

# OPTIMIZAREA PROCEDEULUI DE PRELUCRARE A DEȘEURILOR INDUSTRIEI DE BERE ȘI OBTINERE DIN BIOMASA DE LEVURI A PREPARATELOR LIPIDICE

<https://doi.org/10.52673/18570461.21.1-60.06>

CZU: 579.222:579.66:663.12

Doctor în biologie **Elena TOFAN**

E-mail: [biotechnol\\_asm@mail.ru](mailto:biotechnol_asm@mail.ru)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0186-4391>

Doctor în biologie **Natalia CHISELIȚA**

E-mail: [chiselita.natalia@gmail.com](mailto:chiselita.natalia@gmail.com)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6943-8129>

Doctor în biologie **Oleg CHISELIȚA**

E-mail: [chiselita@mail.ru](mailto:chiselita@mail.ru)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7298-1512>

Doctor în biologie **Alina BEȘLIU**

E-mail: [alina7241@mail.ru](mailto:alina7241@mail.ru)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9451-0524>

Doctor în biologie **Nadejda EFREMOVA**

E-mail: [efremova.nadejda@gmail.com](mailto:efremova.nadejda@gmail.com)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9664-346X>

Cercetător științific stagiar **Ana LOZAN**

E-mail: [nutza\\_14@mail.ru](mailto:nutza_14@mail.ru)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3725-2872>

Cercetător științific stagiar **Marina DANILIȘ**

E-mail: [marinuskka@yahoo.com](mailto:marinuskka@yahoo.com)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0601-7746>

Institutul de Microbiologie și Biotehnologie

## OPTIMIZATION OF THE WASTE PROCESSING PROCEDURE OF THE BEER INDUSTRY AND OBTAINING LIPID PREPARATION FROM YEAST BIOMASS

**Summary.** Currently, special attention is paid to the use of industrial by-products, in particular those obtained in huge quantities in the brewing and wine making process, as a source for the production of natural preparations with high biological value. In this study are presented results related to the recovery of beer yeast biomass from the sediments of the beer industry, by obtaining lipid extracts with valuable biochemical composition. Thus, applying the optimized autolysis method, with the use of sodium phosphate buffer at 45°C for the destruction of the cell wall and fractional extraction with hydric, alkaline and acidic solutions, various liquid and solid fractions were obtained from the biomass of brewer's yeast with varied lipid content. So, in order to optimize the waste processing process of the beer industry and the complex recovery of yeast biomass, it is reasonable to include the lipid fraction extraction stage in the technological flow, after obtaining protein and mannoprotein extracts, which will be useful and as an additional step of purification of the  $\beta$ -glucan fraction.

**Keywords:** beer sediments, yeast biomass, fractional extraction, lipids.

**Rezumat.** În prezent se acordă un interes deosebit utilizării produselor secundare industriale, în special, celor obținute în cantități enorme în procesul de fabricare a berii și vinului, ca sursă pentru elaborarea preparatelor naturale cu valoare biologică înaltă. În lucrarea dată sunt prezentate rezultate ce țin de valorificarea biomasei de levuri din sedimentele industriei de bere, prin obținerea unor extracte lipidice cu compoziție biochimică valoroasă. Astfel, aplicând metoda de autoliză optimizată, cu utilizarea tamponului fosfat de sodiu la temperatura 45 °C pentru distrugerea peretelui celular și extracție fracționată cu soluții hidrice, alcaline și acide, din biomasa de levuri de bere au fost obținute diverse fracții lichide și solide cu conținut de lipide variat. Prin urmare, pentru optimizarea procedurii de prelucrare a deșeurilor industriei de bere și valorificarea complexă a biomasei de levuri, este rezonabilă includerea etapei de extragere a fracției lipidice în fluxul tehnologic, după obținerea extractelor proteice și manoproteice, fapt ce va fi util și în calitate de etapă suplimentară de purificare a fracției  $\beta$ -glucanice.

**Cuvinte-cheie:** sedimente de bere, biomasă de levuri, extracție fracționată, lipide.

## INTRODUCERE

Actualmente, în baza compușilor bioactivi microbieni se elaborează diferite preparate cu aplicare practică într-un șir de domenii. O problemă de importanță majoră în dezvoltarea sectorului zootehnic autohton constituie lipsa furajelor completate cu substanțe bioactive valoroase. Este cunoscut faptul că suplimentele obținute din biomasa levuriană, îmbogățită cu compuși oleogeni, proteici și vitaminici asimilabili, îmbunătățesc și sporesc considerabil indicii productivității și fertilității la diferite grupe de animale și păsări [1-3].

