

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

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].

Mai este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, destinată industriei viticole, 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].

Însă, 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.

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

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.

Caracterele 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.

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.

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 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.

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±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; KH₂PO₄ – 3 g; MgSO₄·7H₂O – 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 psihrofile.

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°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°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°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°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.