

**MICROBIOLOGIA I BIOTEHNOLOGIA****SUBSTRATURI NUTRITIVE PENTRU DEZVOLTAREA I  
BIOSINTEZA MAXIMAL A -GLUCANILOR LA TULPINA  
SACCHAROMYCES CEREVISIAE CNMN-Y-20**

**Usatii Agafia, Chiseli a Natalia, Molodoi Elena,  
Efremova Nadejda, Fulga Ludmila, Borisova Tamara**

*Institutul de Microbiologie i Biotehnologie al Academiei de tiin e a Moldovei*

**Rezumat**

Au fost selectate sursele i concentra iile substratelor nutritive necesare dezvoltarii i eficien ei biosintezei -glucanilor la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20. Principalele surse de carbon, azot, minerale, utilizate la formularea mediilor de cultur , sunt glucoza, zaharoza, hidrogenofosfatul de amoniu, acetatul de zinc, care creeaz condi iile performan elor tulpinii de levuri. Pentru producerea maximal a -glucanilor de c tre *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 se recomand mediul YPD cu utilizarea glucozei în concentra ie de 3-4%. Un alt mediu de cultur pentru biosinteza maximal a -glucanilor este mediul Rieder suplimentat cu 3% zaharoz i 0,01...0,02% acetat de zinc. Hidrogenofosfatul de amoniu asigur rentabilitate mediului de cultivare YPD datorit cre terii esen iale a producerii de biomas celular .

*Cuvinte cheie:* *Saccharomyces cerevisiae*, -glucani, carbohidra i, carbon, azot, acetat de zinc.

*Depus la redac ie* 30 aprilie 2013

-----  
*Adresa pentru coresponden :* Usatii Agafia, Institutul de Microbiologie i Biotehnologie al Academiei de tiin e a Moldovei, str. Academiei, 1, MD-2028 Chi in u, Republica Moldova; E-mail: usaty.agafia@gmail.com; tel. (+37322)73-80-13.

**Introducere**

Importan a glucanilor pentru medicin , farmaceutic , industria alimentara , condioneaz dezvoltarea rapid a producerii acestora în cantit i suficiente. Produc torii performan i de aceste glucide se prezint levurile. Mananii, glucanii, chitina i proteinele sunt componentele majore ale pere ilor celulari a levurilor genului *Saccharomyces*. Glucanii sunt polizaharide complexe, prezente la levuri, compu i din unit i de D-glucopiranoz legat -(1-6) i -(1-3) [8]. Glucanii levurilor genului *Saccharomyces* se dovedesc a fi cu activit i imunologice deosebite [7].

Produc ia de glucani depinde în mod semnificativ de con inutul lor în peretele celular al levurii. În general, schimb rile în starea fiziologic a celulei i reac ia sa la influen a factorilor externi sunt determinate inclusiv de structura i de modific rile peretelui celular. Arhitectura peretelui unei celule i mecanismele responsabile de sinteza componentelor acestuia pot fi controlate de compozi ia mediului de cultur [9].

Mediile de cultur ar trebui s con in substan e inductoare care pot facilita dezvoltarea levurilor i care nu afecteaz viabilitatea lor. Cercet rile au ar tat c pentru *S. cerevisiae*, este necesar ca în mediul de cultur s fie incluse surse de carbon, azot,

al i factori de cre tere [1]. În calitate de surs de carbon utilizat pentru fermentare i pentru a spori randamentul producerii de glucani de c tre *S. cerevisiae* pot fi nominalizate glucoza, zaharoza, lactoza, fructoza, maltoza, manoza, amidonul. Glucoza este cotate ca cea mai important surs pentru biosinteza glucanilor [3].

În calitate de surs de azot organic pentru fermentare se aplic peptona i extractul de drojdii, combinate cu surse de azot anorganic cum sunt sulfatul de amoniu, azotatul de potasiu, cazeina [10,11].

Reie ind din faptul c compozi ia biomasei de levuri ar putea fi modificat în mod semnificativ prin intermediul mediului de cultur, pentru produc ia înalt de glucani este important de a optimiza factorii specifici produc torilor identifica i.

**Scopul cercet rilor.** Elaborarea unor formule noi a mediilor de cultur pentru producerea maximal a -glucanilor la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20.

### Materiale i metode

**Obiectul de studiu.** Obiect de cercetare a servit tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 cu capacit i înalte de biosintez a -glucanilor [4].