Un interes deosebit prezintă utilizarea produselor secundare industriale ce se obțin în cantități enorme în urma procesului de fabricare a berii. Problema se înscrie în zona de studii a cercetătorilor din diferite țări care caută soluții pentru utilizarea deșeurilor agroindustriale prin elaborarea preparatelor naturale cu valoare biologică înaltă, cu implementare practică în diverse ramuri ale economiei țării, în special în sectorul zootehnic. Astfel că stabilirea compoziției biochimice a biomasei levuriene ca subprodus rezultat din industria berii este importantă pentru obținerea preparatelor de perspectivă. Studiile efectuate în acest domeniu demonstrează aplicabilitatea levurilor ca sursă valoroasă de proteine, lipide, carbohidrați, vitamine, antioxidanți, microelemente etc. [4-8].

În calitate de macronutrienți, lipidele levurilor genului *Saccharomyces* conțin acizi grași (1-20 %), fosfolipide (15-60 %), trigliceride (20-50 %), mono-digliceride (1-15 %) și steroli (până la 18 %) din suma lipidelor totale [9]. Compoziția lipidică a celulelor de drojdie este relativ simplă în comparație cu organismele multicelulare mai complexe, totuși caracteristicile sale majore sunt comparabile cu lipidomul oricărei alte celule eucariote. Cele mai răspândite clase de lipide sunt: acidul fosfatidic, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidil-inozitolul, fosfatidilserina, diacilglicerolul și derivații lor. Mai puțin abundente sunt fosfatidilglicerolul și cardiopina. Triacilglicerolii și esterii de steroli servesc drept lipide de stocare. Compoziția de acizi grași este limitată în cea mai mare parte atât la acizi grași nesaturați, acid oleic (18:1) și acid palmitoleic (16:1), cât și la acizi grași saturați – acid palmitic (16:0) și acid stearic (18:0). Sfingolipidele de drojdie constau din inozitol fosforilceramidă, mannosil-inozitol fosforilceramidă și mannosil-di-inozitol-fosforil ceramidă. Axul principal al acestora conține fitosfingozină, ca porțiune de bază, la care este atașat printr-o legătură amidică un acid gras  $\alpha$ -hidroxilat cu catena lungă C26:0 [10-11].

Din punct de vedere al compoziției biochimice, acestea îmbină proprietăți specifice de acțiune și pot servi drept component de bază eficient pentru elaborarea suplimentelor nutritive, furajere, preparatelor prebiotice, complexelor de vitamine, precum și preparatelor cu acțiune hormonală [12-15]. Astfel, scopul cercetărilor a constat în optimizarea procedurii de prelucrare a deșeurilor industriei de bere și obținerea din biomasa de levuri a preparatelor lipidice.

## MATERIALE ȘI METODE

**Obiectul de studiu.** În cercetări a fost utilizată biomasa de levuri (*Saccharomyces cerevisiae*) de fermentare inferioară de la producerea berii, prelevată după cinci cicluri de fermentare, oferită cu amabilitate de către colaboratorii Fabricii de bere Kellers (com. Budești, Republica Moldova). Inițial, biomasa a fost supusă centrifugării cu scopul eliminării lichidului remanent și apoi congelată la temperatura de  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  pentru păstrare. În continuare, a fost evaluată componența biochimică a biomasei de levuri. Astfel, s-a determinat că biomasa levuriană conține în medie  $238,7 \pm 0,12$  mg substanță uscată per 1 gram de biomasă, ce constituie 23,9 % de biomasă absolut uscată (BAU). Testele biochimice efectuate au relevat o componență biochimică variată, biomasa levuriană fiind compusă din  $56,2 \pm 0,16$  % BAU de proteine,  $34,3 \pm 1,25$  % BAU carbohidrați,  $5,3 \pm 0,09$  % BAU lipide,  $4,3 \pm 0,27$  % cenușă.

**Metodele de realizare a cercetărilor.** Determinarea biomasei absolut uscate s-a realizat gravimetric conform metodei descrise [16], care constă în uscarea biomasei celulare în etuvă, la temperatura de  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  până la masă constantă și recalcularea substanței uscate.

