



MD 4242 C1 2014.02.28

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4242** (13) **C1**
(51) Int.Cl: *C12N 1/16* (2006.01)
C12R 1/865 (2006.01)
C12G 1/00 (2006.01)
C12G 1/022 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

<p>(21) Nr. depozit: a 2012 0070 (22) Data depozit: 2012.04.06</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2013.07.31, BOPI nr. 7/2013 (67)* Nr. și data transformării cererii: s 2012 0061; 2012.09.21</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD (72) Inventatori: TARAN Nicolae, MD; SOLDATENCO Eugenia, MD; ANTOHI Maria, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD</p>	

MD 4242 C1 2014.02.28

(54) **Tulpină de levuri *Saccharomyces cerevisiae* pentru producerea vinurilor roșii seci**

(57) Rezumat:

1 Invenția se referă la biotehnologie și poate
fi utilizată în industria vinicolă.

Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Nematogene cu numărul CNMN-Y-25, poate fi utilizată la producerea vinurilor roșii seci.

5 Rezultatul constă în selecționarea unei
2 tulpini de levuri autohtone pentru producerea
vinurilor roșii seci de calitate înaltă, ce posedă
10 capacități de fermentare a glucidelor în
prezența conținutului majorat de substanțe
fenolice și de formare sporită a glicerinei.

15 Revendicări: 1

(54) Strain of *Saccharomyces cerevisiae* yeast for the production of dry red wines

(57) Abstract:

1
The invention relates to biotechnology and
5 can be used in the wine industry.

The strain of *Saccharomyces cerevisiae*
yeast, deposited in the National Collection of
10 Nonpathogenic Microorganisms under the
number CNMN-Y-25, can be used in the
production of dry red wines.

2
The result consists in the selection of a
5 local yeast strain for the production of dry red
wines of high quality, possessing carbohydrate
fermentability at high concentrations of
10 phenolic compounds and increased formation
of glycerol.

Claims: 1

15

(54) Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для производства красных сухих вин

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к биотехнологии
и может быть использовано в
5 винодельческой промышленности.

Штамм дрожжей *Saccharomyces*
cerevisiae, депонированный в
10 Национальной Коллекции Непатогенных
Микроорганизмов под номером CNMN-Y-
25, может быть использован при
15 производстве красных сухих вин.

2
Результат состоит в селекционировании
5 местного штамма дрожжей для
производства красных сухих вин высокого
качества, обладающего способностями
10 сбраживания углеводов при высоких
концентрациях фенольных веществ и
повышенного образования глицерина.

П. формулы: 1

15

Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie și poate fi utilizată în industria vinicolă.

5 Este cunoscută tulpina de levuri, destinată producerii băuturilor alcoolice obținute prin fermentare alcoolică, în special a Vinurilor cu Denumirea de Origine (VDO) din Madrid, Spania din genul *Saccharomyces cerevisiae*, care a fost evidențiată din microfloră autohtonă provenită din regiunea, care cuprinde arealele Arganda, Navalcameno and San Martin [1].

10 Mai este cunoscută tulpina de levuri din genul *Saccharomyces cerevisiae*, destinată industriei vinicole, utilizată în special pentru producerea vinurilor roșii din soiul Tempranillo, care a fost evidențiată din microfloră autohtonă provenită din regiunea Rioja Alavesa, Spania [2].

15 De asemenea sunt cunoscute tulpini de levuri, care au fost selectate în Argentina, și anume în regiunea Patagonia de Nord, pentru obținerea vinurilor roșii din soiul Malbec [3].

Însă, la moment evidențierea și selectarea tulpinilor de levuri autohtone, din diferite centre viti-vinicole ale Republicii Moldova, destinate producerii vinurilor roșii seci de calitate nu s-a efectuat.

20 Problema pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unei sușe de levuri autohtone cu proprietăți tehnologice avansate, în special cu capacitatea de a fermenta glucide în prezența conținutului ridicat de substanțe fenolice și de formare sporită a glicerinei pentru producerea vinurilor roșii seci de calitate înaltă.

Esența invenției constă în aceea că se propune o tulpină de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25 pentru utilizare în producerea vinurilor roșii seci.

25 Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene cu numărul CNMN-Y-25, poate fi utilizată la producerea vinurilor roșii seci.

30 Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri autohtone pentru producerea vinurilor roșii seci de calitate înaltă, ce posedă capacități de fermentare a glucidelor în prezența conținutului majorat de substanțe fenolice și de formare sporită a glicerinei.

Tulpina de levuri a fost izolată din must de struguri de soiul Cabernet-Sauvignon la baza experimentală viti-vinicolă a Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare din orașul Chișinău prin procedeul de epuizare a ansei.

35 Caracterele morfologo-culturale ale tulpinii: microorganismul este de tip eucariot, se înmulțește pe calea vegetativă prin înmugurire. Tulpina formează celule rotunde. Celulele au lățimea între 5,1...5,0 μm, lungimea de 6,3 μm și o suprafață de 27,3 μm². Celulele tinere sunt grupate câte două, nu formează miceliu autentic. Pe mediu lichid formează depozit floculant, tasat, nu formează peliculă sau inel. Pe mediu lichid agarizat formează colonii rotunde cu suprafața încrețită, lucioasă de culoare albă-crem.

