



MD 4429 C1 2017.02.28

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4429** (13) **C1**
(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

(21) Nr. depozit: a 2015 0112 (22) Data depozit: 2015.04.17	(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; BARSOVA Oxana, MD; SOLDATENCO Olga, MD; STOLEICOVA Svetlana, MD; MORARI Boris, MD (73) Titular: INSTITUȚIA PUBLICĂ "INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE", MD	

(54) Tulpină de levuri *Saccharomyces vini* pentru producerea vinului materie
primă roz sec

(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 Nepatogene cu numărul
CNMN-Y-29, poate fi utilizată la producerea
vinului materie primă roz sec.

2

Rezultatul constă în selecționarea unei
tulpini de levuri autohtone care posedă o
adsorbție redusă a substanțelor fenolice,
inclusiv antociani pentru producerea vinului
materie primă roz sec de calitate înaltă.

Revendicări: 1

MD 4429 C1 2017.02.28

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

(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-29, can be used in the production of dry rose wine stock.

2

The result consists in the selection of a local yeast strain having a reduced absorption of phenolic substances, including anthocyanins, for the production of high quality dry rose wine stock.

Claims: 1

(54) Штамм дрожжей *Saccharomyces vini* для производства сухого розового виноматериала

(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-29, может быть использован при производстве сухого розового виноматериала.

2

Результат состоит в селекции местного штамма дрожжей, обладающего пониженной адсорбцией фенольных веществ, в том числе антоцианов для производства сухого розового виноматериала высокого качества.

П. формулы: 1

Descriere:

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

5 Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* selectată din soiul Cabernet și depozitată sub numărul IMB Y-5032, destinată industriei vinicole, în special pentru producerea vinului roșu, care a fost evidențiată din microfloră autohtonă provenită din regiunea Sudac, Ucraina, cu rezistență la dioxidul de sulf, activitate fermentativă mare și proprietăți aromatice [1].

10 De asemenea este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-26, destinată producerii vinurilor albe seci, care a fost izolată din must de struguri de soiul Chardonnay la centrul vitivinicol Cricova, R. Moldova, cu proprietăți tehnologice avansate, în special cu capacitatea de a fermenta glucide la temperaturi joase [2].

15 Mai este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces vini* Cahuri-7, destinată industriei vinicole, care poate fi utilizată pentru fermentarea alcoolică și fermentarea secundară în scopul producerii vinurilor materie primă și vinurilor spumante. Tulpina a fost evidențiată din microfloră autohtonă din Ucraina „Magaraci” și posedă rezistență la concentrații sporite de alcool și dioxid de sulf [3].

20 Până în prezent evidențierea și selectarea tulpinilor de levuri autohtone, din diferite centre vitivinicole ale Republicii Moldova, destinate producerii vinurilor materie primă roze nu s-a efectuat.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în obținerea unei tulpini de levuri autohtone cu proprietăți tehnologice avansate, în special cu capacitatea de a fermenta glucide la temperaturi joase, care contribuie la ameliorarea proprietăților organoleptice, posedă adsorbție redusă a conținutului de substanțe fenolice și antociani și poate fi utilizată pentru producerea vinurilor materie primă roze seci de calitate înaltă.

25 Esența invenției constă în aceea că se propune tulpina de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-29 pentru utilizare în producerea vinului materie primă roz sec.

Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri autohtone pentru producerea vinurilor materie primă roze seci de calitate înaltă, ce posedă adsorbție redusă de substanțe cu caracter fenolic, inclusiv antociani și proprietăți organoleptice înalte.

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

35 Tulpina de levuri *Saccharomyces vini* evidențiată este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Nematogene cu numărul de acces CNMN-Y-29, posedă adsorbție redusă de substanțe cu caracter fenolic fiind recomandată, în special, pentru a fi utilizată în procesul de fermentare a glucidelor cu obținerea vinurilor materie primă roze seci.

40 Caracterele 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 5,3...5,5 μm , iar lungimea este de 6,5 μm , având o suprafață de 28,0 μm^2 . Celulele tinere sunt grupate câte două, nu formează miceliu autentic. Pe mediu lichid formează depozit compact, pulverulent și nisipos de culoare bej deschis, la agitare formează așchii mijlocii. Pe mediu solid agarizat formează colonii rotunde cu suprafața plată, lucioasă de culoare albă-crem.

45 Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii: cultura crește în intervalul de temperatură 10°...38°C, intervalul termic optim de dezvoltare este cuprins între 18...28°C; coloniile apar peste 48...72 ore, pH optimal 2,8...3,4 nu elimină H_2S , posedă competitivitate tehnologică.

