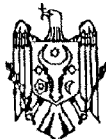




MD 4242 B1 2013.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4242** (13) **B1**  
(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**

<b>Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării</b>	
<p>(21) Nr. depozit: a 2012 0070 (22) Data depozit: 2012.04.06</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2013.07.31, BOPI nr. 7/2013</p> <p>(67)* Nr. și data transformării cererii: s 2012 0061, 2012.09.21</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD (72) Inventatori: TARAN Nicolae, MD; SOLDATENCO Eugenia, MD; ANTOHI Maria, 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 biotehnologie și poate  
fi utilizată în industria vinicolă. 5

Tulpina de levuri *Saccharomyces cere-*  
*visiae*, depozitată în Colecția Națională de  
Microorganisme Neapatogene cu numărul  
CNMN-Y-25, poate fi utilizată la producerea  
vinurilor roșii seci. 10  
15

2  
Rezultatul constă în selecționarea unei  
tulpini de levuri autohtone pentru producerea  
vinurilor roșii seci de calitate înaltă, ce posedă  
capacități de fermentare a glucidelor în pre-  
zența conținutului majorat de substanțe feno-  
lice și de formare sporită a glicerinei.

Revendicări: 1

MD 4242 B1 2013.07.31

**(54) Strain of *Saccharomyces cerevisiae* yeast for the production of dry red wines**

**(57) Abstract:**

1  
The invention relates to biotechnology and 5  
can be used in the wine industry.

The strain of *Saccharomyces cerevisiae* 10  
yeast, deposited in the National Collection of  
Nonpathogenic Microorganisms under the  
number CNMN-Y-25, can be used in the  
production of dry red wines.

2  
The result consists in the selection of a  
local yeast strain for the production of dry red  
wines of high quality, possessing carbohydrate  
fermentability at high concentrations of  
phenolic compounds and increased formation  
of glycerol.

Claims: 1

15

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

**(57) Реферат:**

1  
Изобретение относится к биотехнологии 5  
и может быть использовано в вино-  
дельческой промышленности.

Штамм дрожжей *Saccharomyces cere-* 10  
*visiae*, депонированный в Национальной  
Коллекции Непатогенных Микроорга-  
низмов под номером CNMN-Y-25, может  
быть использован при производстве 15  
красных сухих вин.

2  
Результат состоит в селекционировании  
местного штамма дрожжей для произ-  
водства красных сухих вин высокого  
качества, обладающего способностями  
сбраживания углеводов при высоких кон-  
центрациях фенольных веществ и повы-  
шенного образования глицерина.

П. формулы: 1

**Descriere:**

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

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

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

De asemenea sunt cunoscute tulpini de levuri, care au fost selectate în Argentina, și anume în regiunea Patagonia de Nord, pentru obținerea vinurilor roșii din soiul Malbec [3].

15 Însă, la moment evidențierea și selectarea tulpinilor de levuri autohtone, din diferite centre viti-vinicole ale Republicii Moldova, destinate producerii vinurilor roșii seci de calitate nu s-a efectuat.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unei sușe de levuri autohtone cu proprietăți tehnologice avansate, în special cu capacitatea de a fermenta glucide în prezența conținutului ridicat de substanțe fenolice și de formare sporită a glicerinei pentru producerea vinurilor roșii seci de calitate înaltă.

Esența invenției constă în aceea că se propune o tulpină de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25 pentru utilizare în producerea vinurilor roșii seci.

25 Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene cu numărul CNMN-Y-25, poate fi utilizată la producerea vinurilor roșii seci.

30 Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri autohtone pentru producerea vinurilor roșii seci de calitate înaltă, ce posedă capacități de fermentare a glucidelor în prezența conținutului majorat de substanțe fenolice și de formare sporită a glicerinei.

Tulpina de levuri a fost izolată din must de struguri de soiul Cabernet-Sauvignon la baza experimentală viti-vinicolă a Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare din orașul Chișinău prin procedeul de epuizare a ansei.