**Medii i condi ii de cultivare.** Materialul semincer a fost ob inut prin cultivarea tulpinii levuriene pe must de bere, timp de 48 h, pe agitator rotativ 200 r.p.m., la temperatura de 24...25°C. Inoculul s-a utilizat pentru mediile de fermenta ie în volum de 5%, 2x10<sup>6</sup> celule/ml. Cultivarea în profunzime s-a realizat în baloane Erlenmeyer cu capacitate de 1 L ce con in 0,2 L mediu nutritiv.

Tulpina a fost cultivat pe 2 medii nutritive: YPD, g L<sup>-1</sup> - 20,0 extract de drojdii, 20,0 pepton, 20,0 glucoz [1] i mediul Rieder, g L<sup>-1</sup> - 30,0 glucoz, 3,0 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,7 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,5 NaCl, 0,4 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 1,0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 ml autolizat de levuri, ap potabil 1 l, pH- 5,0-6,0 [2].

Mediile nutritive au fost completate cu surse de carbon: glucoza, zaharoza, fructoza, manoza, melasa, etanolul în concentra ii de (w/v): 1%, 2%, 3%, 4%, 5%; azot amoniacal: sulfatul de amoniu i hidrogenofosfatul de amoniu, în concentra ii de (w/v): 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%.; acetat de zinc (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Zn în concentra ii de (w/v): 0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,03 %.

Cultivarea submers s-a realizat pe agitatoare cu viteza de rota ie 200 r.p.m. la temperatura de 24-25°C, durata de cultivare în profunzime 120 ore.

**Metode de realizare a cercet rilor.** Biomasa celular s-a determinat gravimetric [6]. Carbohidra ii totali au fost determina i cu utilizarea reactivului antron i D-glucozei în calitate de standard, la spectrofotometrul T60 VIS Spectrophotometer, la lungimea de und =620 nm [5]. -glucanii au fost determina i gravimetric conform metodei descrise Thammakiti, S. et al. [12]. Prelucrarea statistic a rezultatelor s-a efectuat computerizat cu calcularea erorilor standard pentru valorile relative i medii, s-au apreciat diferen ele dintre experiment i martor dup criteriul t-Student i pragul de semnifica ie „P” [13].

### Rezultate i discu ii

*Efectul surselor i concentra iilor de carbon la producerea -glucanilor la tulpina Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20.

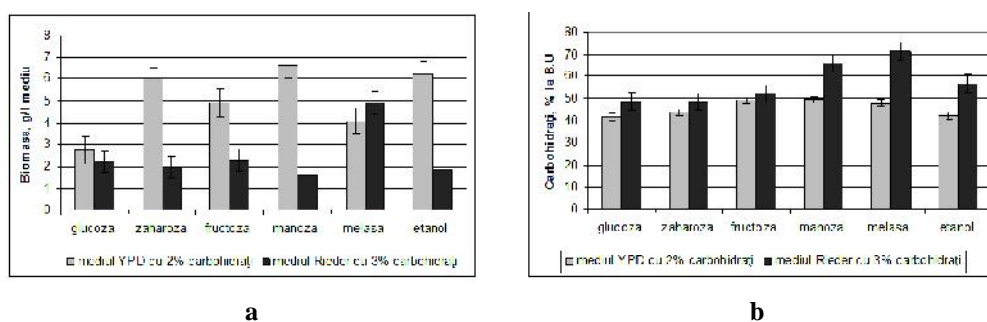
Carbohidra ii au importan deosebit în procesele de biosintez a principiilor bioactive. Glucoza (dextroz) sau zah rul de struguri (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>O<sub>5</sub>CHO) este componenta

de baz din care sunt construite mai multe polizaharide - -glucanii, glicogenul, amidonul, celuloza. Glucoza intr în componen a zaharozei, maltozei, lactozei, u or se absoarbe în sânge. O alt monozaharid – manoză ( $\text{HOCH}_2(\text{CHOH})_4\text{CHO}$ ), este componenta mai multor polizaharide, în special a mananilor.

În scopul select rii surselor adecvate pentru ob inerea -glucanilor au fost efectuate cercet ri de evaluare a efectelor diferitor surse i concentra ii de carbon ad ugate în mediile de fermenta ie YPD i Rieder.