50 Importanța practică a tulpinii (domeniul de utilizare): tulpina dată este recomandată pentru producerea vinurilor materie primă roze seci.

Produsele secundare sintetizate de tulpină sunt alcoolul etilic, aminoacizii, glicerina, 2,3-butilenglicolul.

55 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.

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

Condițiile și componența mediului pentru cultivare

- 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.
- 5 Mediul de cultură agarizat este obținut 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 drojdii în concentrația de 5...10 g/dm³ și agar-agar 20...30 g/dm³.
- 10 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.
- 15 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, sușă 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, KH₂PO₄ – 3 g, MgSO₄·7H₂O – 2...5 g, apă distilată – 1000 ml. Mediul sintetic se solidifică cu adăugarea de agar-agar în cantitate de
- 20 1...3%. Se sterilizează la fel ca și mediul natural.
- Particularitățile genetice ale tulpinii: adsorbție redusă de substanțe cu caracter fenolic, inclusiv antociani.
- Exemple de realizare a invenției
- Exemplul 1
- 25 Mustuiala de struguri din soiul Merlot, cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 200 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,6 g/l, pH – 3,2, a fost sulfitată până la 80 mg/l, iar procesul de macerare a decurs timp de 6 ore la temperatura de 16±2°C. Asamblarea mustului a fost realizată între fracția ravac și fracțiile de presă, care după separarea de boștină a fost dirijat la procesul de fermentare. În calitate de
- 30 levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare a fost utilizată tulpina de levuri autohtonă *Saccharomyces vini* CNMN-Y-29. Volumul masei de levuri utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Merlot a constituit 3% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura de 18±2°C în decurs de 25 zile cu fermentarea completă a zaharurilor.
- 35 În tabel sunt prezentate avantajele tulpinii de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-29 în comparație cu tulpina de levuri Cahuri-7 (martor).

Tabelul 1

Aprecieri comparative a diferitor tulpini de levuri și influența lor asupra indicilor fizico-chimici și indicilor cromatici ai vinurilor materie primă roze

Nr. exp.	Tulpina de levuri	Concentrația alcoolică, % vol.	Concentrația în masă a			pH	Concentrația substanțelor fenolice, mg/dm ³	Concentrația antocianilor, mg/dm ³	Caracteristicile organoleptice	Nota organoleptică, bal
			zaharurilor, g/dm ³	acidității titrabile, g/dm ³	acidității volatile, g/dm ³					
Macerare clasică timp de 6 ore										
1	martor Cahuri-7	11,5	3,2	6,4	0,40	3,30	360	30	culoare roz, aromă și gust curat	7,8
2	CNMN-Y-29	11,8	2,4	6,9	0,26	3,25	415	41	culoare roz strălucitoare, aromă curată, florală, gust curat, plin, bine echilibrat	8,0

Conform rezultatelor din tabelul 1 se poate concluziona, că în dependență de tulpina de levuri utilizată vinurile materie primă roze obținute prin procedeul de macerare clasică 6 ore se deosebesc după indicii fizico-chimici și indicii cromatici.

5 Rezultatele obținute demonstrează o majorare considerabilă a concentrației alcoolului și a acizilor titrabili în vinurile materie primă roze, unde a fost utilizată tulpina de levuri CNMN-Y-29, comparativ cu proba martor Cahuri-7.

Conform rezultatelor indicilor cromatici, vinurile materie primă roze obținute cu utilizarea tulpinii de levuri CNMN-Y-29 se disting prin adsorbție redusă de substanțe fenolice și antociani în comparație cu tulpina martor Cahuri-7.

10 Exemplul 2

Mustuiala de struguri din soiul Merlot cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 200 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,6 g/l, pH – 3,2 a fost sulfată până la 80 mg/l, iar procesul de macerare a decurs timp de 9 ore la temperatura de 16±2°C. Asamblarea mustului a fost realizată între fracția ravac și fracțiile de presă, 15 care după separarea de boștină a fost dirijat la procesul de fermentare. În calitate de levuri selecționate pure pentru efectuarea procesului tehnologic de fermentare a fost utilizată tulpina de levuri autohtonă *Saccharomyces vini* CNMN-Y-29. Volumul maielei de levuri utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Merlot a constituit 3% de la volumul inițial al mustului, iar procesul de fermentare a fost efectuat la temperatura 20 de 18±2°C în decurs de 25 zile cu fermentarea completă a zaharurilor.

În tabel sunt prezentate avantajele tulpinii de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-29 în comparație cu tulpina de levuri Cahuri-7 (martor).