Pentru optimizarea condițiilor de autoliză a levurilor, la fiecare variantă s-a folosit ca material de lucru 30 g de biomasă de levuri decongelată, care a fost supusă diferitor condiții de autoliză: aceasta s-a efectuat în baloane Erlenmayer, cu volum de 250 ml, în care s-a introdus cantitatea menționată de biomasă și diferite soluții în volum de 30 ml (raport 1:1). Suspensiile au fost termostatate la temperatura de  $37^{\circ}$ ,  $45^{\circ}$  și  $55^{\circ}\text{C}$ , timp de 8 ore cu agitare periodică [17].

Prelucrarea biomasei și obținerea fracțiilor de diferită natură a fost efectuată conform [18]. Conținutul lipidelor în biomasă și fracțiile obținute s-au determinat gravimetric conform [19], principiul procedurii constând în extracția lipidelor din biomasa de levuri timp de 20 de minute, la temperatura de  $35-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , cu amestec etanol:cloroform:acid acetic 10 %, în raport 5:1:1 și ulterior 20 de minute cu adăugarea a 45 ml cloroform, raportul final fiind de 5:10:1.

Determinarea *componenței cantitative și calitative a lipidelor* s-a efectuat prin cromatografierea în strat subțire (CSS) și densitometrie [20], în baza principiului: plasarea lipidelor obținute după extragere pe plăci Sorbfil și dezvoltarea (1-2 ore) în amestec de hexan:eter dietilic:acid acetic glacial în raport 73:25:2 și măsurarea intensității colorării petelor la densitometru.

Prelucrarea statistică a rezultatelor a fost efectuată utilizând setul de programe MO Excel și Statistica 9.0. Rezultatele datelor a trei repetări au fost exprimate prin calcularea mediei, deviației standard și a intervalului de încredere pentru o medie. Toate diferențele au fost considerate semnificative statistic pentru  $P \leq 0,05$ .

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Procedeele utilizate pentru fracționarea biomasei microbiene și extragerea principiilor bioactive influențează semnificativ calitatea și cantitatea produsului final.

În prezent sunt folosite diverse metode de distrugere a pereților celulari levurieni, bazate pe utilizarea enzimelor, ultrasunetului, pe omogenizarea mecanică, ele fiind însă destul de costisitoare și solicitând utilaj special [21-26]. Din aceste considerente, în cadrul cercetărilor a fost utilizată metoda optimă de distrugere a peretelui celular levurian, identificată în studiile anterioare, pentru obținerea biopreparatelor cu valoare nutritivă și biologică înaltă, care prevede autoliza biomasei de levuri de bere în soluție tampon fosfat de sodiu pH – 7,8 (raport 1:1), la temperatura 45 °C, timp de 8 ore, cu agitare periodică.

În consecință, cercetările s-au axat pe determinarea conținutului cantitativ și calitativ al lipidelor în biomasa levurilor din deșeurile industriei de bere și în diferite fracții obținute în baza acesteia, cu scopul sta-

bilirii consecutivității optime a etapelor de fracționare a biomasei, pentru obținerea unui număr maxim de fracții de diferită natură, inclusiv lipidice, din același volum de biomasă în același flux tehnologic.

Inițial, s-a stabilit că biomasa de levuri de bere conține până la  $5,29 \pm 0,09$  g% BAU lipide. În continuare, utilizând metoda de autoliză menționată anterior, din biomasa de levuri au fost obținute diferite fracții lichide și solide – fracția hidrică (proteică), fracția solidă după extracție hidrică, fracția alcalină (manoproteică), fracția solidă după extracție alcalină, fracția lichidă acidă, fracția insolubilă în alcalii și acizi ( $\beta$ -glucanică). Ulterior, în fracțiile lichide și solide obținute a fost determinat conținutul de lipide. În final, s-a stabilit că în fracțiile solide, obținute după extracția hidrică și alcalină, conținutul lipidelor practic nu se modifică în comparație cu biomasa inițială și constituie  $5,16 \pm 0,04$  și respectiv  $5,24 \pm 0,01$  g% BAU, fapt ce confirmă că lipidele nu au fost extrase cu soluție tampon fosfat de sodiu și soluție alcalină. Indicii cantitativi ai lipidelor de  $3,0 \pm 0,04$  g% BAU în extractul acid lichid arată că o parte din lipidele levuriene au fost extrase cu soluție 0,5N de acid acetic, iar o cantitate mică de produși oleogeni  $1,6 \pm 0,23$  g% BAU rămâne în fracția  $\beta$ -glucanică. Rezultatele sunt prezentate în figura 1.