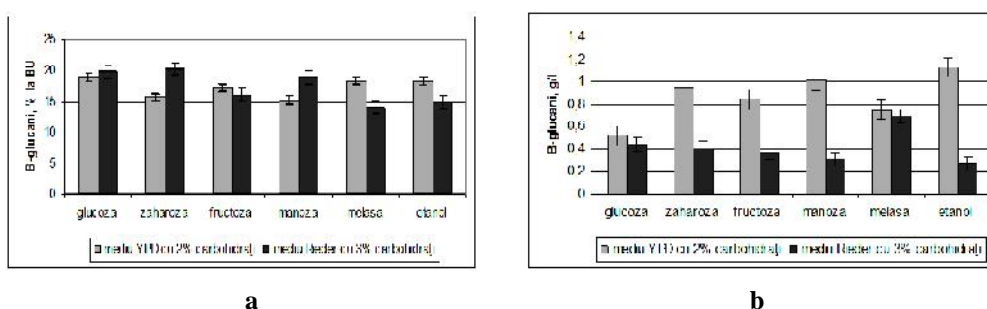
Criteriile de evaluare au servit con inutul de biomas celular ( $\text{g L}^{-1}$  mediu de cultur ), con inutul de carbohidra i totali (% la B.U.), con inutul de -glucani (% la B.U. i  $\text{g L}^{-1}$  mediu de cultur ).

Studiul efectelor glucozei, zaharozei, fructozei, manozei, melasei, etanolului în concentra ii de (w/v) 2% incluse în mediul de fermenta ie YPD i 3% - în mediul Rieder a demonstrat c pe mediul de cultur YPD cantit ile de biomas sunt semnificativ superioare celor ob inute pe mediul Rieder (Fig. 1a). De men ionat c con inutul de carbohidra i totali pentru toate sursele de carbon testate este mai înalt pe mediul Rieder comparativ cu mediul YPD. Maximul de carbohidra i 71,64% - 65,92% la B.U. s-au ob inut la suplimentarea mediului cu melas sau manoz (Fig.1 b).



**Figura 1. Efectul surselor de carbon asupra con inutului de biomas (a) i carbohidra i (b) la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20.**

Cantitatea de -glucani în toate variantele mediului YPD are valori de 15,27...18,91 % la B.U., maximul fiind specific glucozei. În cazul cultiv rii levurii pe mediul Rieder con inutul de -glucani se afl în limitele 14,16...19,85% la B.U., con inutul maxim s-a ob inut în variantele de mediu suplimentate cu glucoz , zaharoz i manoz (Fig. 2 a).



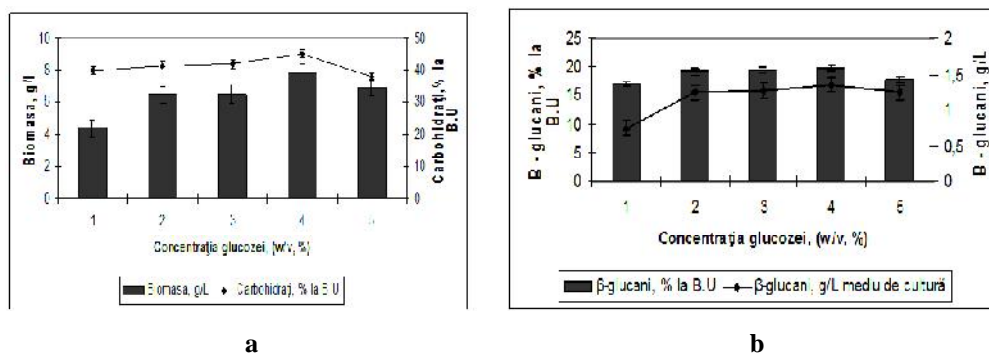
**Figura 2. Efectul surselor de carbon asupra con inutului de -glucani la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20.**

Comparând randamentele de producere a  $\beta$ -glucanilor de c tre tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 putem afirma c etanolul, manoză i zaharoza incluse în mediul YPD au cel mai semnificativ rezultat – 0,937....1,129 g L<sup>-1</sup> mediu de cultivare (Fig. 2b).

Pentru optimizarea mediului de cultur sunt necesare experien e de selectare a concentra iilor optime a sursei de carbon. În experien ele cu tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, au fost evaluate efectele diferitor concentra ii, (w/v): 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, de glucoz ad ugate la mediul YPD i de zaharoz – la mediul Rieder.

Concentra iile surselor de carbon au fost selectate din diferite informa ii bibliografice, care indic c valorile mai mari de 6% pot reprima multiplicarea levurilor [10].

În cazul utiliz rii diferitor concentra ii de glucoz observ m o curb în cre tere atât a biomasei, cât i a carbohidra ilor totali, sincronizat cu cre terea concentra iilor sursei de carbon de la 1% la 4% (Fig. 3a).



