

BIOSINTEZA CARBOHIDRA ILOR LA DROJDIILE SACCHAROMYCES CEREVISIAE ÎN FUNC IE DE CONSTITUIENTELE MEDIULUI DE CULTUR

Chiseli a Oleg, Usatîi Agafia, Chiseli a Natalia, Borisova Tamara

Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei

Rezumat

Sunt generalizate rezultatele influenței diferitor surse de carbon (glucozei, zaharozei, fructozei, manozei, melasei), a sulfatului, acetatului și 4 compuși coordinativi ai zincului asupra biosintezei carbohidraților la drojdiile *Saccharomyces cerevisiae*. Se propune un mediu nutritiv nou, care sporește cu 44,3% conținutul de carbohidrați în biomasa drojdiilor.

Cuvinte cheie: carbohidrați – drojdii - *Saccharomyces cerevisiae* - surse carbon – acetati - compuși coordinativi.

Depus la redacție 5 martie 2012

Persoana de contact: Chiselita Oleg, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei, str. Academiei, 1, MD 2028 Chișinău, tel. +373(22)73-80-13, e-mail: chiselita@mail.ru

Introducere

Organismele heterotrofe se bazează pe ingestia de molecule organice sau nutrienți din mediul înconjurător pentru a susține producerea de energie și biomasă. Organismele unicelulare au o capacitate limitată de a stoca nutrienți și sunt, prin urmare, în modul cel mai direct dependente de disponibilitatea lor. La astfel de organisme au evoluat numeroase mecanisme de adaptare și supraviețuire în condițiile de schimbare permanentă a compoziției mediului de nutriție. Natura fenomenelor fenotipice, fiziologice și moleculare induse de aceste schimbări a fost studiată detaliat la drojdiile genului *Saccharomyces*. Aceste studii au evidențiat o rețea de mecanisme de detectare și de semnalizare, care generează și transmit informații despre starea nutrițională a mediului către celule, care la rândul său pun în aplicare programe de dezvoltare specifice [11,3].

Studiul unor aspecte ale nutriției microbiene, legate de creșterea, producerea de biomasă, sporogeneza, biosinteza principiilor bioactive și dependența acestor parametri de condițiile de cultivare, este necesar pentru elaborarea diferitor metode de reglare a acestor procese. Optimizarea parametrilor de cultivare și ca rezultat creșterea acumulării biomasei și biosintezei principiilor biologic active influențează mult calitatea și productivitatea procesului biotehnologic, calitatea și activitatea biologică a preparatelor rezultate din activitatea producătorului.

Procesele metabolice la microorganisme sunt influențate de sursele de nutriție, de introducerea în mediul de nutriție a diferitor precursori ai biosintezei, elementelor chimice indispensabile, vitaminelor și stimulatorilor. Cunoașterea interdependenței dintre condițiile de cultivare și procesele fiziologice din celulele microbiene permite de a regla creșterea și dezvoltarea microorganismelor, precum și biosinteza produșilor necesari. Astfel, menținând condițiile de cultivare necesare, pot fi dirijate, într-o anumită măsură, procesele fermentative și acumularea biomasei cu conținut biochimic prognozată [18].

Eficacitatea procesului biotehologic bazat pe cultivarea în profunzime a microorganismelor este determinată în primul rând de mediul de cultură, de calitatea și cantitatea surselor de carbon, azot, factori de creștere. În acest context este evidentă oportunitatea selectării unor componente ale mediului de cultivare, care ar putea fi utilizate în scopul sporirii productivității drojdiilor și obținerii biomasei cu conținut sporit de carbohidrați.

Materiale i metode

Obiecte ale studiului au servit tulpinile de drojdii producători activi de carbohidrați *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 și *S. cerevisiae* CNMN-Y-21 [4, 6], izolate în cultură pură din microflora sedimentelor de drojdii de la vinurile roșii (Cabernet) și albe (Chardonnay).

Medii nutritive de referință: mediul MGYP – 3 g extract de malț, 3 g extract de drojdie, 5 g peptonă, 10 g D-glucoză și 1000 ml apă distilată, valoarea pH- 5,5 [1, 12] și mediul Rieder - 30,0 g glucoză, 3,0 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,7 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g NaCl, 0,4 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 1,0 g KH_2PO_4 , 10 ml autolizat de drojdii, apă potabilă 1 l, pH- 5,0-6,0 [2].