În continuare, prin metoda cromatografiei în strat subțire a fost evaluată componența calitativă și cantitativă a lipidelor obținute din toate fracțiile. S-a stabilit că în toate fracțiile lipidice, în cantități variate, sunt prezente fosfolipidele 4,49...39,0 % și eteri de steroli 36,30...75,6 % din suma lipidelor.

Analiza componenței fracționare a lipidelor a evidențiat că toate fracțiile solide conțin steroli 6,74...9,58 % din sumă, mono- și digliceridele constituind 8,0-25,54 %, iar indicii triacilgliceridelor fiind de 7,0-17,97 % din suma fracțiilor lipidice (tabelul 1).

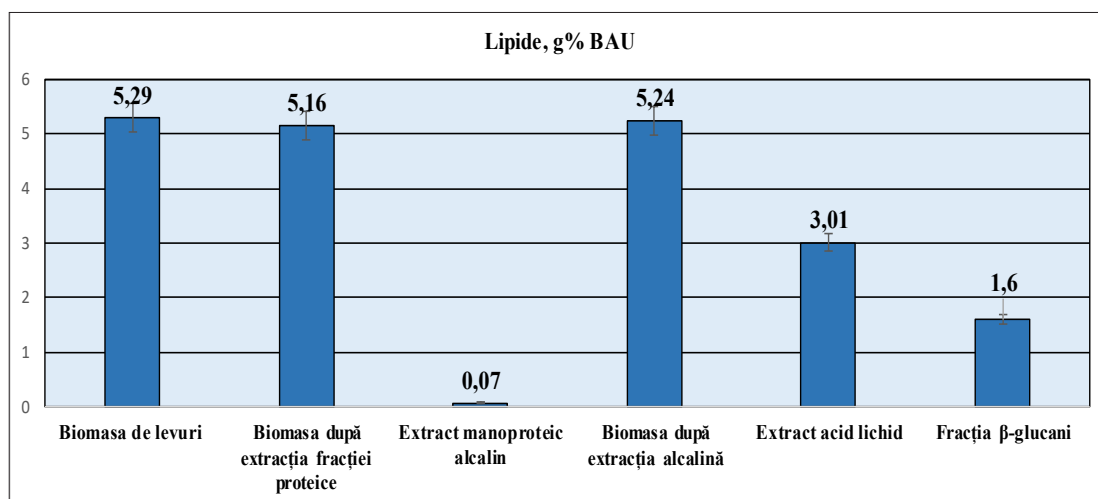


Figura 1. Conținutul de lipide în biomasa de levuri de bere și diferite fracții.

Componența calitativă și cantitativă a lipidelor în biomasă și diverse fracții a levurilor de bere (% din suma fracțiilor lipidice)

Fracții lipidice \ Fracții de levuri	Biomasa de levuri inițială	Biomasa după extracția fracției proteice	Biomasa după extracție alcalină	Fracția $\beta$ -glucani	Extract manoproteic alcalin	Extract acid lichidă
Fosfolipide, %	39,0 $\pm$ 0,88	23,28 $\pm$ 1,5	4,49 $\pm$ 0,33	14,59 $\pm$ 0,75	23,80 $\pm$ 1,0	24,5 $\pm$ 0,61
Steroli, %	+7,0 $\pm$ 0,57	9,58 $\pm$ 0,83	6,74 $\pm$ 0,25	7,29 $\pm$ 0,30	-	-
Mono-digliceride, %	8,0 $\pm$ 0,42	16,43 $\pm$ 0,52	-	25,54 $\pm$ 0,57	19,04 $\pm$ 0,65	-
Triacilgliceride, %	7,0 $\pm$ 0,18	14,38 $\pm$ 0,66	17,97 $\pm$ 0,31	13,86 $\pm$ 0,99	-	-
Eteri de steroli, %	39,0 $\pm$ 0,58	36,30 $\pm$ 0,29	70,78 $\pm$ 1,1	38,68 $\pm$ 1,1	57,14 $\pm$ 0,80	75,6 $\pm$ 0,53

Se poate conchide prin urmare că pentru optimizarea procedurii de prelucrare a deșeurilor industriei de bere și valorificarea complexă a biomasei levuriene este oportună includerea etapei de extragere a fracției lipidice în fluxul tehnologic, după obținerea extractelor proteice și manoproteice, inclusiv în calitate de etapă adițională de purificare a fracției  $\beta$ -glucanice.