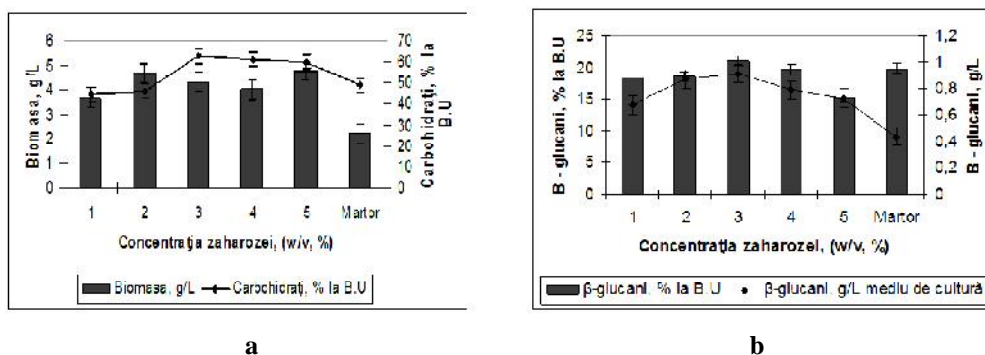
**Figura 3. Efectul diferitor concentra ii de glucoz asupra acumul rii biomasei i carbohidra ilor totali (a) i con inutului de  $\beta$ -glucani (b) la cultivarea tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 pe mediul YPD.**

Acela i efect de stimulare s-a constat în experien ele de evaluare a influen ei diferitor concentra ii de glucoz asupra cantit ilor de  $\beta$ -glucani în biomasa tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 (Fig. 3 b). Con inutul maximal de  $\beta$ -glucani (19,23-19,8 % la B.U.) s-au înregistrat în variantele de mediu YPD cu 2 - 4% glucoz . Randamentul de producere a  $\beta$ -glucanilor este de 1,266 - 1,349 g L<sup>-1</sup> mediu de cultur în varianta de mediu cu 3 - 4% glucoz .

În continuare, în mod identic a fost studiat efectul diferitor concentra ii de zaharoz la cultivarea tulpinii pe mediul Rieder. În calitate de martor a servit mediul Rieder clasic cu 3% de glucoz . Rezultatele sunt reflectate în fig. 4, din care observ m o cre tere a cantit ilor de carbohidra i pân la 60,14...63,0% la B.U. în variantele de mediu suplimentat cu 3, 4 sau 5% zaharoz . Cantitatea de biomasă acumulat variaz în limitele 3,69...4,77 g L<sup>-1</sup> mediu de cultur .

Aprecierea con inutului de  $\beta$ -glucani în biomasa uscată a eviden iat modific ri nesemnificative în dependen de concentra iile zaharozei incluse în mediul de cultivare Rieder. Maximul procentual 21,16% la B.U., cu 6,6% mai mult fa de martor, s-a observat în varianta de mediu cu 3% zaharoz , minimul procentual 15,28 % la B.U. - în varianta cu 5% zaharoz . În probele martor con inutul de  $\beta$ -glucani constituie 19,85 % la B.U. (Fig.4). Recalculul con inutului de  $\beta$ -glucani la 1 L mediu de cultur eviden iaz

superioritatea variantei experimentale în care zaharoza s-a introdus în concentra ia de 3% - 0,914 g L<sup>-1</sup> -glucani.



**Figura 4. Efectul diferitor concentra ii de zaharoz asupra acumul rii biomasei i carbohidra ilor totali (a) i con inutului de -glucani (b) la cultivarea tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 pe mediul Rieder.**

Din analiza comparativ a rezultatelor privitor la con inutul de -glucani ob inut pe mediile YPD i Rieder se poate afirma c pentru cercet rile de optimizare a mediului de cultur în vederea sporirii producerii de -glucani este oportun utilizarea mediului YPD cu utilizarea glucozei în concentra ie de 3 - 4%.

*Efectul surselor i concentra iilor de azot la producerea -glucanilor la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20.* Azotul este un element esen ial pentru toate speciile de microorganisme. Azotul joac un rol relevant într-o serie de procese biologice implicate în cre terea i dezvoltarea organismului. Sursa preferat de azot este sulfatul de amoniu, utilizat practic de toate microorganismele [11].

