



MD 4224 B1 2013.05.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4224** <sup>(13)</sup> **B1**  
(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

<b>Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării</b>	
<p>(21) Nr. depozit: a 2012 0068 (22) Data depozit: 2012.04.06</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2013.05.31, BOPI nr. 5/2013 (67)* Nr. și data transformării cererii: s 2012 0059, 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; ADAJUC Victoria, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD</p>	

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

(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 Nepatogene cu numărul 10 CNMN-Y-22, poate fi utilizată la producerea vinurilor albe seci aromate.

2  
Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri autohtone pentru producerea vinurilor albe seci de calitate înaltă.

Revendicări: 1

MD 4224 B1 2013.05.31

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

**(57) Abstract:**

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

The strain of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, deposited with the National Collection of Nonpathogenic Microorganisms 10  
under the number CNMN-Y-22, can be used in  
the production of aromatic dry white wines.

2  
The result consists in the selection of a  
local yeast strain for the production of  
aromatic dry white wines of high quality.

Claims: 1

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

**(57) Реферат:**

1  
Изобретение относится к биотехнологии  
и может быть использовано в винодель-  
ческой промышленности. 5

Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, депонированный в 10  
Национальной Коллекции Непатогенных  
Микроорганизмов под номером CNMN-Y-

2  
22, может быть использован при произ-  
водстве белых ароматических сухих вин.

Результат состоит в селекционировании  
местного штамма дрожжей для произ-  
водства белых ароматических сухих вин  
высокого качества.

П. формулы: 1

**Descriere:**

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

Sunt cunoscute tulpinile de levuri, destinate producerii diferitor băuturi alcoolice obținute prin fermentare alcoolică, în special la producerea Vinurilor cu Denumirea de Origine (VDO) din Madrid, Spania din genul *Saccharomyces cerevisiae*, care au fost evidențiate din microflora autohtonă provenită din regiunea care cuprinde arealele Arganda, Navalcameno and San Martin [1].

Mai sunt cunoscute tulpini de levuri genetic modificate din genul *Saccharomyces*, care sunt obținute pentru aplicarea în procesul de fermentare alcoolică în scopul îmbunătățirii aromelor produselor finite, în special a băuturilor alcoolice (vin, cidru, bere) [2].

Utilizarea acestor tulpini de levuri genetic modificate duce la eliminarea tiolilor aromatici volatili în procesul fermentării, însă există riscuri legate de utilizarea produselor genetic modificate în alimentația omului.

Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, selectată din sedimente vinicole oferite de Institutul de Vinificație al Republicii Moldova, actualmente Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare, care sintetizează în cantități sporite  $\beta$ -glucani [3].

Însă, până la momentul actual, evidențierea și selectarea tulpinilor de levuri autohtone, din diferite centre vinicole ale Republicii Moldova, destinate producerii vinurilor albe seci aromate nu a fost cercetată.

Problema pe care o rezolvă invenția revendicată constă în selecționarea unei tulpini de levuri autohtone pentru producerea vinurilor albe seci aromate de calitate înaltă.

Esența invenției constă în aceea că se propune o tulpină de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22, pentru utilizare în producerea vinurilor albe seci aromate.

Tulpina de levuri a fost izolată din must de struguri de soiul Muscat la baza experimentală viti-vinicolă a Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare din orașul Chișinău prin metoda „Ansei epuizate” în a. 2007.

Caracterele morfologo-culturale ale tulpinii: microorganismul este de tip eucariot, se înmulțește pe cale vegetativă prin înmugurire. Tulpina formează celule rotunde. Lățimea celulelor variază între 5,00...5,20  $\mu\text{m}$  cu lungimea de 6,20  $\mu\text{m}$ , având o suprafață de 25,3  $\mu\text{m}^2$ . Celulele tinere sunt grupate câte două, nu formează miceliu autentic. Pe mediu lichid formează depozit granulat, tasat și nu formează peliculă sau inel. Pe mediu solid agarizat formează colonii rotunde cu suprafața încrețită, lucioasă de culoare albă-maroniu.

Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii: 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 optimal 2,8...3,4; nu elimină  $\text{H}_2\text{S}$ , posedă competitivități tehnologice.

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

Produsul sintetizat de tulpină: alcool etilic, aminoacizi, glicerină, 2, 3-butilen-glicol, esteri.

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

Metode de determinare a activității tulpinii: metode stabilite de Organizația Internațională pentru Vie și Vin (OIV) pentru caracteristica tulpinilor de levuri.

Condițiile și componența mediului de cultură: 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 lungă durată, pentru a evita distrugerea compușilor de creștere și înmulțire.

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

În cazul când 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 0,5 atm. Suşa se cultivă pe acest mediu lichid la temperatura de  $28\pm 1^{\circ}\text{C}$  timp de 48...72 ore.

