



MD 4210 B1 2013.03.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4210** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *C12N 1/16* (2006.01)
C12R 1/85 (2006.01)
C12G 1/00 (2006.01)
C12G 1/02 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării	
(21) Nr. depozit: a 2012 0071 (22) Data depozit: 2012.04.06	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2013.03.31, BOPI nr. 3/2013 (67)* Nr. și data transformării cererii: s 2012 0062, 2012.09.21
(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD (72) Inventatori: TARAN Nicolae, MD; SOLDATENCO Olga, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD	

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

(57) Rezumat:

1

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

Tulpina de levuri *Saccharomyces vini*,
depozitată în Colecția Națională de Micro-
organisme Neputogene cu numărul CNMN-Y-
26, poate fi utilizată la producerea vinurilor
albe seci.

2

Rezultatul constă în selectarea unei tulpini
de levuri autohtone cu capacitate de a fermenta
glucide la temperaturi joase cu obținerea unui
vin de calitate înaltă.

Revendicări: 1

5

10

MD 4210 B1 2013.03.31

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

(57) Abstract:

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

The strain of *Saccharomyces vini* yeast,
deposited in the National Collection of
Nonpathogenic Microorganisms under the
number CNMN-Y-26, can be used in the
production of white dry wines.

2
The result consists in the selection of a
5 local yeast strain with the ability of
carbohydrate fermentation at low temperatures
to produce high-quality wine.

10 Claims: 1

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

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к биотехнологии
и может быть использовано в вино-
дельческой промышленности.

Штамм дрожжей *Saccharomyces vini*,
депонированный в Национальной Коллек-
ции Непатогенных Микроорганизмов под
номером CNMN-Y-26, может быть исполь-
зован при производстве белых сухих вин.

2
Результат состоит в селекции местного
штамма дрожжей со способностью сбра-
живания углеводов при низких темпе-
ратурах с получением высококачественного
вина.

10 П. формулы: 1

15

Descriere:

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

5 Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, destinată producerii diferitor băuturi alcoolice obținute prin fermentare alcoolică, în special a Vinurilor cu Denumirea de Origine (VDO) din Madrid, Spania, care a fost evidențiată din microfloră autohtonă provenită din regiunea, care cuprinde arealele Arganda, Navalcarneno și San Martin [1].

10 Mai este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, destinată industriei vinicole, în special, producerii vinurilor roșii din soiul Tempranillo, care a fost evidențiată din microfloră autohtonă provenită din regiunea Rioja Alavesa, Spania [2].

De asemenea, este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces paradoxus*, destinată producerii vinurilor din soiul de struguri Chardonnay, selectată din microfloră provenită din regiunea Zagreb, Croația, care influențează pozitiv asupra proprietăților organoleptice ale vinului [3].

15 Înșă, până în prezent, evidențierea și selectarea tulpinilor de levuri autohtone, din diferite centre vitivinicole ale Republicii Moldova, destinate producerii vinurilor albe seci de calitate nu s-a efectuat.

Problema pe care o rezolvă invenția solicitată constă în obținerea unei tulpini de levuri autohtone cu proprietăți tehnologice avansate, în special cu capacitatea de a fermenta glucide la temperaturi joase.

20 Esența invenției constă în aceea că se propune o tulpină de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-26 pentru utilizare în producerea vinurilor albe seci.

25 Tulpina de levuri *Saccharomyces vini* este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene cu numărul CNMN-Y-26 și poate fi utilizată la producerea vinurilor albe seci.

Rezultatul constă în selectarea unei tulpini de levuri autohtone cu capacitate de a fermenta glucide la temperaturi joase cu obținerea unui vin de calitate înaltă.

Tulpina de levuri a fost izolată din must de struguri de soiul Chardonnay la Centrul vitivinicol Cricova prin metoda „Ansei epuizate” în a. 2010.

30 Caracterile morfologo-culturale ale tulpinii: microorganism de tip eucariot, se înmulțește pe cale vegetativă prin înmugurire. Tulpina formează celule ovale și eliptice. Lățimea celulelor variază între 5,6...5,8 μm cu lungimea de 6,5 μm, având o suprafață de 28,9 μm². Celulele tinere sunt grupate câte două, nu formează miceliul autentic. Pe mediu lichid formează un depozit fin tasat, nu formează peliculă sau inel. Pe mediu solid agarizat formează colonii rotunde cu suprafața plată, lucioasă de culoare albă-crem.

35 Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii: cultura crește în intervalul de temperatură 8...38°C, dezvoltare optimă se atinge în intervalul 18...28°C, coloniile apar peste 48...72 ore, pH optimal 2,8...3,4, nu elimină H₂S, posedă competitivități tehnologice.

40 Produsul sintetizat de tulpină: alcool etilic, aminoacizi, glicerină, 2,3-butilenglicol.

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

45 Metode de determinare a activității tulpinii: metode stabilite de OIV pentru caracteristica tulpinilor de levuri.

50 Condițiile și componența mediului pentru cultivare: mediul de cultură natural se obține din must proaspăt de struguri (glucide – 170...200g/l), decantat și sterilizat la temperatura de 125°C timp de o oră. Nu se folosesc temperaturi mai ridicate și intervale de timp de o durată mai lungă, pentru a evita distrugerea compușilor de creștere și de înmulțire.