Cultivarea tulpinilor s-a realizat submers în baloane Erlenmayer cu capacitate de 1L ce conțineau 0,2 L mediu nutritiv, pe agitator rotativ (200 r.p.m.), la temperatura de 24 - 25°C timp de 120 ore. Inoculul, obținut prin cultivarea drojdiilor pe must de bere timp de 48 ore, s-a utilizat pentru mediile de fermentație în volum de 5%.

Ca sursă de carbon au fost utilizate: glucoza, zaharoza, fructoza, manoza, melasa. În calitate de reglatori ai proceselor biosintetice au fost cercetați compușii Zn: sulfatul de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), acetatul de zinc ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 4 compuși coordinați - clorură de monocloroacetat de zinc (LP-1), clorură de tricloroacetat de zinc (LP-2), clorură de tricloroacetat de zinc γ , γ' dipiridil (LP-3), tartrat de zinc imidazol (acid vinic) (LP-4), sintetizați în laboratorul Chimie anorganică al USM sub conducerea dlui academician A. Gulea.

Conținutul de biomasă celulară s-a determinat gravimetric [20]. Conținutul de carbohidrați s-a stabilit conform metodei spectrofotometrice cu utilizarea reactivului antron și D-glucozei în calitate de standard [9, 10].

Prelucrarea statistică a rezultatelor s-a efectuat computerizat cu calcularea erorilor standard pentru valorile relative și medii, s-au apreciat diferențele dintre experiment și martor după criteriul t-Student și pragul de semnificație „P” [17].

Rezultate i discu ii

Conform studiilor de specialitate, microorganismele utilizează un număr variat de substanțe organice ca sursă principală de carbon și energie. Glucoza este utilizată pentru cultivarea drojdiilor și producerea de antibiotice, steroli, xantan și diferite heteropolizaharide, acid butiric, tartric, acetic, aminoacizi, etc. [13,15]. Zaharoza, adăugată în mediul de cultură sub formă de melasă sau pură este utilizată ca substrat major pentru obținerea acidului citric, producerea drojdiei de bere, panificație și a adaosurilor biologice active în baza lor, acizilor organici, aminoacizilor, polizaharidelor [1, 14, 16]. Maltoza prezentă în malțul provenit de la fabricarea berii, este folosită pe larg la prepararea mediilor de laborator pentru cultivarea drojdiilor [1].

În această ordine de idei a fost oportună studierea influenței unor surse de carbon asupra acumulării de biomasă de către tulpinile de drojdii *S. cerevisiae* CNMN-Y 20 și

S. cerevisiae CNMN-Y 21 și biosintezei carbohidraților. Ca mediu nutritiv de referință pentru cultivarea submersă a drojdiilor a fost folosit mediul Rieder [2], deoarece este un mediu cu o compoziție biochimică determinată, în care putem substitui sursa de carbon, celelalte componente rămânând nemodificate. În unele variante experimentale concentrația glucozei din mediul Rieder a fost modificată în limitele de concentrație de la 20 la 100 g/l, iar în alte variante glucoza a fost substituită cu monozaharidele: fructoza (în concentrație de la 20 la 100 g/l), manoza (de la 20 la 80 g/l); dizaharidul zaharoza (20 - 100 g/l). În una din variante glucoza a fost substituită cu melasa (sursă de C, N, microelemente și vitamine) în concentrație de 10 - 80 g/l. Cultivarea s-a efectuat pe un agitator rotativ (200 r.p.m.), la temperatura de 23-25°C timp de 72 ore.

Rezultatele cercetărilor indicilor productivității și sintezei carbohidraților pentru tulpinile *S. cerevisiae* CNMN -Y-20 și *S. cerevisiae* CNMN -Y-21 sunt reflectate în tabelele 1 și 2.

