



MD 4728 B1 2020.11.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4728** (13) **B1**
(51) Int.Cl: C12N 1/16 (2012.01)
C12G 1/00 (2012.01)
C12G 1/022 (2012.01)
C12R 1/865 (2012.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2019 0085 (22) Data depozit: 2019.12.04	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2020.11.30, BOPI nr. 11/2020
(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD (72) Inventatori: TARAN Nicolae, MD; SOLDATENCO Olga, MD; SOLDATENCO Eugenia, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD	

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

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la oenologie și biotehnologie, în particular la o tulpină de levuri autohtonă, izolată în centrul vitivinicol "Trifești".

Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* este depozitată în Colecția

2
Națională de Microorganisme Neputogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie cu numărul CNMN-Y-35 și este recomandată pentru producerea vinurilor albe seci.

Revendicări: 1

MD 4728 B1 2020.11.30

(54) *Saccharomyces cerevisiae* yeast strain for the production of dry white wines**(57) Abstract:**

1

The invention relates to oenology and biotechnology, in particular to a local yeast strain, isolated in the wine center "Trifesti".

The *Saccharomyces cerevisiae* yeast strain is deposited in the National Collection of

2

Nonpathogenic Microorganisms of the Institute of Microbiology and Biotechnology under the number CNMN-Y-35 and is recommended for the production of dry white wines.

Claims: 1

(54) Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для производства белых сухих вин**(57) Реферат:**

1

Изобретение относится к энологии и биотехнологии, в частности к местному штамму дрожжей, выделенному в винодельческом центре «Трифешть».

Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* депонирован в Национальной

2

Коллекции Непатогенных Микроорганизмов Института Микробиологии и Биотехнологии под номером CNMN-Y-35 и рекомендован для производства белых сухих вин.

П. формулы: 1

Descriere:

5 Invenția se referă la oenologie și biotehnologie, în particular la o tulpină de levuri autohtonă, izolată în centrul vitivinicol "Trifești" și recomandată pentru producerea vinurilor albe seci.

Sunt cunoscute tulpinile de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CECT 11774 și *Saccharomyces cerevisiae* CECT 11775 destinate industriei vinicole, care au fost izolate din microbiota nativă D.O. Wines of Madrid și depozitate în Colecția Spaniolă de Culturi Tip [1].

10 Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CECT 13030 destinată producerii diferitor băuturi alcoolice, care a fost izolată în Spania din microbiota nativă și depozitată în Colecția Spaniolă de Culturi Tip [2].

Sunt cunoscute tulpini de levuri, destinate producerii vinului din soiul de struguri Chardonnay, de genul *Saccharomyces paradoxus* RO66, RO54, RO11 și RO134, care influențează pozitiv proprietățile organoleptice ale vinului [3].

15 Însă, la momentul actual, izolarea și selectarea tulpinilor de levuri autohtone, în centrul vitivinicol "Trifești", destinate producerii vinurilor albe seci nu a fost cercetată.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unei tulpini de levuri autohtone cu proprietăți tehnologice avansate, în special cu capacitatea de a fermenta glucide la temperaturi joase, astfel, lărgind sortimentul acestora.

Invenția soluționează problema prin aceea că se propune o tulpină de levuri autohtonă *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-35 pentru producerea vinurilor albe seci.

Tulpina de levuri a fost izolată din must de struguri de soiul Sauvignon în centrul vitivinicol "Trifești" prin metoda „Ansei epuizate” în a. 2018.

25 Caracterile morfologo-culturale ale tulpinii: microorganismul este de tip eucariot, se înmulțește pe calea vegetativă prin înmugurire. Tulpina formează celule rotunde, scurt ovale. Lățimea celulelor variază între 5,0-5,3 μm cu lungimea de 5,4 μm, având o suprafață de 21,8 μm². Celulele tinere sunt grupate câte patru, nu formează miceliul autentic. Pe mediu lichid formează depozit fin, tasat și nu formează peliculă sau inel. Pe mediu solid agarizat formează colonii rotunde cu suprafața plată, lucioasă de culoare alb-crem.

30 Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii: cultura crește în intervalul de temperatură de 8-38°C, optimul de dezvoltare este cuprins în intervalul termic de 18-28°C; coloniile apar peste 48-72 ore, pH optimal 2,8-3,4; nu elimină H₂S, posedă competitivități tehnologice.

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

Produsul sintetizat de tulpină: alcool etilic, aminoacizi, compuși aromatici, glicerină, 2,3- butilenglicolă.