40 Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii: cultura crește în intervalul de temperatură 10...38°C, o dezvoltare optimă se atinge în intervalul termic de 18...28°C; coloniile apar peste 48...72 ore, pH-ul optimal 3,0...3,4. Viabilă în prezența concentrațiilor ridicate de substanțe fenolice.

45 Importanța practică a tulpinii (domeniul de utilizare): tulpina dată este recomandată pentru producerea vinurilor roșii seci.

50 Produsul sintetizat de tulpină: alcool etilic, aminoacizi, glicerină, 2,3-butilenglicol. Parametrii productivi ai tulpinii: în mediul lichid natural (suc de struguri), după 72 ore de cultivare, tulpina formează circa 100...150 mln. celule /ml.

Metode de determinare a activității tulpinii: metode stabilite de OIV pentru caracteristica tulpinilor de levuri.

55 Condițiile și componența mediului pentru cultivare: mediul de cultură din must de struguri se obține din must proaspăt de struguri (glucide – 170...200 g/l), decantat și sterilizat la temperatura de 125°C timp de o oră. Nu se folosesc temperaturi mai ridicate și intervale de timp de mai lungă durată, pentru a evita distrugerea compușilor de creștere și de înmulțire.

Mediul de cultură agarizat se obține din must de struguri steril, al cărui pH este adus la valoarea 6,0 prin adaos de o soluție alcalină de NaOH sau KOH (1N). În

mustul astfel pregătit se administrează autolizat de drojdie în concentrația de 5...10 g/l și agar-agar 20...30 g/l.

5 În cazul când se folosește mediul lichid: în eprubete sterile din sticlă cu volumul de 20 ml se toarnă câte 10 ml de mediu de cultură, se sterilizează în autoclavă timp de 30 min la 0,5 atm. Tulpina se cultivă pe acest mediu lichid la temperatura de $28^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ timp de 48...72 ore.

În cazul când se folosește mediul solid agarizat, mediul de cultură se sterilizează în autoclavă timp de 30 min la 0,5 atm; se toarnă în cutii Petri sterile; după solidificare, tulpina se cultivă pe acest mediu la temperatura de $28^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ timp de 48...72 ore.

10 În cazul când lipsește mediul natural, se folosește mediul sintetic Hansen, care conține glucoză sau maltoză – 50 g; peptonă – 10 g; KH_2PO_4 – 3 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 2...5 g; apă distilată – 1000 ml. Mediul sintetic se solidifică cu adăugarea de agar-agar în cantitate de 1...3%. Se sterilizează la fel ca și mediul natural.

Particularitățile genetice ale tulpinii: formare sporită de glicerină.

15 Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* este izolată în cultură pură și depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul CNMN-Y-25.

20 Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri autohtone pentru producerea vinurilor roșii seci de calitate înaltă, ce posedă capacități de fermentare a glucidelor în prezența conținutului majorat de substanțe fenolice și de formare sporită a glicerinei.

Exemplul 1

25 Mustuiala de struguri din soiul Cabernet-Sauvignon cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 210 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,3 g/l, pH – 3,2 a fost sulfitată până la 75 mg/l, iar procesul de macerare-fermentare a decurs timp de 7 zile la temperatura de 26...28°C. Asamblarea vinului tânăr a fost realizată între fracția răvac și fracțiile de presă, care după separarea de boștină a fost dirijat la procesul de postfermentare.

30 În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare-macerare au fost utilizate levurile autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustuielii Cabernet-Sauvignon a constituit 2% de la volumul inițial al mustuielii, iar procesul de fermentare-macerare a fost efectuat la temperatura de 26...28°C și a decurs dirijat, destul de intens și complet. Vinul roșu sec obținut se caracterizează prin o culoare rubinie-închisă, aroma curată, cu nuanțe de fructe roșii, gust curat, puțin astringent, bine echilibrat. Nota organoleptică – 8,0. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25 permite fabricarea vinului roșu sec de calitate înaltă.

Exemplul 2

40 Mustuiala de struguri din soiul Cabernet-Sauvignon cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 210 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,3 g/l, pH – 3,2; a fost sulfitată până la 75 mg/l, iar procesul de macerare-fermentare a decurs timp de 7 zile la temperatura de 26...28°C. Asamblarea vinului tânăr a fost realizată între fracția răvac și fracțiile de presă, care după separarea de boștină a fost dirijat la procesul de postfermentare.

45 În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare-macerare au fost utilizate levurile autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustuielii Cabernet-Sauvignon a constituit 3% de la volumul inițial al mustuielii iar procesul de fermentare-macerare a fost efectuat la temperatura de 26...28°C și a decurs dirijat, destul de intens și complet. Vinul roșu sec obținut se caracterizează prin o culoare roșie-închisă, aroma curată, cu nuanțe pronunțate de fructe roșii, gust curat, puțin astringent, bine echilibrat. Nota organoleptică – 8,10. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25 permite fabricarea vinului roșu sec de
55 calitate înaltă.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. ES 2222088 A1 2005.01.16
2. ES 2334753 A1 2010.03.15
3. C. A. Lopes, M. E. Rodriguez, M. Sangorin, A. Querol and A. C. Caballero. Patagonian wines: the selection of an indigenous yeast starter. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2007, Vol. 34, No. 8, pages 539-546, ISSN 1367-5435

(57) Revendicări:

Tulpină de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25 pentru utilizare în producerea vinurilor roșii seci.

Șef secție:

COLESNIC Inesa

Examinator:

DUBĂSARU Nina

Redactor:

LOZOVANU Maria