Tabelul 1. Influența sursei de carbon asupra productivității și conținutului de carbohidrați la drojdia *S. cerevisiae* CNMN-Y-20

Nr	Sursa de carbon	Concentrația sursei de carbon, g/l	Productivitate BAU g/l	% M	Carbohidrați, % S.U. $\bar{X}_j \pm x_j$	% M
1	Glucoza	20	2,7±0,01	100	26,2±0,45	86,7
		40	2,4±0,01	88,9	27,9±0,74	92,4
		60	2,9±0,01	107,4	33,2±3,14	110,0
		80	2,7±0,01	100	26,6±3,13	88,1
		100	2,7±0,01	100	27,3±3,78	90,4
2	Zaharoza	20	2,4±0,01	88,9	29,5±0,39	97,7
		40	2,9±0,01	107,4	36,4±3,59	120,5*
		60	3,3±0,02	122,2	31,6±2,95	104,6
		80	3,3±0,02	122,2	30,3±3,67	100,3
		100	2,9±0,01	107,4	29,4±4,25	97,3
3	Fructoza	20	2,9±0,01	107,4	27,3±0,57	90,4
		40	3,3±0,02	122,2*	30,2±0,03	100,0
		60	3,5±0,02	129,6*	39,1±0,84	129,5*
		80	3,5±0,03	129,6*	32,5±0,30	107,6
		100	3,5±0,02	129,6*	30,6±1,38	101,3
4	Manoza	20	2,7±0,01	100	27,6±0,93	91,3
		40	2,7±0,01	100	25,0±0,31	82,8
		60	2,7±0,01	100	22,5±0,05	74,5
		80	2,9±0,01	107,4	24,0±1,37	79,5
5	Melasa	10	2,9±0,01	107,4	32,9±2,69	108,9
		20	4,9±0,09	181,5*	40,9±2,31	135,4*
		40	6,8±0,12	251,8*	32,8±0,45	108,6
		60	7,9±0,13	292,6*	31,8±1,32	105,3
		80	7,5±0,13	277,8*	31,0±0,87	101,3
6	Martor	30	2,7±0,01	100	30,2±1,26	100

* - veridicitatea în comparație cu martorul - p<0,05.

Prin analiza datelor obținute s-a constatat, că sursele de carbon prezente în mediul nutritiv manifestă acțiune selectivă asupra acumulării biomasei și sintezei carbohidraților la tulpinile în studiu. Productivitatea maximală a drojdiilor s-a înregistrat pe mediul în care glucoza a fost substituită prin melasă, sporul de biomasă variind în dependență de concentrația utilizată de la 7,4% până la 192,6% față de martor la tulpina *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 (tabelul 1) și de la 45,8 până la 212,5% față de martor la *S. cerevisiae* CNMN-Y-21 (tabelul 2).

Substituirea glucozei din mediul martor cu manoză nu a influențat semnificativ metabolismul drojdiilor, conținutul de biomasă celulară oscilând în jurul valorilor mediului martor.

Productivitate sporită a ambelor tulpini de drojdie a fost observată în variantele ce conțin diferite concentrații de fructoză. Sporul conținutului de biomasă a fost cu 22,2% -29,6% comparativ cu martorul pentru *S. cerevisiae* CNMN -Y-20 (tabelul 1) și cu 12,5% - 45,8% pentru *S. cerevisiae* CNMN -Y-21 (tabelul 2).

Tabelul 2. Influența sursei de carbon asupra productivității și conținutului de carbohidrați la drojdia *S. cerevisiae* CNMN-Y-21

Nr	Sursa de carbon	Concentrația sursei de carbon, g/l	Productivitate BAU g/l	% M	Carbohidrați, % S.U. $\bar{X}_1 \pm x_1$	% M
1	Glucoza	20	2,7±0,01	112,5	20,9±1,19	92,5
		40	2,1±0,01	87,5	23,6±2,44	104,4
		60	2,4±0,01	100	21,4±2,10	94,7
		80	2,4±0,01	100	24,3±4,23	107,5
		100	2,1±0,01	87,5	21,9±2,33	96,9
2	Zaharoza	20	2,9±0,02	120,8*	29,7±1,61	131,4*
		40	2,4±0,01	100	31,4±1,55	138,9*
		60	2,7±0,01	112,5	26,6±2,74	117,7
		80	2,9±0,01	120,8*	29,1±1,80	128,8*
		100	2,4±0,01	100	25,4±2,91	112,4
3	Fructoza	20	2,7±0,01	112,5	25,7±0,36	113,7
		40	2,9±0,01	120,8*	31,8±0,78	140,7*
		60	3,2±0,03	133,3*	32,5±1,29	143,8*
		80	3,5±0,03	145,8*	32,2±1,04	142,5*
		100	2,9±0,01	120,8*	30,5±1,04	134,9*
4	Manoza	20	2,5±0,01	104,2	29,1±0,76	128,8*
		40	2,4±0,01	100	22,9±0,22	101,3
		60	2,4±0,01	100	21,8±0,19	96,5
		80	2,1±0,01	87,5	22,0±0,80	97,3
5	Melasa	10	3,5±0,04	145,8*	27,4±2,34	121,2*
		20	4,8±0,09	200,0*	29,8±0,10	131,8*
		40	7,0±0,14	291,7*	25,8±3,54	114,2*
		60	7,5±0,15	312,5*	28,1±3,06	124,3*
		80	7,4±0,15	308,3*	29,1±0,99	128,8*
6	Martor	30	2,4±0,01	100	22,6±0,37	100