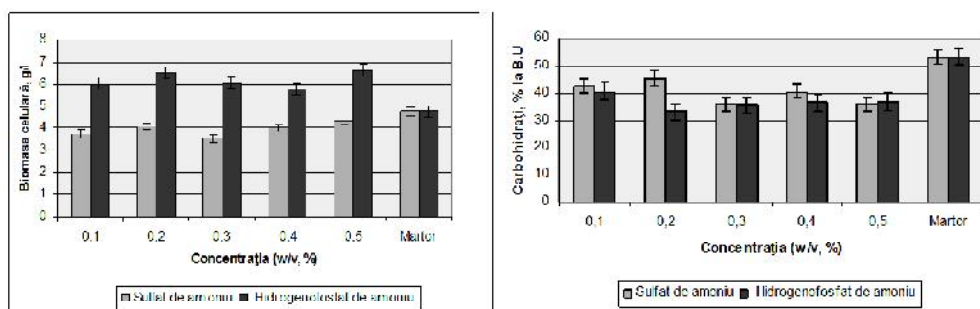
Studiul ce urmeaz este consacrat evalu rii ac iunii diferitor concentra ii de azot amoniacal asupra acumul rii biomasei, carbohidra ilor totali i -glucanilor la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20.

Au fost testate - sulfatul de amoniu (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i hidrogenofosfatul de amoniu (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, în concentra ie de (w/v): 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, la cultivarea levurii pe mediul YPD.

Analiza datelor ob inute la determinarea con inutului de biomas celular a demonstrat prezen a unor cantit i importante în variantele de mediu YPD suplimentat cu hidrogenofosfatul de amoniu. Pentru concentra iile cercetate a sursei de azot s-au înregistrat valori de 5,75..6,61 g L<sup>-1</sup> biomas uscat , cu 20,8...38,9 % mai mult fa de martor. În varianta martor con inutul de biomas constituie 4,76 g L<sup>-1</sup> (Fig.5 a).

Pentru ambii compu i de azot implica i în cercetare au fost ob inute rezultate asem n toare ce indic diminuarea con inutului de carbohidra i totali comparativ cu mediul martor. Rezultatele ob inute în cazul utiliz rii sulfatului de amoniu i cel al hidrogenofosfatului de amoniu sunt reflectate în figura 5 b. Pentru toate concentra iile utilizate ale compu ilor azota i au fost ob inute cantit i de 33,12....45,19% la B.U. carbohidra i totali, valori care sunt inferioare martorului - 53,56% la S.U.

Privitor la con inutul de -glucani în biomas levurii, men ion m o deosebire semnificativ pentru variantele de mediu YPD cu sulfat de amoniu comparativ cu cel ob inut în variantele cu hidrogenofosfat de amoniu.



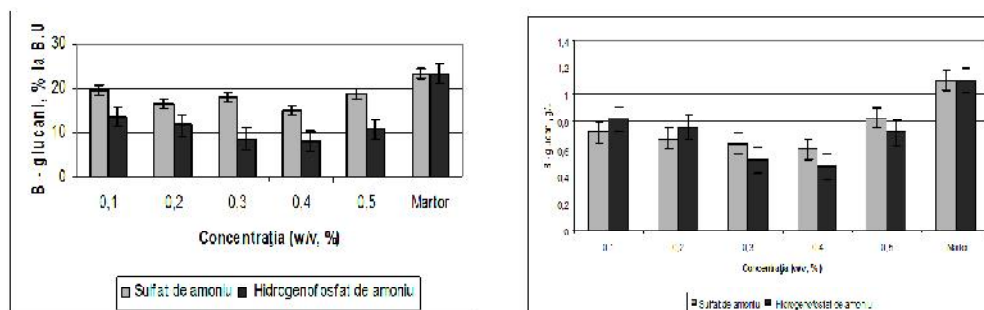
a

b

**Figura 5. Efectul diferitor concentra ii de azot amoniacal asupra acumularii biomasei (a) i carbohidra ilor (b) la cultivarea tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 pe mediul YPD.**

Cantitatea de  $\beta$ -glucani în toate variantele de mediu suplimentate cu sulfat de amoniu ating valori de 15,19...19,58 % la B.U., față de 8,22...13,73 % la B.U. obținute în experimentele cu hidrogenofosfatul de amoniu și au tendința de a scădea odată cu creșterea concentrației sursei de azot (Fig.6 a). Deoarece conținutul procentual al  $\beta$ -glucanilor în biomasa uscată este mai mic în variantele experimentale comparativ cu martorul, concluzionăm că odată cu activizarea procesului de multiplicare a levurii, biosinteza principiilor bioactive, în special al carbohidraților totali și al glucanilor, se diminuează, astfel se obțin cantități mari de biomasă cu conținut mic de glucani.

