

## STUDIUL PROCESULUI DE FERMENTAȚIE ALCOOLICĂ CU UTILIZAREA LEVURILOR IMOBILIZATE

A. Scutaru, drd.

Universitatea Tehnică a Moldovei

### INTRODUCERE

În ultimul deceniu, un accent deosebit în industria agro-alimentară îndeosebi în vinificație, revine utilizării microorganismelor imobilizate. Aceste microorganisme au avantajul că pot fi foarte ușor introduse și scoase din vin sau must după biotransformarea totală sau parțială a substraturilor.

Una din tehnicile folosite curent pentru imobilizarea microorganismelor este includerea (incluziunea), sau încapsularea; această metodă constă în introducerea microorganismelor într-o matrice de polimeri rigizi fără scurgerea celulelor de suport [1].

Opririle proceselor de fermentare sau procesele de fermentare lentă sunt printre problemele principale care se pot întâlni în timpul vinificației, și deseori sunt cauzate de un bloc total sau parțial al consumului de zahăr de către drojdiile și de către producerea etanolului.

De obicei aceste cauze sunt generate de către deficitul nutrițional al mustului (azot, vitamine, oxigen și minerale), sau de prezența inhibitorilor în concentrații mari (nivelul zahărului inițial, acizi grași în lanț mediu, SO<sub>2</sub>, acid acetic, CO<sub>2</sub>), temperaturilor neadecvate, pH - ului prea slab, prezenței nedorite a microorganismelor și reziduurilor produselor toxice (pesticide, fungicide).

De la începutul utilizării lor și pînă în prezent drojdiile selecționate au fost și sunt folosite în scopul obținerii unor vinuri calitativ mai bune decât cele fermentate spontan. Un vin corect și sănătos se realizează cu drojdiile din genul *Saccharomyces*, cele mai frecvent folosite sunt speciile [5]:

*Saccharomyces ellipsoideus*, *Saccharomyces oviformis* și *Saccharomyces bayanus*. De curînd au început să se folosească și drojdiile selecționate din genul *Schizosaccharomyces* și anume din specia *Schizosaccharomyces pombe*.

De la început, de cînd se folosesc în vinificație, s-au preferat levurile selecționate din specia *Saccharomyces ellipsoideus*.

Operațiunea pentru drojdiile eliptice a fost și este justificată de faptul că acestea, comparativ cu drojdiile sălbatice, au o putere alcooligenă suficientă de mare, suportă concentrații de dioxid de sulf relativ ridicate, dau un randament ridicat în

alcool, pun rapid stăpînire pe mediu și conduc întotdeauna la realizarea unui vin corect și sănătos.

Prin drojdiile sălbatice se înțeleg celelalte drojdiile, prezente în mod natural pe strugure, care dau rezultate mai puțin satisfăcătoare la fermentarea mustului. Majoritatea drojdiilor sălbatice aparțin speciei *Kloeckera apiculata*, comparație cu *Saccharomyces ellipsoideus* formează mai multă aciditate volatilă și dă un randament mai scăzut în alcool [16].

În prezent este unanim recunoscut că folosirea drojdiilor selecționate din specia *Saccharomyces ellipsoideus* trebuie să fie considerată ca o măsură oenologică indispensabilă la vinificarea recoltelor avariate, a celor provenite din podgorii recent înființate, în care predomină drojdiile sălbatice, la cele rezultate din plantații care au primit numeroase tratamente cu fungicide și insecticide, precum și în procesul producerii vinurilor spumante [7].

Obținerea de vinuri seci din musturi bogate în zahăr necesită prezența în mediul de fermentare a drojdiilor din specia *Saccharomyces oviformis*. Avînd o putere alcooligenă superioară drojdiilor din specia *Saccharomyces ellipsoideus* pot fermenta zahărul dintr-un mediu care deja este bogat în alcool. La fermentația spontană, îndeosebi în prima parte, pînă ce gradul alcoolic n-a atins 10% vol. alcool, datorită competiției, este posibil ca numărul drojdiilor de *Saccharomyces oviformis* să se diminueze foarte mult, iar uneori acestea chiar dispar complet. Pentru a putea evita astfel de situații favorabile apariției diferitelor boli bacteriene, se recomandă folosirea drojdiilor selecționate din specia *Saccharomyces oviformis*.

