 30 min. După centrifugare supernatantele se reunesc și sunt supuse dializei până la pH 7,5-8,5 și diluarea cu apă până la concentrația de 1% mas. de substanțe uscate. Extractul obținut este supus sterilizării.

Exemplul 2

În tuburi înclinate cu mediu malț agarizat se cultivă tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-21, timp de 72 ore la t° de 26-28°C, după care cultura se suspensionează în mediul protector constituit din lapte degresat și 5% vol. de extract 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 t° 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 și carbohidrați în biomasă.

Biomasa obținută conține 48,40% proteine și 32,21% carbohidrați din BAU, față de 35,32% proteine și 23,08% carbohidrați, conform celei mai apropiate soluții.

Exemplul 3

În tuburi înclinate cu mediu malț agarizat se cultivă tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-21, timp de 72 ore la t° de 26-28°C, după care cultura se suspensionează în mediul protector constituit din lapte degresat și 10% vol. extract 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 t° 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 și carbohidrați în biomasă.

Biomasa obținută conține 47,79% proteine și 31,30% carbohidrați din BAU, față de 35,32% proteine și 23,08% carbohidrați, conform celei mai apropiate soluții.

Sporirea conținutului de proteine și carbohidrați în biomasa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-21 în rezultatul conservării pot pune în evidență proprietățile tehnologice a acesteia pentru ulterioara utilizare la producerea industrială.

Tabel

Conținutul de proteine și carbohidrați în biomasa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-21, după un an de conservare în stare liofilizată

Procedeul utilizat	Mediul protector	Conc.	Conținutul de proteine		Conținutul de carbohidrați	
			% BAU	% M	% BAU	% M
Conform celei mai apropiate soluții	Lapte degresat	–	35,32	100,00	23,08	100,00
Conform procedeeului revendicat	Lapte degresat + extract biologic activ	5%	48,40	137,03	32,21	139,56
		10%	47,79	135,31	31,30	135,62

Datele din tabel demonstrează majorarea cu 35,31-37,03% a conținutului de proteine și cu 35,62-39,56% a conținutului de carbohidrați în biomasa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-21 în procedeul propus în invenție față de procedeul descris în cea mai apropiată soluție.