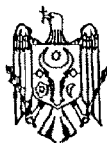




MD 4224 C1 2013.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4224** ⁽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

(21) Nr. depozit: a 2012 0068 (22) Data depozit: 2012.04.06	(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
(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	

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

(57) Rezumat:

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
CNMN-Y-22, poate fi utilizată la producerea
vinurilor albe seci aromate.

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

Revendicări: 1

MD 4224 C1 2013.12.31

(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.

The strain of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, deposited with the National Collection of Nonpathogenic Microorganisms 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 винодельческой промышленности.

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

2
22, может быть использован при производстве белых ароматических сухих вин.

Результат состоит в селекционировании местного штамма дрожжей для производства 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
5 Origine (VDO) din Madrid, Spania din specia *Saccharomyces cerevisiae*, care au fost evidențiate din microflora autohtonă provenită din regiunea care cuprinde arealele Arganda, Navalcameno și San Martin [1].

Mai sunt cunoscute tulpini de levuri genetic modificate din specia *Saccharomyces*, care sunt obținute pentru aplicarea în procesul de fermentare alcoolică în scopul îmbunătățirii
10 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
15 vinicole oferite de Institutul de Vinificație al Republicii Moldova, actualmente Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare, care sintetizează în cantități sporite β -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
20 aromate nu a fost efectuată.

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
25 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
30 celulelor variază între 5,00...5,20 μm cu lungimea de 6,20 μm , având o suprafață de 25,3 μm^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
35 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 H_2S , posedă competitivitate tehnologică.

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-butilenglicol, 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
45 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
55 atm. Sușa 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±1°C timp de 48...72 ore.

În cazul când lipsește mediul natural, se folosește mediul 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.

5 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 de compuși aromatici.

Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* este izolată și depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neptogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul CNMN-Y-22.

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

Exemplul 1

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 sulfată 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 ($t=10^\circ\text{C}$), după scoaterea de pe sedimentul format, mustul a fost dirijat la fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecționate pure 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 1% de la volumul inițial 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 liniștită, fără formare intensă de spumă, care s-a finalizat în decurs de 16 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec aromat obținut are o culoare pai deschisă cu nuanțe verzui, aromă fină cu nuanțe citrice, tipice de Muscat, gust curat, armonios, bine echilibrat, cu nuanțe 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.

Exemplul 2

30 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 sulfată până la 100 mg/dm³, 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 ($t=10^\circ\text{C}$), după scoaterea de pe sedimentul format, mustul a fost dirijat la fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecționate pure 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 2% de la volumul inițial 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 obținut are o culoare pai deschisă cu nuanțe verzui, aromă curată, cu nuanțe pronunțate de Muscat, gust curat, armonios, bine echilibrat, cu nuanțe 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 ($t=10^{\circ}\text{C}$), după scoaterea de pe sedimentul format, mustul a fost dirijat la
10 fermentarea alcoolică. În calitate de levuri selecționate pure 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 18...20°C. Procesul de fermentare alcoolică a mustului
s-a caracterizat prin o fermentare intensă, cu formarea abundentă a spumei, care s-a
15 finalizat în decurs de 12 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec aromat
obținut are o culoare 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
20 vinului alb sec aromat de calitate înaltă.

(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

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2012 0068 (32) Data de prioritate recunoscută:
 (22) Data depozit: 2012.04.06 Raport de documentare internațională: ☐ da
 (67)* Nr. s 2012 0059 și data 2012.08.30 transformării cererii
 (71) Solicitant: **INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD**
 (54) **Titlul: Sușă de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-22 pentru producerea vinurilor albe seci aromate**

II. Clasificarea obiectului invenției:

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

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD (Documentare Invenții (inclusiv cereri nepublicate)) –C12N 1/16

C12R 1/865

C12G 1/00

C12G 1/022

Saccharomyces cerevisiae

tulpină de levuri

"Worldwide" (Espacenet) – C12N 1/16

C12R 1/865

C12G 1/00

C12G 1/022

Saccharomyces cerevisiae

strain

EA, CIS (Eapatis) – C12N 1/16

C12R 1/865

C12G 1/00

C12G 1/022

Saccharomyces cerevisiae

штамм

SU (nonpublic) –

Alte BD –

http://www.bioterapi.ro/dictionar/index_alimentar/index_alimentarLevuri.html

<http://www.scribd.com/doc/54504303/Levuri-selec%C8%9Bionate-%C8%99i-fermentarea-alcoolic%C4%83-1>

http://www.uaiasi.ro/CERCET_AGROMOLD/CA1-11-08.pdf

http://www.uaiasi.ro/ro/files/doctorat/2009_nov_Ancuta_Vasile_ro.pdf

http://www.univagro-iasi.ro/Horti/Lucr_St_2006/99_stamate%20c.pdf

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

V. Documente considerate a fi relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
D	ES 2222088 A1 2005.01.16	1
D	EP 1927654 A1 2008.06.04	1
C	MD 4048 C1 2010.06.30	1
A	RU 2138550 C1 1999.09.27	1
A	EP 1482029 A1 2004.12.02	1
A	ES 2180397 B1 2003.12.01	1
A	ES 2091723 B1 1997.05.16	1
A	WO 2009030863 A2 2009.03.12	1
A	CN 101838615 A 2010.09.22	1
* categoriile speciale ale documentelor citate:		
A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria pe care se bazează invenția	
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată	
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet	
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție	
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete	
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri	
Data finalizării documentării 2012-10-12		
Examinator DUBĂSARU Nina		