Drojdiile responsabile de fermentația alcoolică, pe lîngă transformarea zahărului, produc și o descompunere parțială a acidului malic în produse neacide. Prin această degradarea, independentă de fermentația malolactică, 15-25% din cantitatea inițială de acid malic este transformată în alcool etilic și dioxid de carbon [8].

Drojdiile *Schizosaccharomyces*, prin natura particularităților lor fiziologice, pot degrada, în aceleași condiții, cantități mult mai mari, ajungînd pînă la 95% din acidul malic inițial. De aici s-a născut ideea folosirii lor la dezacidifierea recoltelor prea acide. Dintre speciile genului, s-a constatat că

Schizasaccharomyces pombe dă cele mai bune rezultate [2].

Degradând acidul malic drojdia poate diminua aciditatea fixă fără formare de acizi volatili. Deci, din acest punct de vedere, specia Schizasaccharomyces pombe are un rol deosebit la fermentația recoltelor acide, unde poate să înlocuiască fermentația malolactică [3].

## 1. LEVURI IMOBILIZATE

Imobilizarea celulelor a devenit o practică importantă în biotehnologiile ultimilor ani, ducând la creșterea performanței și a economicității proceselor fermentative.

Folosirea celulelor imobilizate asigură numeroase avantaje, cum ar fi:

- activitatea enzimatică se menține la cote înalte, conducând la viteze maxime de conversie a substanțelor;
- o stabilitate operațională bună;
- productivitate mărită;
- ușurință în manipularea preparatelor, în controlul și conducerea proceselor;
- economicitatea proceselor;
- posibilitatea reutilizării biocatalizatorilor;
- separarea ușoară a imobilizatorului de mediu de reacție [2].

Imobilizarea celulelor de *S. cerevisiae* stimulează biosinteza polizaharidelor și mananproteinelor peretelui celular. Imobilizarea are loc datorită reacției între grupările aldehidice ale substratului și aminogrupurile proteinelor disponibile ale suprafeței celulare. Faptul acesta duce la majorarea sintezei  $\beta$ -1,3-,  $\beta$ -1,6-gluconilor și mananproteinelor [13].

La alegerea materialelor pentru suport în cazul producerii biocatalizatorilor, trebuie luați în considerare o multitudine de factori:

- materialul trebuie să fie ușor accesibil și la un preț convenabil;
- procesul de imobilizare trebuie să fie simplu și să nu afecteze activitatea enzimatică a celulelor;
- capacitatea și eficiența celulelor imobilizate trebuie să fie mari;
- construcția reactorului trebuie să fie cât mai simplă.

La început, entraparea s-a realizat pe polimeri sintetici, ca poliacrilamida, accentul punându-se apoi pe polimeri naturali ca alginatul și carrageenanul.

Kapa – Carrageenan este o polizaharidă naturală extrasă din algele marine și este deseori folosită ca aditiv alimentar. Takata și colab. (1977) au fost

primii care au folosit carrageenan pentru imobilizarea celulelor. Sunt necesare temperaturi înalte, de 60...80°C pentru dizolvarea polimerului la concentrații ce variază de la 2 la 5 % în soluția salină de 0,9 % NaCl. Adăugarea soluției de celule la soluția sterilizată prin încălzire a polimerului are loc de la 40 la 45°C.

Gelatizarea are loc prin răcirea la temperatura camerei. Ionii de potasiu sunt folosiți în general pentru stabilizarea gelului și pentru a preveni umflarea sau pentru a induce gelatizarea.

Tasa și colab. (1979) au comparat influența diferitelor condiții de gelatizare asupra tăriei gelului. Ionii monovalenți de  $K^+$ ,  $Rb^+$ ,  $Cs^+$  și  $NH_4^+$  duc la obținerea de geluri mai puternice în comparație cu ionii bi sau trivalenți [4].

Membranele ca și picăturile pot fi preparate prin metoda picăturii sau prin tehnici de emulsifiere.

Metoda picăturii constă în adăugarea unui aditiv de picurare în suspensia celulă/polimer într-o soluție de KCl 2 % la temperatura camerei. Prin tehnicile de emulsifiere suspensia celulă/polimer este emulsifiată într-un ulei vegetal stabil într-un reactor termostatat [11].

Emulsia este apoi răcită la temperatura camerei, obținându-se picături la gelatificarea carrageenanului. Aceste picături sunt apoi recoltate în soluție de KCl după două ore. Uleiul este îndepărtat, iar picăturile sunt strecurate pentru a obține mărimea dorită ce poate varia între 250 micrometri și 4 mm. Această procedură a fost folosită cu succes pentru imobilizarea bacteriilor de acid lactic pentru fermentarea continuă.