* - veridicitatea în comparație cu martorul - $p < 0,05$

La estimarea activității de sinteză a carbohidraților s-a stabilit, că substituirea glucozei prin sursele de carbon cercetate, cu excepția manozei, asigură valori mai ridicate ale conținutului de carbohidrați, comparativ cu cele determinate pe mediul de referință.

Efect stimulator pronunțat pentru ambele tulpini *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 și *S. cerevisiae* CNMN-Y-21 a fost obținut la substituirea în mediul nutritiv a glucozei prin zaharoză – 40 g/l, fructoză în concentrație de 60 g/l sau melasă – 20 g/l, în prezența cărora tulpina *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 a acumulat cu 20,5 - 35,4% mai mulți carbohidrați față de mediul martor, iar tulpina *S. cerevisiae* CNMN-Y-21, la aceste concentrații a acumulat cu 38,9 - 43,8% mai mulți carbohidrați. Majorarea concentrației sursei de carbon în mediul de cultură până la 80-100 g/l în majoritatea cazurilor condiționează un efect moderat la acumularea carbohidraților de către ambele tulpini.

Generalizând rezultatele obținute privitor la rolul sursei și concentrației de carbon în nutriția drojdiilor se poate afirma, că tulpinile *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 și *S. cerevisiae* CNMN-Y-21 metabolizează eficient melasa, fructoza și zaharoza. Efect benefic asupra acumulării biomasei celulare și sintezei carbohidraților exercită substituirea glucozei (30 g/l) în mediul nutritiv Rieder prin melasă (20 g/l) și fructoză (40 și 60 g/l).

Un rol important în activitatea biosintetică a microorganismelor îl are prezența cantităților suficiente ale oligoelementelor în mediul de cultivare. Pentru nutriția microorganismelor sunt necesare bioelemente minore cum ar fi Zn, Mn, Mo, Se, Co, ca elemente esențiale pentru activități metabolice. Un loc deosebit îi revine zincului, care este parte componentă a ADN-și ARN-polimerazelor.

În acest context, pentru a elabora noi medii de cultură și procedee de dirijare a biosintezei carbohidraților la drojdii, este oportun de a estima influența zincului în diferite combinații chimice: sulfati, acetati sau compuși coordinativi, în calitate de reglatori ai proceselor metabolice.

Pentru a selecta compuși de perspectivă s-a comparat nivelul productivității tulpinilor și cantității de carbohidrați în biomasa tulpinilor de drojdii *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 și *S. cerevisiae* CNMN-Y-21.

Inițial s-a cercetat efectul sulfatului de zinc care a fost inclus în mediul nutritiv MGYP în concentrație de 5 mg/l. Rezultatele studiului indică că atât productivitatea, cât și conținutul de carbohidrați practic rămâne neschimbat. Efectul moderat al $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ în concentrația studiată, asupra productivității drojdiei și acumulării carbohidraților la tulpina *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 denotă faptul, că acest compus nu are un rol fundamental în activitățile metabolice ale celulelor drojdiei.

