



MD 4428 B1 2016.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4428** (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)
C12G 1/06 (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 2015 0111 (22) Data depozit: 2015.04.17 (67) Numărul cererii transformate și data transformării: s 2015 0058; 2015.11.11	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2016.07.31, BOPI nr. 7/2016
(71) Solicitant: INSTITUȚIA PUBLICĂ "INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE", MD (72) Inventatori: TARAN Nicolae, MD; SOLDATENCO Eugenia, MD; BARSOVA Oxana, MD; SOLDATENCO Olga, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ "INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE", MD	

MD 4428 B1 2016.07.31

(54) Tulpină de levuri *Saccharomyces vini* pentru producerea vinului spumant roz

(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 Microorganisme Neapatogene cu numărul CNMN-Y-27, poate fi utilizată la producerea vinului spumant roz.

Rezultatul constă în selecționarea unei

2
tulpini de levuri autohtone care posedă o activitate de fermentare sporită a cupajelor cu diferite concentrații ale substanțelor fenolice, inclusiv antociani, pentru producerea vinului spumant roz cu proprietăți avansate de spumare și perlare.

Revendicări: 1

(54) Strain of *Saccharomyces vini* yeast for the production of sparkling rose wine

(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 Non-pathogenic Microorganisms under the number CNMN-Y-27, can be used in the production of sparkling rose wine.

2

The result consists in the selection of a local yeast strain having enhanced activity of fermentation of blends with different concentrations of phenolic substances, including anthocyanins, for the production of sparkling rose wine with high foaming and sparkling properties.

Claims: 1

(54) Штамм дрожжей *Saccharomyces vini* для производства игристого розового вина

(57) Реферат:

1

Изобретение относится к биотехнологии и может быть использовано в винодельческой промышленности.

Штамм дрожжей *Saccharomyces vini*, депонированный в Национальной Коллекции Непатогенных Микроорганизмов под номером CNMN-Y-27, может быть использован при производстве игристого розового вина.

2

Результат состоит в селекции местного штамма дрожжей, обладающего повышенной активностью сбраживания купажей с разными концентрациями фенольных веществ, в том числе антоцианов для производства игристого розового вина с повышенными пенообразующими и игристыми свойствами.

П. формулы: 1

Descriere:

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

5 Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces bayanus*, destinată producerii vinurilor spumante albe, roze și roșii, care a fost izolată din microfloră din regiunea Sevastopol, Ucraina cu proprietăți tehnologice de rezistență la concentrații moderate de alcool, SO₂, aciditate, temperaturi joase și activitatea de fermentare rapidă a cupajelor din vinurile materie primă albe, roze și roșii [1].

10 De asemenea este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-24, destinată producerii vinurilor spumante albe, care a fost izolată din must de struguri de soiul Chardonnay la centrul vitivinicol Ialoveni din Republica Moldova cu proprietăți tehnologice avansate, în special cu capacitatea de a fermenta glucidele la concentrații moderate de alcool (≈12% vol.) [2].

15 Mai sunt cunoscute levuri activ uscate LAU recomandate de diferite firme, ca: Begerow, Germania LAU *Saccharomyces bayanus* „Siha”; Lallemand, Canada LAU „Lalvin” și Institutul oenologiei, Franța „IOC Champagne, IOC 18-2007” și destinate producerii vinurilor spumante, care au fost izolate și obținute din microfloră autohtonă [3].

Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces bayanus* Morasteli Nr.1, destinată producerii vinurilor spumante roze, care a fost izolată din microflora din Ucraina [3].

Evidențierea și selectarea tulpinilor de levuri autohtone, din diferite centre vitivinicole ale Republicii Moldova, destinate producerii vinurilor spumante roze nu s-a efectuat până în prezent.

20 Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în evidențierea unei tulpini de levuri autohtone cu proprietăți tehnologice avansate pentru producerea vinurilor spumante roze.

Esența invenției constă în aceea că se propune tulpina de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-27 pentru producerea vinului spumant roz.

25 Tulpina de levuri a fost izolată din must de struguri de soiul Bianca, la baza experimentală vitivinicolă a Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare din orașul Chișinău prin metoda „Ansei epuizate” în a. 2009.

30 Tulpina de levuri *Saccharomyces vini* evidențiată este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene cu numărul de acces CNMN-Y-27 și este recomandată, în special, pentru a fi utilizată în procesul de fermentare secundară la producerea vinurilor spumante roze, ce posedă proprietăți avansate de spumare și perlare.