Mattiason (1983) a subliniat faptul că activitatea și viabilitatea celulelor imobilizate în carrageenan sunt asemănătoare cu cele ale celulelor libere [3].

Gel de alginat de calciu. După procesare alginatul este disponibil sub formă de alginat de sodiu solubil în apă.

Alginatul de sodiu solubil în apă, în soluția de  $CaCl_2$  formează un gel de alginat de calciu.

Picăturile de alginat sunt formate prin metode de picurare sau emulsie.

O soluție de alginat de sodiu de 2-4% este sterilizată prin filtrare înainte de introducerea suspensiei de celule. Picăturile de gel sunt produse prin picurarea suspensiei de celule/polimer printr-un capilar.

Eliberarea ionilor de  $Ca^{2+}$  este inițiată de adăugarea unui acid organic solubil, cum este acidul acetic, reducând pH-ul alginatului de la 7,5 la aproximativ 6,5. După gelificare picăturile sunt spălate pentru îndepărtarea uleiului rezidual [10].

Amestecul polimer-celulă este trecut printr-un capilar, cu o viteză suficient de redusă pentru a preveni formarea unui jet, obținându-se astfel

picături ce cad într-o soluție de întărire sub acțiunea forței gravitaționale [11].

Diametrul picăturii este influențat în special de diametrul capilarului și de compoziția alginatului. Creșterea productivității prin această procedură se face prin folosirea unui număr mai mare de capilare.

Astfel, Vorlop și Klein au pus la punct un sistem cu 42 de ieșiri cu o capacitate de la 3 la 5 kg particule de catalizator produs pe oră (diametrul particulelor fiind de 3 mm) [14].

Utilizarea drojdiilor imobilizate poate avea rezultate foarte bune la obținerea vinurilor spumante, ușurând considerabil procesul tehnologic clasic.

Variantele noi de tirajare constau în:

- utilizarea drojdiilor selecționate incluse în bile de alginat;
- utilizarea drojdiilor selecționate incluse în cartușe Millispark [15].

### 1.1. Utilizarea drojdiilor selecționate incluse în bile de alginat

În acest caz, drojdiile sunt încapsulate într-o matrice a cărei porozitate permite schimburile nutritive între drojdii și mediul de fermentație.

Drojdiile incluse se prezintă sub forma unor bile cu un diametru de câțiva milimetri și au densitatea mai mare decât a vinului. Remuajul se realizează în câteva secunde, poziționând sticla cu gâtul în jos, ceea ce ne permite să colectăm aceste drojdii incluse în bile de alginat la nivelul gâtului sticlei. Nu rămâne decât să degorjăm butelia după sistemul ales. Astfel simplificată, operația de remuaj va permite rezolvarea principalelor probleme legate de această operație, care nu are decât un rol mecanic și nu influențează calitățile spumantelor obținute.

Unei soluții de alginat de sodiu 4%, sterilizată, i se adaugă o suspensie de celule de drojdie selecționate, amestecul fiind omogenizat. Picăturile de gel sunt produse prin picurarea suspensiei de celule-polimer printr-un capilar într-o soluție de clorură de calciu. Astfel, gelul este polimerizat sub forma unei sfere de câțiva milimetri diametru, numită în mod generic „bilă”.

Eliberarea ionilor de calciu  $Ca_2^+$  este inițiată de adăugarea unui acid organic cum este acidul acetic pentru obținerea unui pH de 6,5. Bilele obținute trebuie spălate pentru eliminarea ultimelor urme de clorură de calciu.

Drojdiile se regăsesc incluse în gel. Principalii parametri ce pot influența comportarea drojdiilor incluse și, în consecință, calitatea vinului spumant obținut, sunt: tipul alginatului, concentrația alginatului, drojdiile starter folosite, concentrația drojdiilor, calitatea operației de clătire a bilelor,

modul de conservare al bilelor, reactivarea drojdiilor incluse înainte de folosire.

Trebuie îndeplinite următoarele criterii:

- absența fenomenului de reeiberare, deoarece diferitele celule de drojdie pot scăpa din bile;
- determinând o creștere a turbidității;
- absența bilelor flotante. Bilele au o densitate mai mare decât vinul. Nu trebuie să existe bile plutitoare care nu se depun la nivelul gâtului sticlei înainte de degorjare;
- calitatea organoleptică și compoziția analitică foarte asemănătoare cu cea obținută prin
- utilizarea celulelor de drojdie libere;
- perfecta stabilitate proteică și tartrică a vinurilor spumante obținute;
- absența urmelor de alginat în vin, după degorjare [8].