Pornind de la informația că acetatii, de regulă, acționează ca inductori în unele procese de biosinteză a principiilor bioactive [7], în continuare s-a urmărit influența acetatului de zinc asupra sintezei carbohidraților. Analiza rezultatelor a arătat, că efectul compusului chimic este variabil și depinde de concentrație. Spre exemplu, acetatul de zinc în concentrație de 10 și 20 mg/l, inclus în componența mediului Rieder, sporește conținutul de carbohidrați totali în biomasa tulpinii *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 cu 26 și respectiv 14 % față de martor (figura 1). Majorarea conținutului de carbohidrați are loc pe fundalul descreșterii producerii de biomasă. Asupra tulpinii *S. cerevisiae* CNMN-Y-21 acetatul de zinc a avut un efect moderat, în unele cazuri stimulând productivitatea și inhibând ușor sinteza carbohidraților.

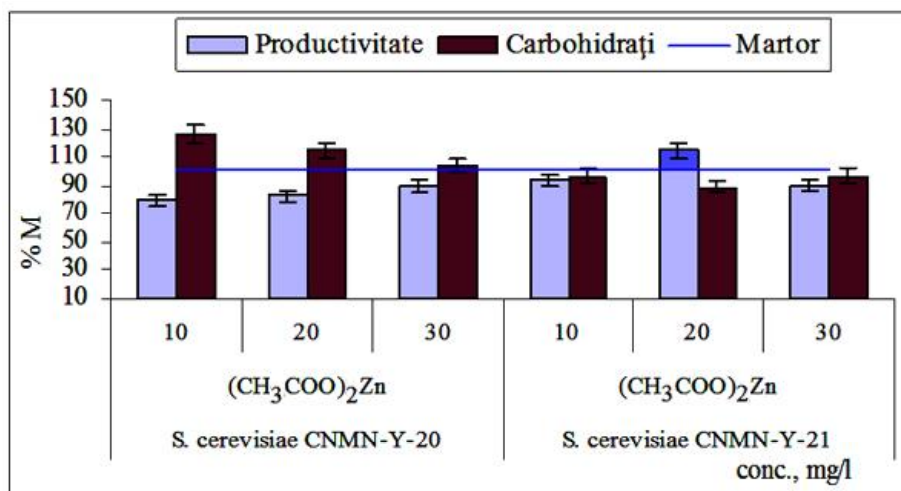


Figura 1. Influen a acetatului de zinc asupra productivității tulpinilor *S. cerevisiae* CNMN-Y-20, *S. cerevisiae* CNMN-Y-21 și conținutului de carbohidrați, % față de martor.

Efectul pozitiv al compușilor chimici sub formă de acetat de Zn (II) asupra procesului de sinteză a carbohidraților poate fi explicat atât prin faptul includerii ionilor de Zn²⁺ în calitate de cofactori strict necesari în enzimele cheie pentru biosinteza glucanilor și mananilor de către microorganismele și în special de drojdiile [19], cât și prin implicarea lor în reglarea genelor Zn²⁺- dependente, responsabile de depozitarea și metabolismul glucidelor [8].

Pentru evidențierea efectului în care zincul a fost utilizat sub formă de compus coordinativ au fost cercetate 4 complexe: ZnLP-1 - clorură de monocloroacetat de zinc; ZnLP-2 - clorură de trichloroacetat de zinc; ZnLP-3 - clorură de trichloroacetat de zinc γ , γ' dipiridil; ZnLP-4 - tartrat de zinc imidazol (acid vinic) în concentrații de 5, 10, 15, 20 mg/L. Din rezultatele reflectate în figura 2 reiese, că proprietăți de stimulare semnificativă a sintezei endopolizaharidelor posedă compusul Zn LP-2 - clorură de trichloroacetat de zinc. În concentrație de 5 și 10 mg/l, compusul inclus în componența mediului MGYB, intensifică sinteza carbohidraților intracelulari cu 18 % și respectiv 25 % față de martor (figura 2).

Cei alți compuși coordinativi au manifestat efect stimulator mai puțin pronunțat. Proprietățile reglatoare ale complexelor coordinative ale zincului asupra productivității și biosintezei carbohidraților la drojdiile *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 și *S. cerevisiae* CNMN-Y-21 sunt determinate de concentrația compusului.

Astfel, rezultatele studiului influenței zincului în diferite combinații chimice ilustrează efectul neunivoc asupra productivității și biosintezei carbohidraților la tulpinile de drojdiile. Rezultatele obținute denotă, că un important factor de dirijare a biosintezei carbohidraților sunt acetatii și compușii coordinativi ai zincului. Reieșind din cele relatate, acetatul de zinc și compusul coordinativ ZnLP-2 - clorură de trichloroacetat de zinc, se recomandă pentru utilizare în calitate de stimulatori specifici sintezei carbohidraților la cultivarea submersă a tulpinii *S. cerevisiae* CNMN-Y-20.