În cazul când se foloseşte 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,

5 suşa se cultivă pe acest mediu la temperatura de  $28\pm 1^{\circ}\text{C}$  timp de 48...72 ore.

În cazul când lipseşte mediul natural, se foloseşte mediul sintetic Hansen, glucoză sau maltoză – 50 g; peptonă – 10 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 3 g;  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 2,5 g; apă distilată – 1000 ml.

10 Mediul sintetic se solidifică cu adăugarea de agar-agar în cantitate de 1...3%. Se sterilizează la fel ca şi mediul natural.

Particularităţile genetice ale tulpinii: formare de compuşi aromatici.

Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* este izolată şi depozitată în Colecţia Naţională de Microorganisme Neputogene a Institutului de Microbiologie şi Biotehnologie al AŞM cu numărul CNMN-Y-22.

15 Rezultatul constă în selecţionarea unei tulpini de levuri autohtone pentru producerea vinurilor albe seci aromate de calitate înaltă.

### Exemplul 1

20 Mustuiala din struguri de soiul Muscat cu parametrii iniţiali: concentraţia în masă a zaharurilor – 200 g/l, concentraţia în masă a acidităţii titrabile – 7,5 g/l, pH – 3,2, a fost sulfitată până la 100 mg/l, macerată timp de 6 ore la temperatura de 16...18°C. Asamblarea mustului a fost realizată între mustul ravac şi fracţiunea de la ştuţul I. Limpezirea a fost efectuată la rece ( $t=10^{\circ}\text{C}$ ), după scoaterea de pe sedimentul format, mustul a fost dirijat la fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecţionate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare au fost utilizate levurile 25 selecţionate autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22. Volumul soluţiei levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Muscat a constituit 1% de la volumul iniţial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de 18...20°C. Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat prin o fermentare liniştită, fără formare intensă de spumă, care s-a finalizat în decurs de 16 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec aromat obţinut are o culoare 30 pai deschisă cu nuanţe verzui, aromă fină cu nuanţe citrice, tipice de Muscat, gust curat, armonios, bine echilibrat, cu nuanţe tipice de Muscat în postgust. Nota organoleptică – 8,00 puncte. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22 permite fabricarea vinului alb sec aromat de calitate înaltă.

### 35 Exemplul 2

40 Mustuiala din struguri de soiul Muscat cu parametrii iniţiali: concentraţia în masă a zaharurilor – 200 g/l, concentraţia în masă a acidităţii titrabile 7,5 g/l, pH – 3,2, a fost sulfitată până la 100 mg/dm<sup>3</sup>, macerată timp de 6 ore la temperatura de 16...18°C. Asamblarea mustului a fost realizată între mustul ravac şi fracţiunea de la ştuţul I. Limpezirea a fost efectuată la rece ( $t=10^{\circ}\text{C}$ ), după scoaterea de pe sedimentul format, mustul a fost dirijat la fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecţionate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare au fost utilizate levurile 45 selecţionate autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22. Volumul soluţiei levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Muscat a constituit 2% de la volumul iniţial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de 18...20°C. Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat prin o fermentare moderată, fără formare intensă de spumă, care s-a finalizat în decurs de 14 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec aromat obţinut are o culoare 50 pai deschisă cu nuanţe verzui, aromă curată, cu nuanţe pronunţate de Muscat, gust curat, armonios, bine echilibrat, cu nuanţe citrice în postgust. Nota organoleptică – 8,1. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22 permite fabricarea vinului alb sec aromat de calitate înaltă.

### Exemplul 3

5 Mustuiala din struguri de soiul Muscat cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 200 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,5 g/l, pH – 3,2, a fost sulfitată până la 100 mg/l, macerată timp de 6 ore la temperatura de 16...18°C. Asamblarea mustului a fost realizată între mustul ravac și fracțiunea de la ștuțul I. Limpezirea a fost efectuată la rece (t=10°C), după scoaterea de pe sedimentul format, mustul a fost dirijat la fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecționate pure 10 pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare au fost utilizate levurile selecționate autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Muscat a constituit 3% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de 15 18...20°C. Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat prin o fermentare intensă, cu formarea abundentă a spumei, care s-a finalizat în decurs de 12 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec aromat obținut are o culoare 20 pai deschisă, aroma curată, cu nuanțe tipice de Muscat, gust curat, armonios, bine echilibrat, cu nuanțe citrice în postgust. Nota organoleptică – 7,95. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22 permite fabricarea vinului alb sec aromat de calitate înaltă.

25

### (56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. ES 2222088 A1 2005.01.16
2. EP 1927654 A1 2008.06.04
3. MD 4048 C1 2010.06.30

### (57) Revendicări:

Tulpină de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22, pentru utilizare în producerea vinurilor albe seci aromate.

Șef Secție:	COLESNIC Inesa
Examinator:	DUBĂSARU Nina
Redactor:	LOZOVANU Maria