Pentru eliminarea posibilității ca celulele de drojdie existente pe suprafața bilelor obținute să difuzeze în masa vinului după îmbuteliere și să determine creșteri ale turbidității, acestea sunt imersate într-o soluție de alginat de sodiu 4%, după ce în prealabil aceasta a fost sterilizată, și sunt trecute apoi într-o soluție de clorură de calciu. Se obțin astfel sfere cu dublu înveliș, eliminându-se posibilitatea de reeiberare a celulelor [7].

### 1.2. Utilizarea drojdiilor selecționate incluse în cartușe Millispark

Ca urmare a alcătuirii lor speciale, aceste cartușe asigură schimburile nutritive dintre drojdii și mediul de fermentație, iar ca urmare a modului specific de fixare pe gâtul interior al buteliei este posibilă eliminarea în totalitate a operației de remuaj, iar degorjarea se reduce la o simplă decapsulare a buteliei.

Într-o primă variantă, acest cartuș Millispark se prezintă sub forma unui mic cartuș cilindric de 12 mm diametru, la extremitatea căruia se află o „fustă” pentru închidere. Această fustă constituită din nervuri radiale elastice se adaptează perfect geometriei interioare a gâtului sticlei.

Corpul filtrant are un schelet cilindric cu foarte multe ochiuri legate între ele prin nervuri longitudinale, iar o membrană filtrantă hidrofîlă, avînd diametrul porilor de 0,65  $\mu$ m, este sudată pe porțiunea cilindrică. Un mic disc de membrană filtrantă hidrofobă este sudat de periferia corpului cilindric [9].

Cele două membrane înconjoară astfel corpul perforat al cartușului. Cartușul Millispark se instalează simplu în sticlă. După ce se umple cu drojdie, se astupă cu un mic dop adaptat acestui scop, după care sticla se capsulează cu o capsulă metalică [6].

Toți polimerii utilizați de Millipore în realizarea cartușului Millispark sunt inerti, atât din punct de vedere biologic cât și alimentar [12].

Într-o altă variantă, acest tip de cartuș Millispark ocupă practic același volum cu cel anterior prezentat, dar are o cu totul altă alcătuire. El se compune dintr-un mănunchi de bucle, alcătuit din fibre cu secțiune circulară. Fibrele sunt confecționate dintr-o membrană hidrofilă cu porozitatea de 0,65  $\mu\text{m}$  și sunt dispuse în formă de U, capetele fiind fixate într-un înveliș termoplastic.

Suprafața totală a acestor fibre din membrană hidrofilă ce formează mănunchiul este de 80  $\text{cm}^2$ , iar forma și poziția sa sunt protejate la exterior de un dispozitiv asemănător unui bușon ce prezintă margini de etanșare.

Capilarele sunt injectate cu celule de drojdii selecționate în cantitatea și la concentrația dorită. După introducerea amestecului de tiraj în butelie, cu menținerea camerei de fermentare, se introduce cartușul Millispark ce se fixează perfect pe gîtul sticlei prin intermediul marginilor de etanșare. Sticla este apoi asigurată prin încapsulare cu o capsă metalică.

Suprafața totală mare de schimb a membranelor hidrofile asigură o bună conversie, iar  $\text{CO}_2$  produs este evacuat ușor și continuu în masa vinului sub formă dizolvată. Construcția și funcționarea sunt asemănătoare bilelor de alginat ce îmbracă celulele de drojdii folosite la fermentarea secundară a vinului [5].

## 2. FERMENTAREA MUSTULUI CU CELULE DE LEVURI FIXATE ȘI IMOBILIZATE

Una din direcțiile de bază ale biotehnologiei moderne este imobilizarea celulelor levurilor și a bacteriilor ca factor de intensificare a proceselor biotehnologice de obținere a produselor în urma procesării strugurilor (băuturi slab alcoolice, vinuri de diferite tipuri).

Cunoscutul savant american H. Vitol (1971) a apreciat importanța direcției prioritare menționate astfel: „Tehnologia considerată acum cinci ani ca o neînțelegere de laborator, a devenit ceea ce poate fi numită realizarea cea mai importantă a tehnologiei în ultimul deceniu”.