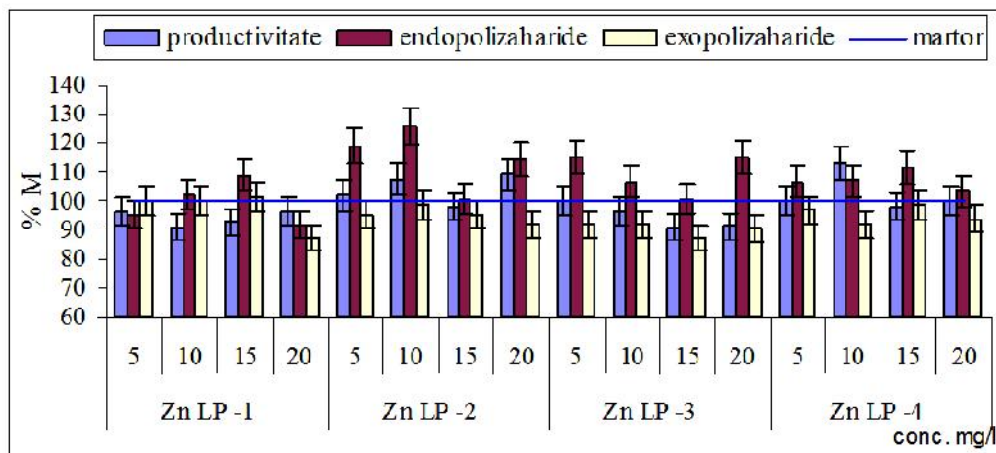


Figura 2. Influen a compu ilor coordinativi ai Zn (II) asupra productivit ii tulpinii *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 i con inutului de carbohidra i, % fa de martor.

Legenda: ZnLP-1 - clorur de monocloroacetat de zinc; ZnLP-2 - clorur de tricloroacetat de zinc; ZnLP-3 - clorur de tricloroacetat de zinc γ, γ' dipiridil; ZnLP-4 - tartrat de zinc imidazol (acid vinic).

Etaua ulterioar de cercetare a fost axat pe elaborarea unui mediu de cultur care s asigure sporirea productivit ii drojdiilor i con inutului de carbohidra i n biomas. Pentru rezolvarea obiectivelor propuse, tulpina de drojdie *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 a fost cultivat n 5 variante de medii nutritive cu compozi ia, g/l:

Varianta 1 - melas - 20,0, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 3,0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,7, NaCl - 0,5, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,4, KH_2PO_4 - 1,0, autolizat de drojdie - 10 ml, ap potabil 1 l;

Varianta 2 - glucoz - 30,0, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 3,0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,7, NaCl - 0,5, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,4, KH_2PO_4 - 1,0, autolizat de drojdie - 10 ml, clorur de tricloracetat de zinc - 10 mg/l, ap potabil 1 l;

Varianta 3 - glucoz - 30,0, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 3,0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,7, NaCl - 0,5, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,4, KH_2PO_4 - 1,0, autolizat de drojdie - 10 ml, acetat de zinc - 10 mg/l, ap potabil 1 l;

Varianta 4 - melas - 20,0, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 3,0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,7, NaCl - 0,5, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,4, KH_2PO_4 - 1,0, autolizat de drojdie - 10 ml, clorur de tricloracetat de zinc - 10 mg/l, ap potabil 1 l;

Varianta 5 - melas-20,0, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 3,0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,7, NaCl - 0,5, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,4, KH_2PO_4 - 1,0, autolizat de drojdie - 10 ml, acetat de zinc - 10 mg/l, ap potabil 1 l.

n calitate de martor a servit mediul Rieder cu urm torul raport al ingredientelor, (g/L): glucoz - 30,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 3,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,7; KH_2PO_4 - 1,0; NaCl - 0,5; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,4; autolizat de drojdie - 10 ml; ap potabil - p n 1 L [2].

Condi iile de cultivare prestabilite: temperatura - 24°C...25°C, concentra ia O_2 n mediu - 7,3 mg/l, pH-ul ini ial - 5,5 durata de cultivare - 120 ore.