35 Caracterele morfologo-culturale ale tulpinii: microorganismul este de tip eucariot, se înmulțește pe calea vegetativă prin înmugurire. Tulpina formează celule rotunde. Celulele au lățimea între 5,1...5,0 μm, lungimea de 6,3 μm și o suprafață de 27,3 μm<sup>2</sup>. Celulele tinere sunt grupate câte două, nu formează miceliu autentic. Pe mediu lichid formează depozit flocculant, tasat, nu formează peliculă sau inel. Pe mediu solid agarizat formează colonii rotunde cu suprafața încrețită, lucioasă de culoare albă-crem.

40 Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii: cultura crește în intervalul de temperatură 10...38°C, o dezvoltare optimă se atinge în intervalul termic de 18...28°C; coloniile apar peste 48...72 ore, pH-ul optimal 3,0...3,4. Viabilă în prezenta concentrațiilor ridicate de substanțe fenolice.

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

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.

50 Metode de determinare a activității tulpinii: metode stabilite de OIV pentru caracteristica tulpinilor 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/l), 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 compușilor de creștere și de înmulțire.

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 sau KOH (1N). În

mustul astfel pregătit se administrează autolizat de drojdie în concentrația de 5...10 g/l și agar-agar 20...30 g/l.

5 În cazul când se folosește mediul lichid: în eprubete sterile din sticlă cu volumul de 20 ml se toarnă câte 10 ml de 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 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, tulpina se cultivă pe acest mediu la temperatura de 28°±1°C timp de 48...72 ore.

10 În cazul când lipsește mediul natural, se folosește mediul sintetic Hansen, care conține glucoză sau maltoză – 50 g; peptonă – 10 g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 3 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>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: formare sporită de glicerină.

15 Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* este izolată în cultură pură și depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul CNMN-Y-25.

20 Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri autohtone pentru producerea vinurilor roșii seci de calitate înaltă, ce posedă capacități de fermentare a glucidelor în prezența conținutului majorat de substanțe fenolice și de formare sporită a glicerinei.

#### *Exemplul 1*

25 Mustuiala de struguri din soiul Cabernet-Sauvignon cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 210 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,3 g/l, pH – 3,2 a fost sulfitată până la 75 mg/l, iar procesul de macerare-fermentare a decurs timp de 7 zile la temperatura de 26...28°C. Asamblarea vinului tânăr a fost realizată între fracția răvac și fracțiile de presă, care după separarea de boștină a fost dirijat la procesul de postfermentare.

30 În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare-macerare au fost utilizate levurile autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustuielii Cabernet-Sauvignon a constituit 2% de la volumul inițial al mustuielii, iar procesul de fermentare-macerare a fost efectuat la temperatura de 26...28°C și a decurs dirijat, destul de intens și complet. Vinul roșu sec obținut se caracterizează prin o culoare rubinie-închisă, aromă curată, cu nuanțe de fructe roșii, gust curat, plin, puțin astringent, bine echilibrat. Nota organoleptică – 8,0. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25 permite fabricarea vinului roșu sec de calitate înaltă.

#### *Exemplul 2*

40 Mustuiala de struguri din soiul Cabernet-Sauvignon cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 210 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,3 g/l, pH – 3,2 a fost sulfitată până la 75 mg/l, iar procesul de macerare-fermentare a decurs timp de 7 zile la temperatura de 26...28°C. Asamblarea vinului tânăr a fost realizată între fracția răvac și fracțiile de presă, care după separarea de boștină a fost dirijat la procesul de postfermentare.

45 În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare-macerare au fost utilizate levurile autohtone *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustuielii Cabernet-Sauvignon a constituit 3% de la volumul inițial al mustuielii, iar procesul de fermentare-macerare a fost efectuat la temperatura de 26...28°C și a decurs dirijat, destul de intens și complet. Vinul roșu sec obținut se caracterizează prin o culoare roșie-închisă, aroma curată, cu nuanțe pronunțate de fructe roșii, gust curat, puțin astringent, bine echilibrat. Nota organoleptică – 8,10. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25 permite fabricarea vinului roșu sec de calitate înaltă.