Utilizarea microorganismelor fixate (prin absorbție sau adsorbție cu utilizarea forțelor Coulon sau Van-der-Waals) și imobilizate (legătura covalentă, includerea pe fibrele polare, biluțele, imobilizarea pe membrane sau în interiorul lor etc.) în vinificație sunt înalt apreciate în întreaga lume.

Proteinazele și pectinazele imobilizate pe suprafața levurilor reziduale din vin, tratate cu  $\text{TiCl}_4$  (Emeri, 1972) pentru prima dată au fost obținute în anul 1973 la INVV din Ialta „Magaraci” de către un grup de cercetători. Cu ele a fost efectuată limpezirea eficientă a vinurilor tari și de masă greu de prelucrat în alte condiții.

Mai târziu a fost propusă fixarea separată a levurilor *Schizosaccharomyces* într-un reactor cu diferiți suporturi (rumeguș de stejar și de fag, inele de ceramică și polietilenă etc), iar în altul *Schizosaccharomyces*. Rasa de levuri selecționată special în acest scop a fost utilizată cu succes la instalarea în reactorul principal pentru dezacidifierea continuă a mustului și vinului.

Bazele utilizării celulelor de levuri fixate în vinificația primară au fost elaborate și aplicate practic în Franța și Moldova, demonstrând eficiența înaltă a acestei metode. Cercetările utilizării levurilor fixate la șampanizarea vinurilor în rezervoare mari au devenit cunoscute în lume datorită lucrărilor cercetătorilor.

Capacitatea de restabilire a levurilor de vin fixate pe suport (sorbenți de fag, stejar, polietilenă etc.) a fost folosită la elaborarea tehnologiei principiale noi a obținerii vinului spumant natural.

S-a demonstrat că, pe suport se găsesc permanent celule de levuri în diferite stări tehnologice și activitate vitală, că concentrația microorganismelor imobilizate este mult mai mare decât a celor libere fluctuante.

Levurile autolitice îmbogățesc mediul cu enzime și substanțe biologice active, care permit intensificarea procesului de șampanizare și contribuie la îmbunătățirea calității acestor vinuri.

Un grup de cercetători au elaborat de asemenea o metodă nouă cu eficiență înaltă de heresare a vinurilor pe baza celulelor de levuri de heres fixate.

Soluții practice în utilizarea celulelor fixate de levuri și de bacterii malolactice pentru dezacidifierea vinurilor și pentru îmbunătățirea calității lor, a fost adusă de membru corespondent al A.Ș.M. Cozub Gh. (1979, 1981).

Bioreactorul cu celule fixate de levuri și bacterii este permanent alimentat cu culturi pure din maiale levuriene și bacteriene, ceea ce asigură dezacidifierea continuă de lungă durată a vinurilor datorită simbiozei microorganismelor în bioreactoare.

La Institutul Tehnologic al Industriei Alimentare din Moscova și Universitatea de Stat din Moscova au fost elaborate metode de fermentare a mustului cu celule de levuri imobilizate prin legătura covalentă cu ajutorul cloranhidridei acidului acrilic și metacrilic.

Îmbunătățirea calității vinului pe baza celulelor fixate pe titan poros a fost realizată la Universitatea Politehnică din Krasnodar.

Aceste lucrări au contribuit enorm la elaborarea teoriei și practicii catalizei eterogene pe baza celulelor de drojdii fixate. Crearea de către savanți a reactoarelor pe baza pectinazelor și proteinazelor imobilizate se utilizează pe larg la stabilizarea sucurilor, vinurilor și berii.

Metodele de imobilizare a celulelor cu utilizarea membranelor inclusiv și gelurilor, sunt eficiente în cazul când trebuie asigurată fermentarea cu o productivitate înaltă și obținerea produselor cu caracteristici prestabilite (slab alcoolice, aromate).

Imobilizarea poate servi drept bază și pentru utilizarea altor specii de microorganisme obținute prin ingineria genică, cu aplicații diverse în industrie.

Imobilizarea microorganismelor și levurilor continuă să fie un domeniu de studii intensive în Germania, Polonia, Bulgaria etc. Rezultate deosebite în utilizarea celulelor fixate de levuri și bacterii în ramurile industriei alimentare au fost obținute de asemenea în Japonia, SUA, Germania, Italia, Franța, Canada și alte țări.