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

55 În cazul când se folosește mediu 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. Tulpina se cultivă pe acest mediu lichid la temperatura de 28±1°C timp de 48...72 ore.

În cazul când se folosește mediu solid agarizat, acesta se sterilizează în autoclavă timp de 30 min la 0,5 atm; se toarnă în cutii Petri sterile; după solidificare, tulpina se cultivă pe acest mediu la temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ timp de 48...72 ore.

În cazul când lipsește un mediu natural, se folosește mediul sintetic Hansen, care conține 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: psihrofilă.

Tulpina de levuri *Saccharomyces vini* este izolată din cultură pură și depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul CNMN-Y-26.

Exemplul 1

Mustul de struguri de soiul Chardonnay cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 198 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 8,2 g/l, pH – 3,15 a fost sulfitat până la 75 mg/l, limpezit la rece ($t=10^\circ\text{C}$) în decurs de 18 ore, iar 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 *Saccharomyces vini* CNMN-Y-26, evidențiate în centrul vitivinicol Cricova. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Chardonnay a constituit 1% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de $14...16^\circ\text{C}$, fiind caracterizat prin 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 prin 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 tulpinii de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-26 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

Exemplul 2

Mustul de struguri de soiul Chardonnay cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 198 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 8,2 g/l, pH – 3,15 a fost sulfitat până la 75 mg/l, limpezit la rece ($t=10^\circ\text{C}$) în decurs de 18 ore, iar 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 *Saccharomyces vini* CNMN-Y-26, evidențiate în centrul vitivinicol Cricova. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Chardonnay a constituit 2% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de $14...16^\circ\text{C}$, fiind 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 obținut se caracterizează prin o culoare pai deschisă cu nuanțe verzui, aromă curată cu nuanțe florale, gust plin, proaspăt, armonios, bine echilibrat, cu nuanțe florale în postgust. Nota organoleptică – 8,1. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-26 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

Exemplul 3

Mustul de struguri de soiul Chardonnay cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 198 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 8,2 g/l, pH – 3,15 a fost sulfitat până la 75 mg/l, limpezit la rece ($t=10^\circ\text{C}$) în decurs de 18 ore, iar 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 *Saccharomyces vini* CNMN-Y-26, evidențiate în centrul vitivinicol Cricova. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Chardonnay a constituit 3% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de $14...16^\circ\text{C}$, fiind caracterizat prin 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 prin o culoare pai deschisă cu nuanțe verzui, aromă curată cu nuanțe florale, gust curat, proaspăt, bine echilibrat, cu nuanțe florale în postgust. Nota organoleptică – 8,0. În așa fel, utilizarea

tulpinii de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-26 face posibilă fermentarea glucidelor la temperaturi joase cu obținerea vinului alb sec de calitate înaltă.

5

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. ES 2222088 A1 2005.01.16
2. ES 2334753 A1 2010.03.15
3. Sandy Orlic, Sulejman Redzepovic, Ana Jeromel, Stanka Herjavec, Lucilla Iacumin. Influence of indigenous *Saccharomyces paradoxus* strains on Chardonnay wine fermentation aroma. *International Journal of Food Science & Technology*. 2007, vol. 42, p. 95-101

(57) Revendicări:

Tulpină de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-26 pentru utilizare în producerea vinurilor albe seci.

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

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2012 0071 (32) Data de prioritate recunoscută:
 (22) Data depozit: 2012.04.06 Raport de documentare internațională: da
 (67)* Nr. s 2012 0062 și data 2012.09.21 transformării cererii
 (71) Solicitant: **INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD**
 (54) **Titlul: Tulpină de levuri *Saccharomyces vini* pentru producerea vinurilor albe seci**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** **C12R 1/865** (2006.01)
C12G 1/00 (2006.01)
C12G 1/02 (2006.01)
C12N 1/16 (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):

C12R 1/865
 C12G 1/00
 C12G 1/02
 C12N 1/16
 saccharomyces vini
 tulpină de levuri

"Worldwide" (Espacenet):

C12R 1/865
 C12G 1/00
 C12G 1/02
 C12N 1/16
 saccharomyces vini
 yeast strain

EA, CIS (Eapatis):

C12R 1/865
 C12G 1/00
 C12G 1/02
 C12N 1/16
 saccharomyces vini
 штамм дрожжей

SU (nonpublic):

Alte BD –

[http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1365-2621](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2621)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17938912>

<http://www.brewerylane.com/yeast.html>

<http://digital.csic.es/bitstream/10261/15379/3/Tronchoni%20Int%20J%20Food%20Microbiol.pdf>

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate		
V. Documente considerate a fi relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A, D	ES 2222088 A1 2005.01.16	1
A, D	ES 2334753 A1 2010.03.15	1
A, C	Sandy Orlic, Sulejman Redzepovic, Ana Jeromel, Stanka Herjavec, Lucilla Iacumin. Influence of indigenous Saccharomyces paradoxus strains on Chardonnay wine fermentation aroma. International Journal of Food Science & Technology. 2007. vol. 42. p. 95-101	1
A	RU 2072688 C1 1997.01.27	1
A	RU 2065495 C1 1996.08.20	1
A	SU 1460076 A1 1989.02.23	1
A	SU 1147750 A1 1985.03.30	1
A	UA 78670 C2 2007.04.15	1
A	UA 91060 C2 2010.06.20	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 2012-11-07		
Examinator DUBĂSARU Nina		