35 Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri autohtone pentru producerea vinurilor spumante roze de calitate înaltă, care este rezistentă la concentrații moderate de alcool, SO₂, aciditate, activitate de fermentare rapidă a cupajelor cu diferite concentrații ale substanțelor fenolice și antociani în butelie și sisteme de rezervoare, cu caracteristici organoleptice și proprietăți avansate de spumare și perlare.

40 Caracterile morfologo-culturale ale tulpinii: microorganism de tip eucariot, se înmulțește pe cale vegetativă prin înmugurire. Tulpina formează celule rotunde și scurt ovale. Lățimea celulelor variază între 5,4...5,6 μm, iar lungimea – 5,6...5,8 μm, având o suprafață de 23,0 μm². Celulele tinere sunt grupate câte două, nu formează miceliu autentic. Pe mediu lichid formează un depozit compact lipicios, pulverulent șerpuitor și nisipos, la agitare formează așchii mijlocii. Pe mediu solid agarizat formează colonii rotunde cu suprafața plată, lucioasă de culoare albă-crem.

Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii: cultura crește în intervalul de temperatură 10°...38°C, intervalul termic optimal de dezvoltare este cuprins între 18°...28°C; coloniile apar peste 48...72 ore, pH optimal 2,8...3,4, nu elimină H₂S, posedă competitivitate tehnologică.

45 Importanța practică a tulpinii (domeniul de utilizare): tulpina propusă este recomandată la fermentarea secundară pentru producerea vinurilor spumante roze. Produsele secundare sintetizate de tulpină sunt alcoolul etilic, aminoacizii, glicerina și 2,3-butilenglicolul.

Parametrii productivi ai tulpinii: în mediu lichid natural (suc de struguri), după 72 ore de cultivare, atinge o concentrație de 100...150 mln/ml celule.

50 Metodele de determinare a activității tulpinii sunt metodele stabilite de OIV pentru caracteristica tulpinilor de levuri.

Componența mediului și condițiile de cultivare

55 Mediul de cultură 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 compușilor de creștere și de înmulțire.

Mediul de cultură agarizat este obținut 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 drojdii în concentrația de 5...10 g/dm³ și agar-agar 20...30 g/dm³.

În cazul când se folosește un mediu 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 $28^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ timp de 48...72 ore.

5 În cazul când se folosește un mediu 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 $28^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 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.

10 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: proprietăți avansate de spumare și perlare.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

15 Procesul de fermentare secundară a fost efectuat în condiții de microvinificație la Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare. La prepararea amestecului de tiraj a fost utilizată tulpina de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-27, iar în calitate de martor – levuri active uscate SIHA Aktivhefe 4 din specia *Saccharomyces bayanus*. Componenta amestecului de tiraj a fost următoarea: vin materie primă pentru spumante roze, zahăr – 22 g/L, bentonită – 0,1 g/L, concentrația de levuri – 3 mln cel./L.

20 Pentru stabilirea influenței tulpinii de levuri în procesul de fermentare secundară asupra proprietăților de spumare și perlare ale vinurilor spumante roze a fost utilizat cupajul de vinuri materie primă roze pentru spumante tratate Merlot cu parametrii inițiali ai cupajului: concentrația alcoolului etilic – 12,1% vol., concentrația în masă a acidității titrabilă – 6,8 g/L, concentrația substanțelor fenolice – 228 mg/dm³ și concentrația antocianilor – 23 mg/dm³.

25 Procesul fermentării secundare a fost efectuat la temperatura de 14...16°C în decursul a 2 luni, după aceasta probele experimentale de cuvee au fost supuse proceselor de remuaj, degorjaj, apoi a fost efectuată analiza indicilor cromatici, caracteristicilor organoleptice, proprietăților de spumare și perlare.

Tabelul 1

30 Influența procesului de fermentare secundară cu utilizarea diferitor tulpini de levuri asupra concentrațiilor de substanțe fenolice și antociani, caracteristicilor organoleptice, proprietăților de spumare și perlare ale vinurilor spumante roze

Tulpina de levuri	Concentrația substanțelor fenolice, mg/dm ³	Concentrația antocianilor, mg/dm ³	Volumul spumei V_{\max} , cm ³	Viteza de formare a spumei W_o , cm ³ /s	Viteza de distrugere a spumei W_p , cm ³ /s	Spuma	Timpul de distrugere a spumei t_{p50} , s	Caracteristicile organoleptice	Nota organoleptică, bal
Martor SIHA Aktivhefe 4	186	17	350	7	21,3	Spumă înaltă, nestabilă cu degajarea grosieră a bulelor de dioxid de carbon; perlare slabă	14,1	roz, limpede, aromă simplă, gust plin, armonios	8,9
CNMN-Y-27	207	21	430	7,2	20,9	Spumă înaltă, stabilă cu degajarea lentă și fină a bulelor mărunte de dioxid de carbon; perlare îndelungată	18,1	roz, strălucitoare, aromă curată, cu nuanțe florale, gust curat, plin, armonios	9,1