Rezultatele obținute au stat la baza elaborării procedurii de obținere a preparatului lipidic din biomasă levurilor de bere cu conținut biochimic valoros, care prevede următoarele etape:

1. Separarea fracției lichide a deșeurilor de fracția solidă (biomasa) prin centrifugare timp de 10-15 minute la 2 000 rot./min.

2. Sedimentul (biomasa de levuri) se supune autolizei cu soluție tampon fosfat (raport 1:1) la temperatura 45 °C, timp de 8 ore. Decantarea fazelor prin centrifugare – timp 10-15 minute la 2 000 rot./min.

3. Sedimentul solid (biomasa) se supune extracției cu soluție 1N NaOH (raport 1:5) timp de 2 ore la temperatura de 80 °C. Decantarea fazelor prin centrifugare timp 10-15 minute la 2 000 rot./min.

4. Sedimentul solid (pereți celulari insolubili în alcalii) se tratează cu amestec de etanol:cloroform:acid acetic 10 % (5:1:1), la temperatura 35-40 °C timp de 20 de minute și extracția repetată cu adăugarea a 45 ml cloroform până la raportul 5:10:1 în aceleași condiții de temperatură și durată.

5. Spălarea cu apă distilată a fracției lichide (extract de lipide în soluție cloroform:etanol) în pâlnia de separare pentru eliminarea etanolului. Fracția cloroformică se separă în stratul de jos al amestecului, fracția hidroetanolică se separă la suprafața pâlniei și se elimină prin robinet. Procedura se repetă de 5 ori pentru eliminarea completă a etanolului;

6. Deshidratarea fracției cloroformice prin filtrare repetată (3-4 ori) printr-un strat de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidru, pentru eliminarea completă a apei remanente și a posibilelor impurități restante de la etapele precedente, până la obținerea unei soluții transparente;

7. Evaporarea cloroformului din soluția cloroformică prin distilare în vid la rotoevaporator, până la obținerea extractului lipidic de consistență vâscoasă.

8. Determinarea compoziției fracționare a preparatului lipidic, prin cromatografie în strat subțire pe plăci de Silufol;

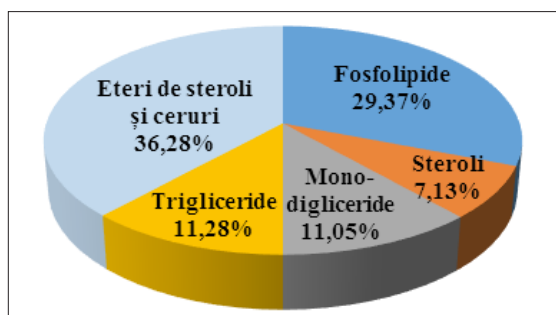
9. Sterilizarea prin tindalizare (trei serii de încălziri la temperatura de 55°C și răciri succesive) pentru a nu compromite parametrii biochimici și activitatea biologică a fracțiilor lipidice ale preparatului și inactivarea microflorei cazuale.

Ulterior, prin cromatografie în strat subțire și densitometrie a fost determinată componența fracționară a preparatului lipidic, care conține fosfolipide – 29,37 %, steroli – 7,13 %, mono-digliceride – 11,05 %, triacilgliceride – 11,28 %, eteri de steroli și ceruri – 36,28 % din suma lipidelor, compuși care posedă activitate biologică înaltă (figura 3).

Componența fracționară a preparatului este în mare parte similară cu cea a lipidelor obținute din *Saccharomyces cerevisiae* descrisă în literatura de specialitate [27]. Din punct de vedere al compoziției fracționare, preparatul lipidic conține diverse fracții specifice levurilor genului *Saccharomyces* și poate servi drept component de bază eficient pentru elaborarea suplimentelor nutritive, furajere, preparatelor prebiotice și celor cu acțiune hormonală.

Conținutul semnificativ de fosfolipide evidențiază perspectiva cercetărilor ce țin de evaluarea efectului utilizării preparatului lipidic în calitate de protector în mediile pentru conservarea și păstrarea genofondului





**Figura 3.** Componența fracționară a preparatului lipidic obținut din biomasa de levuri din deșeurile industriei de bere.

animal de interes zootehnic, deoarece acestea (în special cele ce se găesc în gălbenușul de ou) se utilizează pe larg în conservarea materialului seminal al animalelor [28].

