

Etapa 2 - Integrarea tehnologiilor și ridicarea la scară

REZUMAT

Rezultatele obținute în urma analizelor și determinarilor efectuate în această etapă au permis atingerea obiectivelor etapei a 2-a. Indicatorii de rezultat prevăzuți au fost realizați. În cadrul etapei a II-a a proiectului s-au realizat caracterizarea consorțiului optimizat de microorganisme din chefir și stabilirea condițiilor de mentinere a activității fermentative a acestuia (la partenerul Universitatea Dunarea de Jos din Galați), s-a optimizat și validat tehnologia de fermentare a colostrului cu granule ameliorate de chefir în condiții de laborator (la partenerul Universitatea Dunarea de Jos din Galați) și apoi tehnologia a fost integrată și ridicată la scară prin validare la nivel industrial (la partenerul Laboratoarele Medica SRL). Tot la partenerul Laboratoarele Medica SRL s-au stabilit condițiile optime de păstrare a consorțiului de chefir ameliorat, astfel încât să poată fi utilizat la obținerea de noi sarje de colostru fermentat. De asemenea, s-a realizat standardizarea colostrului fermentat cu chefir în peptide bioactive și s-a determinat activitatea biologică a acestora (activitatea antioxidantă, potențialul de inhibare a enzimei de conversie a angiotensinei și demonstrarea biocompatibilității și a efectului de inducere a proliferării celulare *in vitro*) (la partenerul INCDSB). S-au elaborat și testat (*in vitro*) tehnicile de co-cultivare a celulelor intestinale cu bacterii probiotice (la partenerul INCDSB) și s-au izolat tulpinile lider de consorțiu de chefir, stabilindu-se condițiile de păstrare și depozitare a acestora (rezultate brevetabile) (la partenerul Universitatea Dunarea de Jos din Galați). Testarea comportamentului fermentativ al granulelor artisanale de chefir ameliorate prin co-cultivare cu tulpina de drojdie selecționată *Candida lipolytica* MIUG D67 și cultură starter comercială de bacterii probiotice FreshQ4, în 10 sarje succesive, comparativ cu comportamentul fermentativ al granulelor de chefir artisanale proaspete, a condus la îmbunătățirea activității fermentative a inoculului prin ameliorarea consorțiului de microorganisme sălbatice cu culturi selecționate. A fost realizată conservarea granulelor de chefir prin liofilizare, cultura starter artisanală, liofilizată, obținută prezentând activitate fermentativă comparabilă cu a granulelor proaspete și stabilitate metabolică nealterată prin conservare timp de minim 3 luni, la temperatura de 4°C. Cultura starter artisanală, liofilizată este eficientă în concentrație redusă, comparabilă cu culturile starter comerciale (activități realizate partenerul Universitatea Dunarea de Jos din Galați). Siteul web al proiectului, actualizat, este vizibil la adresa: <http://pro-natura.ro/eureka-3biotic/>. Diseminarea rezultatelor obținute în etapa II-a a proiectului a constat în 6 comunicări la simpozioane internaționale, o lucrare publicată în revista ISI, 1 lucrare publicată în revista indexată în baze de date internaționale, o lucrare în curs de evaluare trimisă spre publicare la revista ISI și depunerea unei cereri de brevet la OSIM.

Integration of technologies and scale up

SUMMARY

The results obtained from the analyses and determinations carried out in this stage have allowed to reach the objectives of the second stage. The predicted result indicators have been achieved.

During the second stage of the project, the characterization of the optimized consortium of microorganisms from the kefir and the establishment of the conditions for maintaining its fermentative activity (at the „Dunarea de Jos” University of Galati partner) was realized, the colostrum fermentation technology with enhanced kefir grains was optimized and validated at laboratory level (at the „Dunarea de Jos” University of Galati partner) and then the technology was integrated and scaled-up by validation at industrial level (at the Laboratoarele Medica SRL partner). Also at the partner Laboratoarele Medica SRL, the optimum conditions for preservation of enhanced kefir consortium were established, so that it can be used to obtain new batches of fermented colostrum. Also, standardization of the kefir-fermented colostrum in bioactive peptides was performed and their biological activity was determined (antioxidant activity, the potential of angiotensin-converting enzyme inhibition and the demonstration of bicompatibility and the effect of inducing in vitro cell proliferation) (at the INCDSB partner). Techniques for co-cultivation of intestinal cells with probiotic bacteria (at the INCDSB partner) were developed and tested (in vitro) and the leading strains of kefir consortium were isolated, establishing the conditions for their preservation and storage (patentable results) (at the „Dunarea de Jos” University of Galati partner). Testing the fermentation behaviour of artisanal kefir grains enhanced by co-cultivation with selected yeast strain *Candida lipolytica* MIUG D67 and commercial starter culture of Fresh Q4 probiotic bacteria, in 10 successive batches, compared with the fermentative behaviour of fresh artisanal kefir grains led to the improvement of the fermentative activity of the inoculum by improving the wild microorganism consortium with selected culture. Preservation of kefir grains was achieved by lyophilization, the lyophilized artisanal starter culture obtained presenting the fermentative activity comparable to the fresh grains and unaltered metabolic activity by preservation for a minimum of 3 months at the temperature of 40C. The lyophilized artisanal starter culture is efficient in low concentration comparable to the commercial starter culture (activities carried out by „Dunarea de Jos” University of Galati partner). The updated site of the project is visible at the address: <https://eureka-3biotic.pro-natura.ro>

The dissemination of the results obtained in the second stage of the project consisted of 6 communications at international conferences, a paper published in ISI indexed journal, a paper published in databases indexed journal, a paper under review submitted for publication in ISI indexed journal and a patent request at OSIM.