Din datele prezentate în tab. 1, se observă că proprietățile de spumare, volumul maxim de spumă, timpul și viteza de distrugere a spumei vinurilor spumante roze se diferențiază. La utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-27 pentru fermentarea secundară indicii cromatici, indicii de spumare și volumul maxim al vinurilor spumante roze sunt majorați față de utilizarea tulpinii martor.

Așadar, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-27 permite fabricarea vinului spumant roz de calitate înaltă cu proprietăți avansate de spumare și perlare.

Exemplul 2

Procesul de fermentare secundară a fost efectuat în condiții de microvinificație la Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare. La prepararea amestecului de tiraj a fost utilizată tulpina de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-27, iar în calitate de martor – levuri activ uscate SIHA Aktivhefe 4 din specia *Saccharomyces bayanus*. Componenta amestecului de tiraj a fost următoarea: vin materie primă pentru spumante roze, zahar – 22 g/L, bentonită – 0,1 g/L, concentrația de levuri – 3 mln cel./L.

Pentru stabilirea influenței tulpinii de levuri în procesul de fermentare secundară asupra proprietăților de spumare și perlare ale vinului spumant roz a fost utilizat cupajul de vinuri materie primă roz pentru spumante tratate Merlot cu parametrii inițiali ai cupajului: concentrația alcoolului etilic – 11,3% vol., concentrația în masă a acidității titrabile – 7,0 g/L, concentrația substanțelor fenolice – 306 mg/dm³ și concentrația antocianilor – 34 mg/dm³.

Procesul fermentării secundare a fost efectuat la temperatura de 14...16°C în decursul a 2 luni, după aceasta probele experimentale de cuvee au fost supuse proceselor de remuaj, degorjaj, apoi a fost efectuată analiza indicilor cromatici, caracteristicilor organoleptice, parametrilor de spumare și perlare.

Tabelul 2

Influența procesului de fermentare secundară cu utilizarea diferitor tulpini de levuri asupra concentrațiilor de substanțe fenolice și antociani, caracteristicilor organoleptice, proprietăților de spumare și perlare ale vinurilor spumante roze

Tulpina de levuri	Concentrația substanțelor fenolice, mg/dm ³	Concentrația antocianilor, mg/dm ³	Volumul spumei V _{max} , cm ³	Viteza de formare a spumei W _{o₂} , cm ³ /s	Viteza de distrugere a spumei W _{p₃} , cm ³ /s	Spuma	Timpul de distrugere a spumei t _{p50} , s	Caracteristicile organoleptice	Nota organoleptică, bal
Martor SIHA Aktivhefe 4	234	17	470	6,7	20,7	Spumă înaltă, stabilă, cu degajarea lentă a bulelor de dioxid de carbon; perlare intensă	19,8	roz, limpede, aromă și gust simplu, curat	9,0
CNMN-Y-27	250	24	520	7,4	19,1	Spumă înaltă, bogată și fină; cu perlarea persistentă și degajarea lentă a bulelor mărunte de dioxid de carbon	23,5	roz, strălucitoare, limpede, aromă proaspătă, cu nuanțe florale, gust moale, plin, armonios	9,2

Din datele prezentate în tabel 2, se observă că proprietățile de spumare, volumul maxim de spumă, timpul și viteza de distrugere a spumei vinului spumant roz se diferențiază. La utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-27 pentru fermentarea secundară indicii cromatici, indicii de spumare și volumul maxim de spumă al vinului spumant roz sunt majorați față de utilizarea tulpinii martor.

Deci se poate concluziona că tulpina de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-27 în procesul de fermentare secundară permite de a fermenta cupajul tratat de vinuri materie primă roze Merlot cu

diferite concentrații ale alcoolului, substanțe fenolice, antociani și imprimă vinului spumant roz proprietăți avansate de spumare și perlare.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. UA 13959 U 2006.04.15
2. MD 4225 B1 2013.05.31
3. Макаров А. Производство шампанского. Симферополь, Таврия, 2008, p. 208-223

(57) Revendicări:

Tulpină de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-27 pentru producerea vinului spumant roz.

Șef Secție Examinare:

LEVIȚCHI Svetlana

Examinator:

DUBĂSARU Nina

Redactor:

LOZOVANU Maria