



MD 4730 B1 2020.11.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4730** (13) **B1**
(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

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 0087 (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 roșii 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 Națională

2
de Microorganisme Neputogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie cu numărul CNMN-Y-37 și este recomandată pentru producerea vinurilor roșii seci.

Revendicări: 1

MD 4730 B1 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 center "Trifesti".

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

2
of Microbiology and Biotechnology under the number CNMN-Y-37 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 «Трифешть».

Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* депонирован в Национальной

2
Коллекции Непатогенных Микроорганизмов Института Микробиологии и Биотехнологии под номером CNMN-Y-37 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 "Trifești" 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 în 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 "Trifești", 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 și alcool etilic, astfel, lărgind sortimentul acestora.

Invenția soluționează problema prin aceea că se propune o tulpină de levuri autohtonă *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-37 pentru producerea vinurilor roșii seci.

25 Tulpina de levuri a fost izolată din must de struguri de soiul Cabernet-Sauvignon în centrul vitivinicol "Trifești" prin metoda „Ansei epuizate” în a. 2018. Caracterile morfologo-culturale ale tulpinii: microorganismul este de tip eucariot, se înmulțește pe calea vegetativă prin înmugurire. Tulpina formează celule ovale. Lățimea celulelor variază între 5,6-5,8 μm cu lungimea de 6,8 μm , având o suprafață de 30,4 μm^2 . 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 margini puțin ondulate, suprafața netedă, lucioasă de culoare alb-crem.

30 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 prezenta concentrațiilor ridicate de substanțe fenolice și alcool etilic.

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

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

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.

45 Condițiile și componența mediului pentru cultivare: 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 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 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: 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 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ timp de 48-72 ore.

5 În cazul când 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 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 Neapatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie cu numărul CNMN-Y-37.

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 și alcool etilic, lărgind sortimentul de tulpini autohtone.

15 Exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1

Mustuiala de struguri de soiul Cabernet-Sauvignon* a fost sulfitată până la $75 \text{ mg/dm}^3 \text{ SO}_2$, iar procesul de macerare-fermentare a decurs timp de 7 zile la temperatura de $26-28^\circ\text{C}$.

20 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-37. Volumul soluției de levuri utilizate 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 $26-28^\circ\text{C}$. Procesul de fermentare-macerare s-a caracterizat printr-o fermentare dirijată a mustuielii, destul de intensă, cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul roșu sec obținut se caracterizează printr-o culoare rubinie-închisă, aromă curată, cu nuanțe de fructe, gust curat, plin, puțin astringent, bine echilibrat. Nota organoleptică – 8,1.

30 În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-37 permite fabricarea vinului roșu sec de calitate.

Exemplul 2

35 Mustuiala de struguri de soiul Cabernet-Sauvignon* a fost sulfitată 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-37. Volumul soluției de levuri utilizate 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 $26-28^\circ\text{C}$. Procesul de fermentare-macerare s-a caracterizat printr-o fermentare dirijată a mustuielii, destul de intensă, cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul roșu sec obținut se caracterizează printr-o culoare rodie-închisă, aromă curată, cu nuanțe pronunțate de fructe, gust curat, plin, puțin astringent, bine echilibrat. Nota organoleptică – 8,1. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-37 permite fabricarea vinului roșu sec de calitate.

*Parametrii inițiali ai strugurilor de soiul Cabernet-Sauvignon: zaharuri 245 g/l, aciditate titrabilă 6,0 g/l, pH 3,2.

50

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. EP 1482029 A1 2004.12.01
2. EP 2277990 A1 2011.01.29
3. Christian A. Lopes, Maria E. Rodriguez, Marcela Sangorrin, 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-37 pentru producerea vinurilor roșii seci.