



MD 4678 C1 2020.11.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4678** (13) **C1**
(51) Int.Cl: *C12N 1/16* (2006.01)
C12G 1/00 (2006.01)
C12G 1/022 (2006.01)
C12R 1/865 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

<p>(21) Nr. depozit: a 2019 0015 (22) Data depozit: 2019.03.18</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2020.02.29, BOPI nr. 2/2020</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD (72) Inventatori: TARAN Nicolae, MD; SOLDATENCO Eugenia, MD; SOLDATENCO Olga, MD; BOSTAN Victor, MD; VASIUCOVICI Svetlana, MD; CHIOSA Nicolae, MD; CICHIR Liusia, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD</p>	

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

(57) Rezumat:

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

Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* este depozitată în Colecția Națională

2
de Microorganisme Neputogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie cu numărul CNMN-Y-31 și este recomandată pentru producerea vinurilor roșii seci.

Revendicări: 1

MD 4678 C1 2020.11.30

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

1

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

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-31 and is recommended for the production of dry red wines.

Claims: 1

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

1

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

Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* депонирован в Национальной

2

Коллекции Непатогенных Микроорганизмов Института Микробиологии и Биотехнологии под номером CNMN-Y-31 и рекомендован для производства красных 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 "Purcari" și recomandată pentru producerea vinurilor roșii 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].

Mai este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* MMf9, care a fost selectată în Argentina, în regiunea Patagonia de Nord, pentru obținerea vinurilor roșii [3].

15 Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25 izolată din centrul vitivinicol Chișinău (R. Moldova) pentru producerea vinurilor roșii seci [4].

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

20 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 un conținut sporit de substanțe fenolice, astfel, lărgind sortimentul acestora.

Invenția soluționează problema prin aceea că se propune tulpina de levuri autohtonă *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-31 pentru producerea vinurilor roșii seci.

25 Tulpina de levuri a fost izolată din mustul de struguri de soiul Rară-Neagră în centrul vitivinicol "Purcari" prin metoda „Ansei epuizate” în anul 2016.

30 Caracterile morfologo-culturale ale tulpinii: Microorganismul este de tip eucariot, se înmulțește pe cale vegetativă prin înmugurire. Tulpina formează celule rotunde. Lățimea celulelor variază între 5,5-5,7 μm cu lungimea de 6,0 μm, având o suprafață de 26,4 μm². Celulele tinere sunt grupate câte patru, nu formează miceliul autentic. Pe mediu lichid formează depozit floculant, tasat și nu formează peliculă sau inel. Pe mediu solid agarizat formează colonii rotunde cu suprafața netedă, lucioasă de culoare alb-crem.

35 Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii: cultura crește în intervalul de temperatură 10-38°C, optimul de dezvoltare este cuprins în intervalul termic de 18-28°C; coloniile apar peste 48-72 ore, pH optimal 3,0-3,4; viabilă în prezența concentrațiilor ridicate de substanțe fenolice.

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

Produsul sintetizat de tulpină: alcool etilic, aminoacizi, 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 tulpinilor 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 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 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 autoclav 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 când se folosește mediul solid agarizat: mediu de cultură se sterilizează în autoclav timp de 30 min la 0,5 atmosfere; se toarnă în cutii Petri sterile; după solidificare, sușa se cultivă pe acest mediu la temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ timp de 48-72 ore.

5 În cazul când lipsește mediul natural, se folosește mediu sintetic Hansen: 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 : hemoorganoheterotrofă.

10 Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* este izolată în cultură pură și depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neputogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie cu numărul CNMN-Y-31.

Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri pentru producerea vinurilor roșii seci, ce posedă capacități de fermentare a glucidelor în prezența conținutului majorat de substanțe fenolice, lărgind sortimentul de tulpini autohtone.

15 Exemple de realizare a invenției:

Exemplul 1

20 Mustuiala de struguri de soiul Rară-Negră* a fost sulfată până la $75 \text{ mg/dm}^3 \text{ SO}_2$, iar procesul de macerare-fermentare a decurs timp de 7 zile la temperatura de $26-28^\circ\text{C}$. Asamblarea vinului tânăr a fost realizată prin reunirea fracției ravac și fracțiunilor de presă după care acesta a fost dirijat la procesul de postfermentare.

În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare-macerare a fost utilizată tulpina de levuri autohtonă *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-31. Volumul soluției de levuri utilizat la fermentarea alcoolică a mustuielii a constituit 2% de la volumul inițial al mustuielii, iar procesul de fermentare-macerare a fost efectuat la temperatura de $26-28^\circ\text{C}$. Acesta s-a caracterizat printr-o fermentare dirijată a mustuielii, destul de intensă, cu fermentarea completă. Vinul roșu sec obținut se caracterizează printr-o culoare rubinie-închisă, aroma curată, cu nuanțe de fructe, gust curat, puțin astringent, bine echilibrat. Nota organoleptică – 8,0. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-31 permite fabricarea vinului roșu sec de calitate înaltă.

Exemplul 2

35 Mustuiala de struguri de soiul Rară-Negră* a fost sulfată până la $75 \text{ mg/dm}^3 \text{ SO}_2$, iar procesul de macerare-fermentare a decurs timp de 7 zile la temperatura de $26-28^\circ\text{C}$. Asamblarea vinului tânăr a fost realizată prin reunirea fracției ravac și fracțiunilor de presă și după care acesta a fost dirijat la procesul de postfermentare.

În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare-macerare a fost utilizată tulpina de levuri autohtonă *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-31. Volumul soluției de levuri utilizat la fermentarea alcoolică a mustuielii a constituit 3% de la volumul inițial al mustuielii, iar procesul de fermentare-macerare a fost efectuat la temperatura de $26-28^\circ\text{C}$. Acesta s-a caracterizat printr-o fermentare dirijată a mustuielii, destul de intensă, cu fermentarea completă. Vinul roșu sec obținut se caracterizează printr-o culoare rodie-închisă, aroma curată, cu nuanțe pronunțate de fructe, gust curat, puțin astringent, bine echilibrat. Nota organoleptică – 8,10. În așa fel, utilizarea sușei de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-31 permite fabricarea vinului roșu sec de calitate înaltă.

*Parametrii inițiali ai strugurilor de soiul Rară-Negră: zaharuri 215 g/l, aciditate titrabilă 7,0 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. Christian A. Lopes, Maria E. Rodriguez, Marcela Sangorin, Amparo Querol, Adriana C. Caballero. Patagonian wines: the selection of an indigenous yeast starter. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, august 2007, vol. 34, nr. 8, p. 539-546
4. MD 4242 B1 2013.07.31

(57) Revendicări:

Tulpină de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-31 pentru producerea vinurilor roșii seci.