Astfel, preparatul lipidic format din compuși oleogeni bioactivi, caracterizat prin prezența fosfolipidelor, sterolilor, mono-, di-, trigliceridelor, eterilor de steroli și cerurilor, posedă un potențial înalt de aplicare practică în special în sectorul zootehnic, în calitate de supliment în mediile protective pentru conservarea și menținerea materialului seminal.

## CONCLUZII

Complexul de compuși oleogeni cu activitate biologică înaltă, identificați în biomasa levuriană, caracterizat prin prezența fosfolipidelor, sterolilor, mono-, digliceridelor, trigliceridelor și eterilor de steroli poate servi drept bază pentru obținerea biopreparatelor de natură lipidică cu aplicare practică în diverse domenii.

Pentru optimizarea procedurii de prelucrare a deșeurilor industriei de bere și valorificarea complexă a biomasei levuriene, este oportună includerea etapei de extragere a fracției lipidice în fluxul tehnologic, după obținerea extractelor proteice și manoproteice, inclusiv în calitate de etapă adițională de purificare a fracției  $\beta$ -glucanice.

Preparatul lipidic format din compuși oleogeni biologic activi, caracterizat prin prezența fosfolipidelor (29,4 %), sterolilor (7,1 %), mono-, digliceridelor (11,1 %), trigliceridelor (11,3 %), esterilor de steroli și cerurilor (36,3 %) din suma lipidelor, posedă un potențial înalt de aplicare practică, în zootehnie, ca supliment în mediile protective pentru conservarea și păstrarea materialului seminal al animalelor de interes zootehnic.

**NOTĂ.** Rezultatele au fost obținute în cadrul proiectului 20.80009.5107.16 *Preparate microbiene biologice active noi pentru majorarea potențialului reproductiv și productiv al animalelor de interes zootehnic* finanțat de către ANCD.

## BIBLIOGRAFIE

- Li J., Kim I. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall extract and poplar propolis ethanol extract supplementation on growth performance, digestibility, blood profile, fecal microbiota and fecal noxious gas emissions in growing pigs. In: *Animal Science Journal*, 2014, vol. 85, p. 698-705.
- Socolenko G. G., Lazarev B. P., Mincenko S. V. Probiotiki v raționalinom kormlenii životnih. In: *Tehnologii pișcevoi i pererabativaiușcei promișlenosti APK – productii zdravogo pitania*, 2015, T. 1(5), p. 73-78.
- Ząbek K., Milewski S., Wojcik R., Siwicki K. The effects of supplementing diets fed to pregnant and lactating ewes with *Saccharomyces cerevisiae* dried yeast. In: *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 2014, vol. 38, p. 200-206.
- Dai Z., Liu Y., Guo J., Huang L., Zhang X. Yeast synthetic biology for high-value metabolites. In: *FEMS Yeast Research*, 2015, vol. 15, p. 1-11.
- Ferreira I. M., Pinho O. C., Vieira E., Tavela J.G. Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. In: *Trends in Food Science & Technology*, 2010, vol. 21(2), p. 77-84.
- Gopal Rao M., Bharathi P., Akila R.M. A Comprehensive review on biopolymers. *Sci. Revs. Chem. Commun.* 2014, vol. 4(2), p. 61-68.
- Rahmat E., Kang Y. Yeast metabolic engineering for the production of pharmaceutically important secondary metabolites. In: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2020, vol. 104(11), p. 4659-4674.
- Zeece M. Lipids. In: *Introduction to the Chemistry of Food*, Academic Press, 2020, p. 127-161.
- Meledina T. V., Davidenko S. G. Drojji *Saccharomyces cerevisiae*. Morfoloģhia, himiceskii sostav, metabolism. In: *Uceb. Posobie, Sankt-Peterburg, Univ. ITMO.*, 2015, 88 p.
- Henschke P.A., Rose A.H. Plasma membrasnes. The yeasts. *Yeast organelles*. vol. 4. London: Academic Press Limited, 1991. p. 297-345.
- Klose C., Surma M. A., Gerl M. J., Meyenhofer E., Shevchenko A., Simons K. Flexibility of a eukaryotic lipidome – insights from yeast lipidomics. In: *PLOS ONE*, 2012, vol. 7(4), p. 1-11.
- Borodina I., Nielsen J. Advances in metabolic engineering of yeast *Saccharomyces cerevisiae* for production of chemicals. In: *Biotechnology Journal*, 2014, vol. 9(5), p. 609-620.
- Siepmann J., Faham A., Clas S.D., Boyd B. J., Jannin V. et. al. Lipids and polymers in pharmaceutical technology: Lifelong companions. In: *International Journal of Pharmaceutics*, 2019, vol. 558, p. 128-142.
- Toyozo F. Application of lipids in pharmaceuticals. In: *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2007, vol. 10, p. 667-691.
- Zurao P., Landge S., Jaiswal S., Chandewar A. Lipids – The instrumental excipient in pharmaceutical dosages form. In: *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 2011, vol. 1(4), p. 992-997.
- Hong-Zhi L., Qiang W., Yuan-Yuan L., Fang F. Statistical optimization of culture media and conditions for pro-