40 Parametrii productivi ai tulpinii: în mediul lichid natural (suc de struguri), după 72 ore de cultivare, tulpina formează circa 100-150 mln/ml celule.

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

Condițiile și componența mediului pentru cultivare:

45 Mediul de cultură din must de struguri se obține din must proaspăt de struguri (glucide 170-200 g/dm³) 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 substanțelor nutritive.

50 Mediul de cultură agarizat se obține din must de struguri steril al cărui pH este adus la valoarea de 6,0 prin adaos de o soluție alcalină de NaOH/KOH (1N). În mustul astfel pregătit se administrează autolizat de drojdie în concentrație de 5-10 g/dm³ și agar-agar de 20-30 g/dm³.

55 În cazul cand se folosește mediul lichid: în eprubete sterile din sticlă cu volumul de 20 ml, se toarnă câte 10 ml mediu de cultură, se sterilizează în autoclavă timp de 30 min la presiunea 0,5 atm. Tulpina se cultivă pe acest mediu lichid la temperatura de 28±1°C timp de 48-72 ore.

În cazul cand 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, sușa se cultivă pe acest mediu la temperatura de 28±1°C timp de 48-72 ore.

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

5 Particularitățile genetice ale tulpinii: hemoorganoheterotrofă.

Exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1

10 Mustul de struguri de soiul Sauvignon* a fost sulfitat până la $75 \text{ mg/dm}^3 \text{ SO}_2$, limpezit la rece ($t=10^\circ\text{C}$) in decurs de 18 ore și după tragerea de pe sedimentul format a fost dirijat la fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare au fost utilizate levurile autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-35 (in continuare CNMN-Y-35). Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului a constituit 1% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de $14-16^\circ\text{C}$.

15 Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat printr-o fermentare liniștită, fără formare intensă de spumă, care s-a finalizat in decurs de 18 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec obținut se caracterizează printr-o culoare pai deschisă cu nuanțe verzui, aromă curată, cu nuanțe florale, gust curat, armonios, bine echilibrat, cu nuanțe florale în postgust. Nota organoleptică – 8,15. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri CNMN-Y-35 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

20 Exemplul 2

25 Mustul de struguri de soiul Sauvignon* a fost sulfitat până la $75 \text{ mg/dm}^3 \text{ SO}_2$, limpezit la rece ($t=10^\circ\text{C}$) în decurs de 18 ore și după tragerea de pe sedimentul format a fost dirijat la fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare au fost utilizate levurile autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-35 (in continuare CNMN-Y-35). Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului a constituit 2% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de $14-16^\circ\text{C}$. Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat printr-o fermentare liniștită, fără formare intensă de spumă, care s-a finalizat in decurs de 16 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec obținut se caracterizează printr-o culoare pai deschisă cu nuanțe verzui, aromă curată, cu nuanțe florale, gust plin, proaspăt, armonios, bine echilibrat, cu nuanțe florale în postgust. Nota organoleptică – 8,2. In așa fel, utilizarea tulpinii de levuri CNMN-Y-35 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

35 Exemplul 3

40 Mustul de struguri de soiul Sauvignon* a fost sulfitat până la $75 \text{ mg/dm}^3 \text{ SO}_2$, limpezit la rece ($t=10^\circ\text{C}$) în decurs de 18 ore și după tragerea de pe sedimentul format a fost dirijat la fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare au fost utilizate levurile autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-35 (in continuare CNMN-Y-35). Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului a constituit 3% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura $14-16^\circ\text{C}$. Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat printr-o fermentare liniștită, fără formare intensă de spumă, care s-a finalizat în decurs de 14 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec obținut se caracterizează printr-o culoare pai deschisă cu nuanțe verzui, aromă curată, cu nuanțe florale, gust curat, proaspăt, bine echilibrat, cu nuanțe florale în postgust. Nota organoleptică – 8,05. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri CNMN-Y-35 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

50 *Parametrii inițiali ai strugurilor soiului Sauvignon: zaharuri 215 g/l, aciditate titrabilă 6,8 g/l, pH-3,1.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. EP 1482029 A1 2004.12.01
2. EP 2277990 A1 2011.01.26
3. Influence of indigenous *Saccharomyces paradoxus* strains on Chardonnay wine fermentation aroma. International Journal of Food Science and Technology 2007, 42, 95-101. Găsit Internet:
https://www.researchgate.net/publication/227667764_Influence_of_indigenous_Saccharomyces_paradoxus_strains_on_Chardonnay_wine_fermentation_aroma

(57) Revendicări:

Tulpină de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-35 pentru producerea vinurilor albe seci.