

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 după un an de conservare.

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 până la titrul de $10^5...10^6$ ml⁻¹ într-un mediu constituit din lapte degresat și 5...10% vol. soluție hidroetanolică de 65%, care conține 5 mg/ml de extract, obținut din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* CNMN-CB-02 prin extragerea repetată a biomasei cu etanol de 96% și de 65%, cu centrifugarea și unirea supernatantelor, după care se efectuează congelarea rapidă a suspensiei la temperatura de -20°C, liofilizarea și păstrarea la temperatura de 4°C.

După un an de conservare în stare liofilizată conținutul de proteine atinge valori de 44,02...51,23% 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 20,70...40,48%.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

În tuburi înclinate cu mediu malț agarizat se cultivă tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, timp de 72 ore la temperatura de 26...28°C, după care cultura se suspensionază pînă la titrul de $10^5...10^6$ UFC ml⁻¹ în mediul protector constituit din lapte degresat și 5% vol. soluție hidroetanolică de 65%, care conține 5 mg/ml de extract, obținut din biomasa de spirulină prin extragerea consecutivă a unui volum de biomasă de spirulină cu concentrația de 100 mg/ml cu 2 volume de etanol de 96%, după 60 min de extracție se efectuează centrifugarea, la precipitat se adaugă un volum de etanol de 65%, după 60 min se efectuează centrifugarea și supernatantele se amestecă. Soluția hidroetanolică obținută se standardizează la 65%, se determină concentrația extractului prin cântărire și se ajustează la 5 mg/ml, după care se adaugă la mediul de protecție. 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. Biomasa obținută conține 51,23% proteine din BAU, față de 36,47% proteine din BAU, conform celei mai apropiate soluții.

Exemplul 2

În tuburi înclinate cu mediu malț agarizat se cultivă tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, timp de 72 ore la temperatura de 26...28°C, după care cultura se suspensionază pînă la titrul de $10^5...10^6$ UFC ml⁻¹ în mediul protector constituit din lapte degresat și 10% vol. soluție hidroetanolică de 65%, care conține 5 mg/ml de extract, obținut din biomasa de spirulină prin extragerea consecutivă a unui volum de biomasă de spirulină cu concentrația de 100 mg/ml cu 2 volume de etanol de 96%, după 60 min de extracție se efectuează centrifugarea, la precipitat se adaugă un volum de etanol de 65%, după 60 min se efectuează centrifugarea și supernatantele se amestecă. Soluția hidroetanolică obținută se standardizează la 65%, se determină concentrația extractului prin cântărire și se ajustează la 5 mg/ml, după care se adaugă la mediul de protecție. 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. Biomasa obținută conține 44,02% 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 procedurii revendicate	Lapte degresat + extract biologic activ	5	51,23	140,48
		10	44,02	120,70

Datele din tabel demonstrează majorarea cu 20,70...40,48% a conținutului de proteine în biomasa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 în procedura propusă în invenție față de procedura descrisă în cea mai apropiată soluție.