Tabelul 2

25 Aprecierea comparativă a diferitor tulpini de levuri și influența lor asupra indicilor fizico-chimici și indicilor cromatici ai vinurilor materie primă roze

Nr. exp.	Tulpina de levuri	Concentrația alcoolică, % vol.	Concentrația în masă a			pH	Concentrația substanțelor fenolice, mg/dm ³	Concentrația antocianilor, mg/dm ³	Caracteristicile organoleptice	Nota organoleptică, bal
			zaharurilor, g/dm ³	acidității titrabile, g/dm ³	acidității volatile, g/dm ³					
Macerare clasică timp de 9 ore										
1	martor Cahuri-7	11,4	3,3	6,8	0,40	3,26	419	36	culoare roz, aromă curată, simplă, gust curat, plin	7,8
2	CNMN-Y-29	11,7	2,1	7,2	0,26	3,23	472	52	culoare roz strălucitoare, aromă curată, florală, gust curat, plin, bine echilibrat	8,05

30 Conform rezultatelor din tabelul 2 se poate concluziona că în dependență de tulpina de levuri utilizată vinurile materie primă roze obținute prin procedeul de macerare clasică timp de 9 ore se deosebesc după indicii fizico-chimici și indicii cromatici.

Rezultatele obținute demonstrează o majorare considerabilă a concentrației alcoolului și a acizilor titrabili în vinurile materie primă roze, unde a fost utilizată tulpina de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-29, comparativ cu proba martor Cahuri-7.

35 Conform rezultatelor indicilor cromatici, vinurile materie primă roze obținute cu utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-29 se disting prin adsorbție redusă de substanțe fenolice și antociani în comparație cu tulpina martor Cahuri-7.

5 În așa fel, la utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-29, care posedă o adsorbție redusă de substanțe fenolice și antociani, se obțin vinuri materie primă roze seci de calitate înaltă.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. RU 2529833 C1 2014.09.27
2. MD 4210 B1 2013.03.31
3. Макаров А. Производство шампанского. Симферополь, Таврия, 2008, p. 103-106

(57) Revendicări:

Tulpină de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-29 pentru utilizare în producerea vinului materie primă roz sec.

Șef Direcție Brevete:

GUȘAN Ala

Șef Secție Examinare:

LEVIȚCHI Svetlana

Examinator:

DUBĂSARU Nina

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2015 0112 (32) Data de prioritate recunoscută:
 (22) Data depozit: 2015.04.17 Raport de documentare internațională: ☐ da
 (67) Numărul cererii transformate și data transformării: s 2015 0057; 2015.11.11
 (71) Solicitant: **INSTITUȚIA PUBLICĂ "INSTITUTUL ȘTIINȚIFICO-PRACTIC DE HORTICULTURĂ ȘI TEHNOLOGII ALIMENTARE", MD**
 (54) **Titlul: Tulpină de levuri pentru producerea vinurilor materie primă roze seci**

II. Clasificarea obiectului invenției:

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

C12R 1/85

C12G 1/00

C12G 1/02

tulpină de levuri

Saccharomyces vini

roze

"Worldwide" (Espacenet):

C12N 1/16

C12R 1/85

C12G 1/00

C12G 1/02

wine

Saccharomyces vini

pink

EA, CIS (Eapatis):

C12N 1/16

C12R 1/85

C12G 1/00

C12G 1/02

штамм

Saccharomyces vini

розовый виноматериал

SU (nonpublic):

Alte BD –

<http://vinocenter.ru/rozovye-suxie-vina.html>

<http://cyberleninka.ru/article/n/novye-shtammy-drozhzhey-primenyaemye-v-proizvodstve-rozovyh->

vin
<http://ntk.kubstu.ru/file/676>
<http://www.rasfoiesc.com/sanatare/retete/Producerea-vinurilor-roze-secil6.php>
<http://www.anunturiagricole.mgc.ro/viticultura/68--producerea-vinurilor-roze>
<http://chimie-biologie.ubm.ro/Cursuri%20online/MODORAN%20DOREL/Tehnologia%20vinului.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
A, D	RU 2529833 C1 2014.09.27	1
A, D	MD 4210 B1 2013.03.31	1
A, D, C	Макаров А. Производство шампанского. Симфинополь. таврия. 2008, р. 103-106	1
A	MD 4203 B1 2013.02.28	1
A	MD 4242 B1 2013.07.31	1
A	SU 1086011 A 1984.04.15	1
A	SU 1110797 A 1984.08.30	1
A	ES 2089982 A1 1996.10.01	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 2016.04.04

Examinator DUBĂSARU Nina