

Invenția se referă la oenologie și biotehnologie, în particular la o tulpină de levuri autohtonă, izolată în centrul vitivinicol "Purcari" și recomandată pentru producerea vinurilor albe seci.

Sunt cunoscute tulpinile de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CECT 11774 și *Saccharomyces cerevisiae* CECT 11775 destinate industriei vinicole, care au fost izolate din microbiota nativă D.O. Wines of Madrid și depozitate în Colecția Spaniolă de Culturi Tip [1].

Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CECT 13030 destinată producerii diferitor băuturi alcoolice, care a fost izolată în Spania din microbiota nativă și depozitată în Colecția Spaniolă de Culturi Tip [2].

Mai este cunoscută sușa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 care sintetizează în cantități sporite  $\beta$ -glucani [3].

Este de asemenea cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces vini* CNMN-Y-26, izolată în plaiul vitivinicol Cricova (R. Moldova), pentru producerea vinurilor albe seci [4].

Însă, la momentul actual, izolarea și selectarea tulpinilor de levuri autohtone, în centrul vitivinicol "Purcari", destinate producerii vinurilor albe seci nu a fost cercetată.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unei tulpini de levuri autohtone cu proprietăți tehnologice avansate, în special cu capacitatea de a fermenta glucide la temperaturi joase, astfel, lărgind sortimentul acestora.

Invenția soluționează problema prin aceea că se propune tulpina de levuri autohtonă *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-32 pentru producerea vinurilor albe seci.

Tulpina de levuri a fost izolată din must de struguri de soiul Chardonnay în centrul vitivinicol "Purcari" prin metoda „Ansei epuizate” în anul 2016.

Caracterele morfologo-culturale ale tulpinii: Microorganismul este de tip eucariot, se înmulțește pe calea vegetativă prin înmugurire. Tulpina formează celule rotunde, scurt ovale. Lățimea celulelor variază între 5,0-5,3  $\mu\text{m}$  cu lungimea de 5,8  $\mu\text{m}$ , având o suprafață de 23,4  $\mu\text{m}^2$ . Celulele tinere sunt grupate câte patru, nu formează miceliul autentic. Pe mediu lichid formează depozit fin, tasat și nu formează peliculă sau inel. Pe mediu solid agarizat formează colonii rotunde cu suprafața plată, lucioasă de culoare alb-crem.

Particularitățile fiziologo-biochimice ale tulpinii: cultura crește în intervalul de temperatură 8-38°C, optimul de dezvoltare este cuprins în intervalul termic de 18-28°C; coloniile apar peste 48-72 ore, pH optimal 2,8-3,4; nu elimină  $\text{H}_2\text{S}$ , posedă competitivități tehnologice.

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

Produsul sintetizat de tulpină: alcool etilic, aminoacizi, glicerină, 2,3-butilenglicolă.

Parametrii productivi ai tulpinii: în mediul lichid natural (suc de struguri), după 72 ore de cultivare, tulpina formează circa 100-150 mln/ml celule.

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/dm<sup>3</sup>) 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 substanțelor nutritive.

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/KOH (1N). În mustul astfel pregătit se administrează autolizat de drojdie în concentrația 5-10 g/dm<sup>3</sup> și agar-agar 20-30 g/dm<sup>3</sup>.

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 autoclav timp de 30 min la presiunea 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: mediu de cultură se sterilizează în autoclav timp de 30 min la 0,5 atmosfere; se toarnă în cutii Petri sterile; după solidificare, sușa se cultivă pe acest mediu la temperatura de 28±1°C timp de 48-72 ore.

În cazul când lipsește mediul natural, se folosește mediu sintetic Hansen: glucoză sau maltoză

50 g; peptonă 10 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  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: psihrofilă

Tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* este izolată în cultură pură și depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neopatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul CNMN-Y-32.

Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri pentru producerea vinurilor albe seci, ce posedă capacități de fermentare a glucidelor la temperaturi joase, lărgind sortimentul de tulpini autohtone.

#### *Exemple de realizare a invenției:*

##### *Exemplul 1*

Mustul de struguri de soiul Chardonnay\* a fost sulfitat până la 75 mg/dm<sup>3</sup>  $\text{SO}_2$ , limpezit la rece ( $t = 10^\circ\text{C}$ ) în decurs de 18 ore 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, izolate în centrul vitivinicol "Purcari", *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-32. Volumul soluției de levuri utilizat 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. Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat

printr-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 printr-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 sușei de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-32 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

#### *Exemplul 2*

Mustul de struguri de soiul Chardonnay\* a fost sulfitat până la 75 mg/dm<sup>3</sup> SO<sub>2</sub>, limpezit la rece (t = 10°C) în decurs de 18 ore 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, izolate în centrul vitivinicol "Purcari", *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-32. Volumul soluției de levuri 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. Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat printr-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 printr-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 sușei de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-32 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

#### *Exemplul 3*

Mustul de struguri de soiul Chardonnay\* a fost sulfitat până la 75 mg/dm<sup>3</sup> SO<sub>2</sub>, limpezit la rece (t = 10°C) în decurs de 18 ore 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, izolate în centrul vitivinicol "Purcari", *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-32. Volumul soluției de levuri 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. Procesul de fermentare alcoolică a mustului s-a caracterizat printr-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 printr-o culoare pai-deschisă cu nuanțe verzui, aromă curată, cu nuanțe florale, gust curat, proaspăt, bine echilibrat, cu nuanțe florale în post gust. Nota organoleptică – 8,0. În așa fel, utilizarea sușei de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-32 permite fabricarea vinului alb sec de calitate înaltă.

\*Parametrii inițiali a strugurilor soiului Chardonnay: zaharuri 205 g/l, aciditate titrabilă 7,5 g/l, pH 3,15;