Cercetările, rezultatele cărora sunt reflectate în fig. 6 b, confirmă concluzia că utilizarea surselor de azot, implicit a sulfatului de amoniu sau hidrogenofosfatului de amoniu, duce la diminuarea eficienței mediului de cultură de a produce  $\beta$ -glucani.



a

b

**Figura 6. Efectul diferitor concentra ii de azot amoniacal asupra conținutului de  $\beta$ -glucani la cultivarea tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 pe mediul YPD.**

În baza cercetărilor efectuate putem afirma că din sursele de azot testate, numai hidrogenofosfatul de amoniu asigură rentabilitatea mediului de cultivare YPD pentru tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, datorită creșterii esențiale, cu 20,8...38,9% față de mediul martor, a producerii de biomasă celulară. Sulfatul de amoniu și hidrogenofosfatul de amoniu în concentrații de 0,1...0,5 %, diminuează semnificativ conținutul de carbohidrați totali și  $\beta$ -glucani la tulpina de levuri comparativ cu mediul martor.

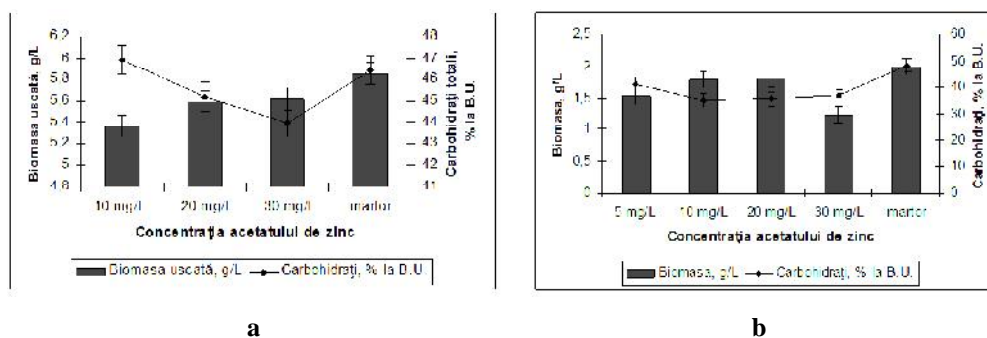
*Efectul acetatului de zinc asupra producerii -glucanilor la tulpina Saccharomyces cerevisiae CNMN-Y-20.*

Este cunoscut c s rurile minerale joac un rol deosebit n procesele de biosintez i se concretizeaz prin aceea c ace ti compu i pot reprezenta surse de elemente constitutive, intermediari ai reac iilor de oxido-reducere, reglatori ai permeabilit ii membranelor celulare, cofactori ai sistemelor enzimatice - metaloenzime. S rurile necesare furnizoare de microelemente sunt de obicei sulfatii, fosfa ii, nitra ii, aceta ii [10]. Un element important n metabolismul microorganismelor este zincul, semnificativ pentru activitatea enzimelor zinccomponente.

n experien ele noastre s-a urm rit influen a acetatului de zinc asupra producerii -glucanilor la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20. Compusul s-a ad ugat n concentra ii de 5, 10, 20, 30 mg L<sup>-1</sup> (0,005%, 0,01%, 0,02%, 0,03%) medii nutritive - YPD modificat (glucoza 3%) i Rieder modificat (glucoza substituit cu 3% zaharoz ). n calitate de martor au servit mediile enun ate f r completarea cu acetat de zinc.

Analiza rezultatelor a ar tat, c efectul acetatului de zinc este variabil i depinde de concentra ia i mediul de cultivare. Spre exemplu, acetatul de zinc n concentra ii de 5, 10, 20, 30 mg L<sup>-1</sup> mediu de cultur YPD i Rieder mic oreaz nesemnificativ con inutul de biomas i carbohidra i, comparativ cu martorul (fig.7). Valorile con inutului de biomas uscat n variantele experimentale cu mediul YPD modificat constituie 5,36..5,62 g L<sup>-1</sup> (fig. 7a). Majorarea concentra iilor de acetat de zinc ad ugat la mediul YPD modificat a determinat diminuarea con inutului de carbohidra i totali de la 46,93 (varianta cu 10 mg L<sup>-1</sup> acetat de zinc) la 43,97 % la B.U. (varianta cu 30 mg L<sup>-1</sup> acetat de zinc).

n cazul cultiv rii tulpinii pe mediul Rieder modificat, la care s-au ad ugat diferite concentra ii de acetat de zinc, biomas a celular constituie 1,24...1,81 g L<sup>-1</sup>, n varianta martor - 2,0 g L<sup>-1</sup>. Carbohidra ii totali men in aceia i tendin de mic orare a con inutului lor legat de sporirea concentra iilor de acetat de zinc (fig.7 b).

