

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

Sunt cunoscute tulpini de levuri, destinate producerii diferitor băuturi alcoolice obținute prin fermentare alcoolică, în special a Vinurilor cu Denumire de Origine (VDO) din Madrid, Spania din genul *Saccharomyces cerevisiae*, care au fost evidențiate din microflora autohtonă provenită din regiunea care cuprinde arealele Arganda, Navalcameno and San Martin [1].

Mai sunt cunoscute tulpini de levuri pentru fermentarea secundară, din genul *Saccharomyces bayanus* și *Debaryomyces hansenii*, care sunt recomandate separat sau împreună în producerea vinurilor Malvasia delle Lipari.

Este cunoscută tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae*, care a fost evidențiată din microbiotă nativă (Madrid, Rioja Alavesa) pentru obținerea diferitor băuturi alcoolice [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 β -glucani [3].

Însă, până la momentul actual, evidențierea și selectarea tulpinilor de levuri autohtone, din diferite centre vinicole ale Republicii Moldova, destinate producerii vinurilor spumante albe nu a fost efectuată.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unei tulpini de levuri autohtone în centrul viti-vinicol ialoveni, în special cu capacitatea de a fermenta glucidele la concentrații moderate de alcool ($\approx 12\%$ vol.), pentru producerea vinurilor spumante albe de calitate înaltă.

Este propusă tulpina de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-24 pentru utilizare în producerea vinurilor spumante albe.

Rezultatul constă în selecționarea unei tulpini de levuri autohtone cu capacitatea de a fermenta glucide la concentrații moderate de alcool pentru producerea vinurilor spumante albe de calitate înaltă.

Tulpina de levuri autohtonă, *Saccharomyces cerevisiae*, a fost depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene cu numărul CNMN-Y-24 și este recomandată pentru a fi utilizată în procesul de fermentare alcoolică în procesul producerii vinurilor spumante albe seci aromate.

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

Caracterele morfologo-culturale ale tulpinii: microorganismul este de tip eucariot, se înmulțește pe cale vegetativă prin înmugurire. Tulpina formează celule rotunde. Lățimea celulelor variază între 5,1...5,3 μm cu lungimea de 6,15 μm , având o suprafață de 25,6 μm^2 . Celulele tinere sunt grupate câte două, nu formează miceliul autentic. Pe mediu lichid formează depozit nisipos, tasat și 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: crește în intervalul de temperatură 10...38°C, o dezvoltare optimă se atinge în intervalul termic de 18...28°C; coloniile apar peste 48...72 ore, pH optimal 2,8...3,4. Nu elimină H₂S, posedă rezistență sporită la concentrații înalte de SO₂ și aciditate activă.

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

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, sușa formează circa 100...150 mln celule /ml.

Metode de determinare a activității tulpinii: metode stabilite de Organizația Internațională al Viei și Vinului (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 lungă durată, 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 o soluție alcalină de NaOH sau 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 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, mediul de cultură se sterilizează în autoclavă timp de 30 min la 0,5 atm; 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 mediul sintetic Hansen, ce 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: rezistentă la alcool.

Exemple de realizare a invenției

Exemplul 1

Pentru stabilirea influenței tulpinii de levuri în procesul de fermentare secundară asupra calității vinurilor spumante a fost utilizat cupajul de vinuri materie primă pentru spumante tratate: Chardonnay – 40%, Pinot – 60%) Parametrii inițiali ai cupajului: concentrația alcoolului etilic – 11,2% vol., concentrația în masă a acidității titrabile – 6,2 g/l.

Procesul de fermentare secundară a fost efectuat în condițiile de microvinificație la IP Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare cu utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-24. Componenta amestecului de tiraj a fost următoarea: vin materie primă pentru spumante; zahar – 22 g/l; bentonită – 0,1 g/l; concentrația de levuri – 1 mln cel./l.

Procesul de fermentare secundară s-a realizat la temperatura de la 14 până la 16°C în decurs de 30 zile, după care probele experimentale de cuve, supuse proceselor de remuaj, refrigerare, au fost deschise pentru efectuarea analizei fizico-chimice și organoleptice.

Vinul spumant alb obținut se caracterizează printr-o culoare pai deschisă cu nuanțe verzui, limpede, spumare intensă de durată medie, perle fine, aromă curată, cu nuanțe florale, gust curat, plin, extractiv, armonios, bine impregnat, cu nuanțe florale în postgust. Nota organoleptică – 9,1. Așadar, utilizarea tulpinii de levuri CNMN-Y-24 permite fabricarea vinului spumant alb de calitate înaltă.

Exemplul 2

Pentru stabilirea influenței tulpinii de levuri în procesul de fermentare secundară asupra calității vinurilor spumante a fost utilizat cupajul de vinuri materie primă pentru spumante tratate: Aligote – 20%, Sauvignon – 20%, Pinot – 60%. Parametrii inițiali ai cupajului: concentrația alcoolului etilic – 10,8% vol., concentrația în masă a acidității titrabile – 6,4 g/l.

Procesul de fermentare secundară a fost efectuat în condițiile de microvinificație la Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare cu utilizarea tulpinii de levuri *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-24. Componenta amestecului de tiraj a fost următoarea: vin materie primă pentru spumante; zahar – 22g/l; bentonită – 0,1g/l; concentrația de levuri – 1 mln cel./l.

Procesul de fermentare secundară s-a realizat la temperatura de la 14 până la 16°C în decurs de 30 zile, după care probele experimentale de cuve, supuse proceselor de remuaj, refrigerare, au fost deschise pentru efectuarea analizei fizico-chimice și organoleptice.

Vinul spumant alb obținut se caracterizează printr-o culoare pai deschisă cu nuanțe verzui, limpede, spumare intensă de durată medie, perle fine, înel pe marginea pocalului, aromă curată, cu nuanțe florale, fină, gust curat, plin, rond, extractiv, echilibrat, bine impregnat. Nota organoleptică – 9,0. Așadar, utilizarea tulpinii de levuri CNMN-Y-24 permite fabricarea vinului spumant alb de calitate înaltă.