55

**(56) Referințe bibliografice citate în descriere:**

1. ES 2222088 A1 2005.01.16
2. ES 2334753 A1 2010.03.15
3. C. A. Lopes, M. E. Rodriguez, M. Sangorrin, A. Querol and A. C. Caballero. Patagonian wines: the selection of an indigenous yeast starter. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2007, Vol. 34, No. 8, pages 539-546, ISSN 1367-5435

**(57) Revendicări:**

Tulpină de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-25 pentru utilizare în producerea vinurilor roșii seci.

<b>Șef Secție:</b>	COLESNIC Inesa
<b>Examinator:</b>	DUBĂSARU Nina
<b>Redactor:</b>	LOZOVANU Maria

**RAPORT DE DOCUMENTARE**

I. Datele de identificare a cererii	
(21) Nr. depozit: a 2012 0070	(32) Data de prioritate recunoscută:
(22) Data depozit: 2012.04.06	Raport de documentare internațională: <input type="checkbox"/> da
(67)* Nr. s 2012 0061 și data 2012.09.21	transformării cererii
(54) <b>Titlul: Tulpină de levuri <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CNMN-Y-25 pentru producerea vinurilor roșii seci</b>	
(71) Solicitant: <b>INSTITUȚIA PUBLICĂ INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE, MD</b>	
<b>Int.Cl:</b> <i>C12N 1/16</i> (2006.01) <i>C12R 1/865</i> (2006.01) <i>C12G 1/00</i> (2006.01) <i>C12G 1/022</i> (2006.01)	
II. Condiții de unitate a invenției:	<input checked="" type="checkbox"/> satisface <input type="checkbox"/> nu satisface
Note :	
III.Revindicări: claritatea, susținerea de descriere	
Note:	<input checked="" type="checkbox"/> satisface <input type="checkbox"/> nu satisface
IV. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare)	
MD (Documentare Invenții (inclusiv cereri nepublicate)) -	
C12N 1/16	
C12R 1/865	
C12G 1/00	
C12G 1/022	
tulpină	
saccharomyces cerevisiae	
"Worldwide" (Espacenet) –	
C12N 1/16	
C12R 1/865	
C12G 1/00	
C12G 1/022	
saccharomyces cerevisiae	
strain	
red wines	
EA, CIS (Epatis) –	
C12N 1/16	
C12R 1/865	
C12G 1/00	
C12G 1/022	
saccharomyces cerevisiae	
ИТAММ	
SU (nonpublic) –	
Alte BD –	
<a href="http://www.springerlink.com/content/5536332406754k43/">http://www.springerlink.com/content/5536332406754k43/</a>	
<a href="http://en.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae">http://en.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae</a>	

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17387435>

V. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

VI. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, 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	C. A. Lopes , M. E. Rodriguez, M. Sangorin, A. Querol, and A. C. Caballero. Patagonian wines: the selection of an indigenous yeast starter. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. volume 34. number 8. 2007. 539-546. ISSN: 1367-5435.	1
A	ES 2089982 A1 1996.10.01	1
A	UA 91058 C2 2010.06.25	1
A	SU 579308 A1 1977.11.05	1

\* categoriile speciale ale documentelor citate:

<b>A</b> – document care definește stadiul anterior general	<b>T</b> – 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
<b>X</b> – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	<b>E</b> – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
<b>Y</b> – 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	<b>D</b> – document menționat în descrierea cererii de brevet
<b>O</b> - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	<b>C</b> – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	<b>&amp;</b> – document, care face parte din aceeași familie de brevete
<b>P</b> - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	<b>L</b> – document citat cu alte scopuri

Data finalizării documentării 2013.02.15

Examinator DUBĂSARU Nina