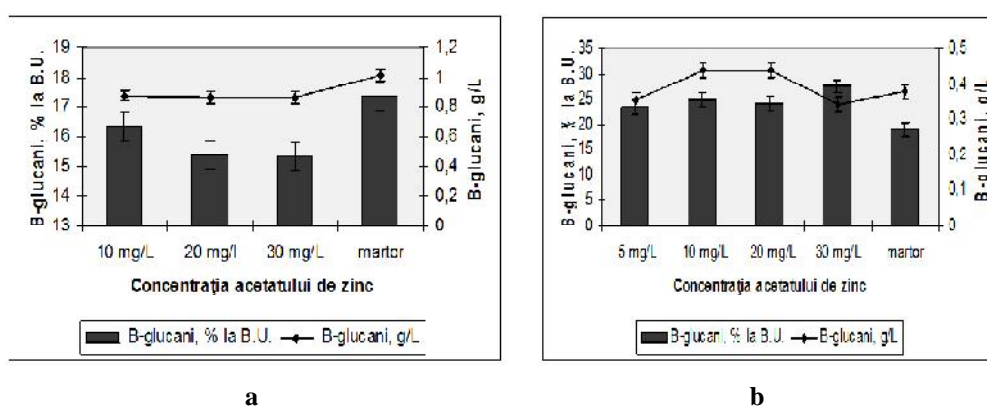


**Figura 7. Influen a acetatului de zinc asupra acumul rii biomasei i carbohidra ilor totali la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 la cultivare pe mediul YPD (a) i Rieder (b).**

Efect similar al acetatului de zinc a fost nregistrat n studiul con inutului de -glucani la cultivarea tulpinii pe mediul YPD modificat. Cantitatea de -glucani n variantele de mediu completat cu compusul studiat este inferioar martorului i variaza n limitele 15,33...16,33 % la B.U. (Fig. 8 a).



Un aspect total diferit prezint datele ob inute ca rezultat al studiului de evaluare a influen ei acetatului de zinc asupra con inutului de  $\beta$ -glucani la cultivarea tulpinii pe mediul Rieder modificat. La cultivarea tulpinii pe mediul nominalizat se constat c acetatul de zinc stimuleaz biosinteza  $\beta$ -glucanilor. Valorile maximale ale con inutului acestora constituie 23,38...27,46 % la B.U., ceea ce este cu 23,4...44,1% mai mult fa de martor (Fig. 8b). De rând cu efectul stimulator exercitat asupra con inutului de glucani în biomasa levurii, dozele 10 i 20 mg L<sup>-1</sup> acetat de zinc intensific randamentul mediului de cultur , ob inându-se pân la 0,440 g L<sup>-1</sup>  $\beta$ -glucani. Totu i, capacitatea tulpinii de a sintetiza  $\beta$ -glucani pe mediul Rieder modificat, fie în variantele experimentale sau martor, este mult inferioar celei determinate pe mediul YPD modificat. În general, producerea de  $\beta$ -glucani pe mediul YPD constituie 0,858...0,875 g L<sup>-1</sup> (variantele cu acetat) i 1,014 g L<sup>-1</sup> (varianta martor YPD cu 3% glucoz ).



**Figura 8. Influen a acetatului de zinc asupra con inutului de  $\beta$ -glucani la tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, la cultivare pe mediul YPD (a) i Rieder (b).**

Prin urmare, în rezultatul studiului efectuat la acest capitol eviden iem c acetatul de zinc, ad ugat în concentra ii de 5-30 mg L<sup>-1</sup> mediu de cultur Rieder modificat, asigur sporirea con inutului de  $\beta$ -glucani în biomasa levurii cu 23...44,1% fa de martor. În s , poten ialul tulpinii de a produce  $\beta$ -glucani, fie în variantele experimentale sau martor, este mult superior pe mediul YPD comparativ cu mediul Rieder. Con inutul de  $\beta$ -glucani în peretele celular al tulpinii cultivate pe mediul YPD constituie 0,858...0,875 g L<sup>-1</sup> (variantele cu acetat) i 1,014 g L<sup>-1</sup> (varianta martor).