duction of mannan by *Saccharomyces cerevisiae*. In: Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2009, vol. 14, p. 577-583.

17. Beșliu A., Chiselița O., Chiselița N., Efremova N., Tofan E., Lozan A. Compoziția biochimică a sedimentelor levurilor de bere la diferite procedee de autoliză. În: Studia Universitatis Moldaviae, 2020, nr. 6(136), p. 54-59.

18. Thammakiti S., Supphantharika M., Phaesuwan T., Verduyn C. Preparation of spent brewer's yeast  $\beta$ -glucans for potencial applications in the food industry. In: International Journal of Food Science and Technology, 2004, vol. 39(1), p. 21-29.

19. Usatii A., Calcatiniuc A., Grosu L., Șirșova T. Procedeu de extragere a lipidelor din drojdii. Brevet MD 1930, 2002.05.31., BOPI nr. 5/2002.

20. Berghelson L. D., Deatlovițkaia E. V., Molotkovskii I. G., Batrakov S. G., Barsukov L. I., Prokazov N. V. Preparativnaia biohimia lipidov. M.: Nauka, 1981. 260 p.

21. Caballero-Cordoba G., Pacheco M.T., Sgarbieri V.C. Composicao quimica de biomassa de levedura integral (*Saccharomyces cerevisiae*) e determinacao do valor nutritivo da proteina, em celulas integras ou rompidas mecanicamente. In: Ciencia e Tecnologia de Alimentos, 1997, vol.17(2), p. 102-106.

22. Han C., Chan Z., Yang F. Comparative Analyses of Universal Extraction Buffers for Assay of Stress Related Biochemical and Physiological Parameters. Preparative Biochemistry & Biotechnology. 2015, vol. 45(7), p. 684-695.

23. Kruger J., Cleveland N., Yeap R. I., Dong T., Ramirez K., Nagle N. et al. Recovery of fuel-precursor lipids from oleaginous yeast. In: ACS Sustainable Chem. Eng., 2018, p. 1-11.

24. Vilela E. S., Sgarbieri V. C., Alvin I. D. Determinacao do valor proteico de celulas integras, autolisado total e extrato de levedura (*Saccharomyces* sp.). In: Revista de Nutricao. 2000, vol. 13(3), p. 185-192.

25. Wu T., Yu X., Hu A., Zhang L., Jin Y., Abid M. Ultrasonic disruption of yeast cells: underlying mechanism and effects of processing parameters. In: Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2015, vol. 28, p. 59-65.

26. Zainuddin M., Fai C., Ariff A., Rios-Solis L., Halim M. Current pretreatment/cell disruption and extraction methods used to improve intracellular lipid recovery from oleaginous yeasts. In: Microorganisms, 2021, vol. 9(251), p. 1-28.

27. Tronchoni J., Rozes N., Querol A., Guillamon J. Lipid composition of wine strains of *Saccharomyces kudriavzevii* and *Saccharomyces cerevisiae* grown at low temperature. In: International Journal of Food Microbiology, 2012, vol. 155, p. 191-198.

28. Brito M.F., Neves B.P., Andrade G.O., Gouvêa R.R., Almeida J. et al. Low density lipoproteins at 2 % concentration can replace whole egg yolk in TES-Tris-milk extender for freezing buffalo sperm cells. In: Acta Scientiae Veterinariae, 2018, vol. 46(1530), p. 1-6.



Arta cămășii cu altiță – candidat pentru Lista reprezentativă a patrimoniului UNESCO.  
Teodorina Bâzgu în costum din perioada interbelică.