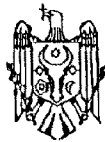




MD 4680 C1 2020.11.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4680** (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

(21) Nr. depozit: a 2019 0017 (22) Data depozit: 2019.03.18	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2020.02.29, BOPI nr. 2/2020
(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	

(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
”Purcari”.

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

2
de Microorganisme Nepatogene a Institutului
de Microbiologie și Biotehnologie cu numărul
CNMN-Y-33 și este recomandată pentru
producerea vinurilor albe seci.

Revendicări: 1

MD 4680 C1 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-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-33 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 «Пуркарь».

Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* депонирован в Национальной

2

Коллекции Непатогенных Микроорганизмов Института Микробиологии и Биотехнологии под номером CNMN-Y-33 и рекомендован для производства белых сухих вин.

П. формулы: 1

Descriere:

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 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].

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 sunt cunoscute tulpini de levuri, destinate producerii vinului din soiul de struguri Chardonnay, de genul *Saccharomyces paradoxus*, care influențează pozitiv asupra proprietăților organoleptice a vinului [3].

Însă, la momentul actual, izolarea și selectarea tulpinilor de levuri autohtone, în centrul vitivinicol "Purcari", 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 tulpina de levuri autohtonă *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-33 pentru producerea vinurilor albe seci.

Tulpina de levuri a fost izolată din must de struguri de soiul Feteasca Albă din centrul vitivinicol "Purcari" prin metoda „Ansei epuizate” în anul 2016.

Caracterele 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 5,5-5,7 μm cu lungimea de 6,8 μm având o suprafață de 28,9 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 suprafața plată, lucioasă de culoare alb-crem.

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 H_2S , posedă competitivități tehnologice.

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

Produsul sintetizat de tulpină: alcool etilic, aminoacizi, 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 sușelor de levuri.

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.

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 concentrația 5-10 g/dm³ și agar-agar 20-30 g/dm³.

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 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 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.

5 Particularitățile genetice ale tulpinii : psihrofilă

Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri pentru producerea vinurilor albe seci, ce posedă capacități de fermentare a glucidelor la temperaturi joase, lărgind sortimentul de tulpini autohtone.

Exemple de realizare a invenției:

10 Exemplul 1

Mustul de struguri de soiul Feteasca Albă* 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 scoaterea 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, izolate în centrul vitivinicol "Purcari", *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-33. Volumul soluției de levuri utilizat la fermentarea alcoolică a mustului a constituit 1% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de $14-16^\circ\text{C}$. 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 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 – 8,05. În așa fel, utilizarea sușei de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-33 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

Exemplul 2

25 Mustul de struguri de soiul Feteasca Albă* 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 scoaterea 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, izolate în centrul vitivinicol "Purcari", *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-33. Volumul soluției de levuri
30 utilizat 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 în decurs de 16 zile cu fermentarea completă a zaharurilor. Vinul alb sec obținut se caracterizează printr-o culoare pai-deschisă cu nuanțe verzui, aromă
35 curată, cu nuanțe florale, gust plin, proaspăt, armonios, bine echilibrat, cu nuanțe florale în postgust. Nota organoleptică – 8,1. În așa fel, utilizarea sușei de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-33 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

Exemplul 3

40 Mustul de struguri din soiul Feteasca Albă* 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 scoaterea 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, izolate în centrul vitivinicol "Purcari", *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-33. Volumul soluției de levuri
45 utilizat la fermentarea alcoolică a mustului a constituit 3% 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 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
50 curată, cu nuanțe florale, gust curat, proaspăt, bine echilibrat, cu nuanțe florale în postgust. Nota organoleptică – 8,0. În așa fel, utilizarea sușei de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-33 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

*Parametrii inițiali a strugurilor soiului Feteasca Albă: zaharuri 205 g/l, aciditate titrabilă 6,2 g/l, pH-3,3;

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. EP 1482029 A1 2004.12.01
2. EP 2277990 A1 2011.01.26
3. Sandi O., Redzepovic S. etc. Influence of indigenous *Saccharomyces paradoxus* strains on Chardonnay wine fermentation aroma. International Journal of Food Science & Technology, 2007, 42(1) p.95 - 101

(57) Revendicări:

Tulpină de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-33 pentru producerea vinurilor albe seci.

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2019 0017

(22) Data depozit: 2019.03.18

(71) Solicitant: **INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD**

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

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** *C12N 1/16* (2006.01)

C12G 1/00 (2006.01)

C12G 1/022 (2006.01)

C12R 1/865 (2006.01)

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

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): **Int.Cl:** *C12N 1/16* (2006.01)

C12G 1/00 (2006.01)

C12G 1/022 (2006.01)

C12R 1/865 (2006.01)

Saccharomyces cerevisiae, tulpină, levuri, drojdie, vin, alb, aromat

"Worldwide" (Espacenet): Int.Cl: *C12N 1/16* (2006.01)

C12G 1/00 (2006.01)

C12G 1/022 (2006.01)

C12R 1/865 (2006.01)

Saccharomyces cerevisiae, CNMN-Y-33, strain, white, wine, yeast, low temperature, aromatic

EA, CIS (Eapatis): Int.Cl: *C12N 1/16* (2006.01)

C12G 1/00 (2006.01)

C12G 1/022 (2006.01)

C12R 1/865 (2006.01)

Saccharomyces cerevisiae, CNMN-Y-33, белое вино, температура, дрожжи, штамм, ароматное

FIPS.RU:

Int.Cl: *C12N 1/16* (2006.01)

C12R 1/865 (2006.01)

C12G 1/00 (2006.01)

C12G 1/022 (2006.01)

Saccharomyces cerevisiae, CNMN-Y-33, белое вино, температура, дрожжи, штамм, ароматное

PatSearch : **Int.Cl:** *C12N 1/16* (2006.01)

C12R 1/865 (2006.01)

C12G 1/00 (2006.01)

C12G 1/022 (2006.01)

Saccharomyces cerevisiae, CNMN-Y-33, strain, white, wine, yeast, low temperature, aromatic

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

www.google.com

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A, D	EP 1482029 A1 2004.12.01	1
A, D	EP 2277990 A1 2011.01.26	1
A, D	Sandi O., Redzepovic S. etc. Influence of indigenous <i>Saccharomyces paradoxus</i> strains on Chardonnay wine fermentation aroma. International Journal of Food Science & Technology, 2007, 42(1) p.95 - 101	1
A, C	MD 4224 B1 2013.05.31	1
A	UA 91060 C2 2010.06.25	1
A	UA 91061 C2 2010.06.25	1
A	RU 2529834 C1 2014.09.27	1
A	CN 108624518 A 2018.10.09	1
A	KR 20080057078 A 2008.06.24	1
A	WO 9620272 A1 1996.07.04	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 evidență 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 2019.11.07

Examinator COLESNIC Inesa