Rezum nd rezultatele prezentate n figura 3 putem concluziona c productivitatea de 4,9 g/l BAU i con inutul maximal de carbohidra i 44,6% S.U. (cea ce este cu 63,3% i respectiv 44,3% mai mult fa a tulpinii se realizeaz pe

mediul în compoziția căruia au fost incluse melasa (20 g/l) și compusul coordinativ clorură de tricloracetat de zinc (10 mg/l) - varianta 4 de mediu.

Efectul biostimulator al componentelor variantei patru de mediu este inițiat de includerea melasei, produs ce conține în jurul la 50% zaharoză, 0,5% amestec glucoză și fructoză, 2% rafinoză, necesare dezvoltării drojdiilor, precum și a compusului coordinativ clorură de tricloracetat de zinc, care participă în calitate de cofactor ai sistemelor enzimatic, contribuind astfel la intensificarea multiplicării drojdiei și biosintezei carbohidraților.

Varianta de mediu în compoziția căruia au fost incluse melasa (20 g/l) și compusul coordinativ clorură de tricloracetat de zinc (10 mg/l) este brevetată [5].

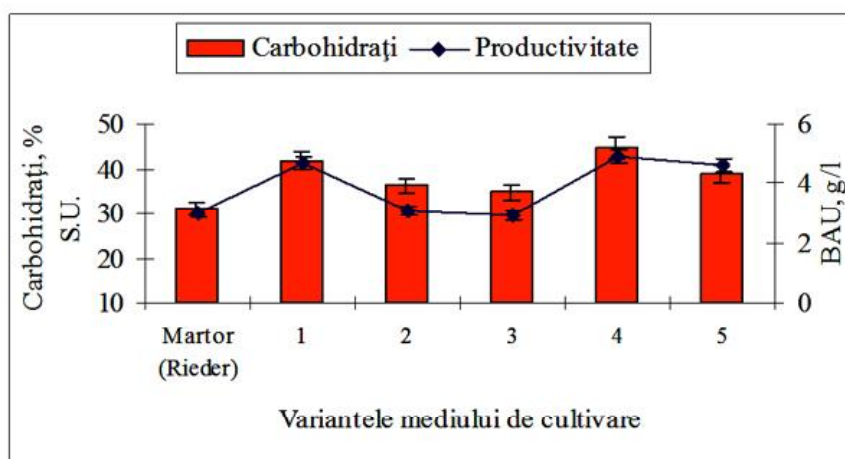


Figura 3. Productivitatea și conținutul de carbohidrați la drojdia *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 la cultivare submersă în condițiile prestabilite pe medii cu diferite compoziții.

Rezultatele obținute experimental demonstrează influența factorilor de mediu asupra multiplicării și activității vitale a celulei de drojdie și reacționarea acesteia prin modificări de biosinteză a componentelor celulare. Corelarea dată prezintă un mecanism puternic de reglare a relațiilor „microorganism – mediu” și creează posibilități de orientare a proceselor metabolice la drojdie în scopuri de utilizare practică.

Concluzii

1. Tulpinile de drojdie *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 și *S. cerevisiae* CNMN-Y-21 metabolizează eficient zaharoză, fructoză și melasă. Efect pozitiv asupra acumulării biomasei celulare și sintezei carbohidraților exercită substituția glucozei (30 g/l) în mediul nutritiv Rieder prin melasă (20 g/l) și fructoză (40 sau 60 g/l).

2. Un important factor de dirijare a biosintezei carbohidraților este acetatul de zinc. Pentru tulpina *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 acetatul de zinc în concentrație de 10 și 20 mg/l sporește conținutul de carbohidrați în biomasă cu 26 și respectiv 14 % față de martor. Majorarea conținutului de carbohidrați are loc pe fundalul descreșterii producției de biomasă celulară.

3. Proprietățile reglatoare ale complexelor coordinative ale zincului asupra productivității și biosintezei carbohidraților la tulpinile *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 și *S. cerevisiae* CNMN-Y-21 sunt determinate de concentrația compusului. Eficiență înaltă

s-a stabilit pentru compusul clorură de tricoloracetat de zinc în concentrație de 10 mg/l.

