

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

Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, destinată producerii diferitor băuturi alcoolice 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, Navalcarnero and San Martin [1].

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

Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, selectată din sedimente vinicole oferite de Institutul de Vinificație al Republicii Moldova, actualmente Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare, care sintetizează în cantități sporite  $\beta$ -glucani [3].

Însă, până în prezent, evidențierea și selecționarea tulpinilor de levuri autohtone, din diferite centre viti-vinicole ale Republicii Moldova, destinate producerii vinurilor albe seci de calitate nu a fost efectuată.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unei tulpini de levuri autohtone în centrul viti-vinicol Ialoveni cu proprietăți tehnologice avansate, în special cu capacitatea de a fermenta glucide la o aciditate activă sporită.

Esența invenției constă în aceea că se propune tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene cu numărul CNMN-Y-23, care poate fi utilizată la producerea vinurilor albe seci.

Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri locale cu proprietăți tehnologice avansate, în special cu capacitate de a fermenta glucide la o aciditate activă sporită a mustului.

Tulpina de levuri a fost izolată din must de struguri de soiul Aligote, la baza experimentală viti-vinicolă a Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare din orașul Chișinău prin metoda „Ansei epuizate” în a. 1998.

Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* evidențiată este depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene cu numărul de acces CNMN-Y-23 și, este recomandată, în special, pentru a fi utilizată în procesul de fermentare alcoolică la producerea vinurilor albe seci.

Caracterele morfologo-culturale ale tulpinii

Microorganismul este de tip eucariot, se înmulțește prin înmugurire vegetativă. Tulpina formează celule eliptice. Lățimea celulelor variază între 5,4...5,6  $\mu\text{m}$ , au lungimea de 6,75  $\mu\text{m}$  și o suprafață de 29,6  $\mu\text{m}^2$ . Celulele tinere sunt grupate câte două, nu formează miceliul autentic. Pe mediu lichid formează depozit nisipos tasat, nu formează peliculă sau inel. Pe mediu solid agarizat formează colonii rotunde cu suprafața netedă, lucioasă de culoare albă-crem.

Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii

Cultura crește în intervalul de temperatură de 10...38°C, o dezvoltare optimală a fost atinsă în intervalul termic de 18...28°C; coloniile apar peste 48...72 ore, pH optimal 2,8...3,4; rezistența sporită la concentrații sporite de SO<sub>2</sub> și aciditate activă.

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

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.

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 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 6,0 prin adaos de soluție alcalină de NaOH/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.

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 autoclavă timp de 30 min la 0,5 atmosfere. 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 atmosfere; 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.

În cazul când lipsește un mediu 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 agar-agarului în cantitate de 1...3%. Se sterilizează la fel ca și mediul natural.

Particularitățile genetice ale tulpinii acido-rezistente.

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-23.

**Exemplul 1**

Mustul din struguri de soiul Aligote, cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 187 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,8 g/l, pH – 3,2, a fost sulfitat până la 70 mg/l, limpezit la rece ( $t=10^{\circ}\text{C}$ ) 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 a fost utilizată tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neputogene cu numărul CNMN-Y-23. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Aligote a constituit 1% de la volumul mustului inițial, procesul de fermentare realizându-se la temperatura de 16...18°C. Procesul de fermentare alcoolică a mustului a fost 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 – 8,0. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-23 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

**Exemplul 2**

Mustul din struguri de soiul Aligote, cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 187 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,8 g/l, pH – 3,2, a fost sulfitat până la 70 mg/l, limpezit la rece ( $t=10^{\circ}\text{C}$ ) 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 *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-23. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Aligote a constituit 2% de la volumul mustului inițial, procesul de fermentare realizându-se la temperatura de 16...18°C. Procesul de fermentare alcoolică a mustului a fost caracterizat prin o fermentare moderată, 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 fină cu nuanțe pronunțate florale, gust proaspăt, armonios, extractiv, cu nuanțe florale în postgust. Nota organoleptică – 8,10. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-23 permite fabricarea vinului alb sec cu proprietăți tehnologice avansate la o aciditate activă sporită a mustului.

**Exemplul 3**

Mustul din struguri de soiul Aligote, cu parametrii inițiali: concentrația în masă a zaharurilor – 187 g/l, concentrația în masă a acidității titrabile – 7,8 g/l, pH – 3,2, a fost sulfitat până la 70 mg/l, limpezit la rece ( $t=10^{\circ}\text{C}$ ) 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 *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-23. Volumul soluției levurilor utilizate la fermentarea alcoolică a mustului Aligote a constituit 3% de la volumul mustului inițial, procesul de fermentare realizându-se la temperatura de 16...18°C. Procesul de fermentare alcoolică a mustului a fost caracterizat prin o fermentare intensă, cu 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 plin, armonios, bine echilibrat. Nota organoleptică – 7,95. În așa fel, utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-23 permite fabricarea vinului alb sec cu proprietăți tehnologice avansate la o aciditate activă sporită a mustului.