### Concluzii

1. Din sursele de carbon investigate capacitate maxim de a spori acumularea  $\beta$ -glucanilor în biomasa tulpinii *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 posed glucoza i zaharoza. Biosinteza sporit de  $\beta$ -glucani (19,23-19,8 % la B.U.) s-a înregistrat la cultivarea tulpinii în variantele de mediu YPD completat cu 2-4% monozaharide.

2. Rezultatele studiului influen ei sulfatului de amoniu i hidrogenofosfatului de amoniu în concentra ii de 0,1...0,5% indic diminuarea semnificativ a con inutului de  $\beta$ -glucani la tulpina de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20, comparativ cu mediul martor. Eficien a hidrogenofosfatului de amoniu a fost demonstrat numai pentru acumularea biomasei celulare, care a sporit cu 38,9% fa de mediul martor YPD.



3. Acetatul de zinc în concentra ii de 0,005-0,03%, ad ugat la mediul de cultur Rieder, asigur sporirea cu 23...44,1% fa de martor a con inutului de -glucani în biomasa *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20. Cantitate înalt de -glucani (0,858...0,875 g L<sup>-1</sup> mediu de cultur ) s-a eviden iat la cultivarea tulpinii pe mediul YPD suplimentat cu acetat de zinc.

4. Pentru producerea maximal a -glucanilor de c tre tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 se recomand mediul YPD cu utilizarea glucozei în concentra ie de 4%. O alt formul de mediu de cultur se propune mediul Rieder suplimentat cu 3% zaharoz i 0,01...0,02 % acetat de zinc.

### Bibliografie

1. Aguilar-Uscnaga B., Francois J.. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. // Letters in Applied Microbiology. 2003, V. 37, p. 268-274.

2. Anghel I., Vassu T., Segal B., Berzescu P. et. al. Biologia i tehnologia drojdiilor. Bucure ti: Editura Tehnic , 1993, vol. 3, 308 p.

3. Belinchón M., Gancedo J. M. Glucose controls multiple processes in *S. cerevisiae*. through diverse combinations of signaling pathways. //FEMS Y. Res. 2007, V. 7, N. 6, p. 808–818.

4. Brevet de inven ie. 4048 B1, MD, C12N 1/16 Tulpin de drojdie *Saccharomyces cerevisiae*-surs de -glucani// Chiseli a O., Usatfi A., Taran, N., Rudic, V., Chiseli a, N., Adajuc V. (MD). Cererea depus 2010.02.11, BOPI nr. 6/2010.

5. Dey P., Harborne J., Bonner J.F. Plant Biochemistry. Carbohydrates Academic Press, London, 1993, Vol. 2, 554 p.

6. Hong-Zhi L., Qiang W., Yuan-Yuan L., Fang F. Statistical optimization of culture media and conditions for production of mannan by *S. cerevisiae*. // Biotech. and Bioprocess Engineering. 2009, V. 14, N. 5, p. 577-583.

7. Hunter K., Gault R., Berner M. Preparation of microparticulate -glucans from *S. cerevisiae* for use in immune potentiation. // Lett. in Appl. Microbiol. 2002, V. 35, p. 267-271.

8. Kollar R., Reinhold B., Petrakova E., Yeh H., et al. Architecture of the yeast cell wall. b(1,6)-glucan interconnects mannoprotein, b(1,3)-glucan, and chitin.//Journal of Biological Chemistry. 1995, V. 270, p. 17762–17775.

9. Lesage G., Bussey H. Cell wall assembly in *S. cerevisiae*. //Microbiol. and Mol. Biol. Rev. 2006, V. 70, N. 2, p. 317-343.

10. Oniscu C., Ca caval D. Inginerie biochimic i biotehnologie. 1. Ingineria proceselor biotehnologice. Ia i: Inter Global, 2002, 451 p.

11. Parrou J., Enjalbert B., Lourde L., Gonzalez B., Francois J. Dynamic response of reserve carbohydrate metabolism under carbon and nitrogen limitation in *S. cerevisiae*. // Yeast. 1999, V. 15, p. 191-203.

12. Thammakiti S., Suphantharika M., Phaesuwan T., Verduyn. Preparation of spent brewer's yeast -glucans for potential applications in the food industry.// International Journal of Food Science Technology. 2004, V. 39, N. 1, p. 21-29.

13. : , 1985, 351 .