4. Conținut maximal de biomasă celulară și carbohidrați la tulpina *S. cerevisiae* CNMN-Y-20 se realizează pe mediul de cultivare care conține, (g/L): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,7; NaCl - 0,5; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - 0,4; KH_2PO_4 - 1,0; autolizat de drojdii - 10 ml; melasă – 20; compusul coordinativ clorură de tricoloracetat de zinc - 10 mg/l ; apă potabilă până la 1 l; pH- 5,5.

Bibliografie

1. Anghel I., Voica C., Toma N., Cojocaru I. Biologia și tehnologia drojdiilor. //București: Edit. Tehnică, 1991, vol. 2. 385 p.
2. Anghel I., Vassu T., Segal B., Berzescu P. ș.a. Biologia și tehnologia drojdiilor.// București: Edit. Tehnică, 1993, vol. 3. 308 p.
3. Berthels N. J., Cordero Otero R.R., Bauer F.F. et al. Discrepancy in glucose and fructose utilisation during fermentation by *S. cerevisiae* wine yeast strains.// In: FEMS Y. Res. 2004, vol. 4(7), p. 683-689.
4. Brevet de invenție. 4048 B1, MD, C12N 1/16 Tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae*-sursă de β -glucani// Chiselița O. ș.a. (MD). Cererea depusă 2010.02.11, BOPI nr. 6/2010.
5. Brevet de invenție. 4086 B1, MD, C12N 1/16, C12R 1/865, C12P 19/00 Mediu nutritiv pentru cultivarea tulpinii de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20. //Chiselița O. ș.a. (MD). Cererea depusă 2010.09.08, BOPI nr. 12/2010.
6. Chiselița O. Studii privind izolarea din microflora sedimentelor vinicole a unor tulpini de drojdii cu potențial sporit de biosinteză a carbohidraților. //În: Mediul ambient, 2009, nr. 4(46) p. 26-29.
7. Cojocari A. Particularitățile fiziologo-biochimice și biotehnologice ale tulpinii *N. linckia* (Roth) Born et Flah CNM-CB-03 sursă de substanțe bioactive. //Teza de dr. în biologie. Chișinău, 2006. 139 p.
8. De Nicola R., Hazelwood L.A., De Hulster E.A. et al. Physiological and transcriptional responses of *S. cerevisiae* to zinc limitation in chemostat cultures.// In: Appl. Environ. Microbiol., 2007, vol. 73(23), p. 7680-7692.
9. Dey P., Harborne J. Methods in Plant Biochemistry.// În: Carbohydr. Academic Press, 1993, vol. 2, 529 p.
10. Duca M., Savca E., Port A. Fiziologia vegetală. Tehnici speciale de laborator.// Chișinău: USM, 2001. 173 p.
11. Gagiano M., Bauera F. F., Pretorius I.S. The sensing of nutritional status and the relationship to filamentous growth in *S. cerevisiae*.// In: FEMS Y. Res., 2002, vol. 2(4), p. 433-470.
12. Kiran M. Desai, et al. Use of an artificial neural network in modeling yeast biomass and yield of β -glucan.// In: Process Biochem., 2005, vol. 40(5), p. 1617-1626.
13. Moldoveanu D., Militaru C., Moldoveanu I. Microbiologie și Inginerie genetică. // București, 2001. p. 46-50.
14. Oniscu C., Cașcaval D. Inginerie Biochimică și Biotehnologie.// Iași, 2002. 451 p.
15. Paraggio M., Fiore C. Screening of *S. cerevisiae* wine strains for the production of acetic acid.// In: World J. Microbiol. and Biotechnol., 2004, vol. 20(7), p. 743-747.
16. Pavlova K., et al. Production and characterization of an exopolysaccharides by yeast. //In: World J. Microbiol. and Biotechnol., 2004, vol. 20(4), p. 435-440.
17. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта.// Москва: Колос, 1985. 336 с.
18. Залашко М. В. Физиологическая регуляция метаболизма дрожжей. //Мн.: Наука і тэхніка, 1991. 332 с.
19. Промышленная микробиология: Учебное пособие для вузов по спец. «Микробиология» и «Биотехнология».// М.: Высш. шк., 1989. 688 с.
20. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Под ред. Егорова Н. //М., МГУ, 1995, 224 с.