Rezultatele deosebite ale cercetărilor asupra fermentării mustului de struguri, realizate la INVV și AȘP „Vierul” din Republica Moldova, constau în utilizarea metodei de activare a suportului inert de  $TiCl_4$  pentru imobilizarea celulelor de levuri.

În calitate de purtător s-au utilizat titanul poros, aerosil, silicagel, silocrom, diatomită și bentonită spălată, preparatul AK și altele. S-au utilizat culturi pure de levuri cu fenotip Killer, Chișinău – 340, Chișinău – 339, Rara neagră, Romanesti (Moldova), Kl Marque (Franța), și alte culturi cu fenotip „neutru”.

În experimente separate au fost imobilizate celulele bacteriilor malolactice *Leuconostoc oenos*. Celulele au fost imobilizate după metoda elaborată de un grup de colaboratori biotehnologi prin procedeul de incubație a suportului activ și cu maiaua de culturi de levuri pure. Folosind concentrațiile optime ale suportului de la 0,5 – 1,00 la 1,5 – 3,0 g celule de levuri umede (după centrifugarea lor), se obțin 85 – 95% microorganisme imobilizate, rezistente, ce nu pot fi spălate (cu 1M NaCl sau cu vinuri seci și tari). După divizarea sau înmugurirea celulei imobilizate, celula tânără se fixează ușor pe suprafața suportului prin următoarele legături:

- libere de Ti;
- interacțiunea culonică electrostatică între suport și membrana celulară a microorganismelor;

- interacțiunea Van der Waals dintre suport – celulă.

Practic în primele 14 zile de fermentare de la 40 la 80 % celulele înmugurite se fixează pe suporturi, pe celulele autolitice sau imobilizate.

Concentrația inițială a celulelor imobilizate în vin, precum și a celor libere constituie 2 % din volumul mustului. Comparativ cu cele libere, fluctuante, levurile imobilizate pe suporturi tari, fermentează mustul mai lin și nu se înregistrează variații brusce ale temperaturii și ale degajării  $CO_2$ , în condiții analogice în reactorul cu amestec preparatul nu se precipită, nu formează sediment lipicios, ceea ce se manifestă pozitiv asupra cineticii generale a fermentării zaharurilor și autolizei levurilor.

Cea mai practică și ieftină metodă de fermentare a mustului cu celule imobilizate de microorganisme s-a dovedit a fi cea prin adaos și flux-adaos pentru anumite condiții ale catalizei heterogene a fermentării alcoolice.

De perspectivă s-au dovedit preparatele cu celule de levuri de vin imobilizate AK,  $TiCl_4$  pe care s-a fixat celula viabilă în instalația continuă pentru fermentarea mustului. Această tehnologie prevede întoarcerea biomasei levurilor după un ciclu închis din rezervorul final în cel inițial.

Realizarea acestei idei a permis mai întâi de toate implementarea fermentării alcoolice dirijate, pe o anumită cultură de levuri și cu parametri monitorizați ai procesului.

Prezintă interes realizarea metodei de fermentare a mustului cu amestec de levuri *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces* și bacterii malolactice în același reactor. Au fost utilizate cu succes celulele fixate ale microorganismelor, ale levurilor *Schizosaccharomyces* (dezacidifierea biologică a mustului, vinului), și a levurilor *Saccharomyces* (fermentare alcoolică). Trebuie menționată și eficiența înaltă a fermentării realizată cu bacterii malolactice fixate pe sorbenți.

Cea mai perspectivă, ieftină și practică este metoda utilizării celulelor microorganismelor fixate sau imobilizate pe suporturi insolubili supuși unor cerințe rigide ca: rezistența în vin și suc, rezistența mecanico – fizică în timpul amestecului, prezența suprafeței de absorbție bine dezvoltate, accesibilitatea și prețul redus, acceptarea utilizării de către legislație.

Se cunoaște o metodă, care descrie incluziunea celulelor în geluri; fibre membrane, structuri polimerice și altele, dar luând în considerare prețul excesiv al acestor suporturi, complicate de obținut, rezistență mică la acțiunile microflorei mustului sau vinului, utilizarea ei se proliferază limitată. Adicional, este problematic de obținut permisiunea Ministerului Sănătății la utilizarea lor în industria

vinului și sucurilor din considerente igienice generale.

În prezent, când întreprinderile de vinificație și de producere a sucurilor din țară sunt bine aprovizionate cu sorbenți, instalații frigorifice și centrifugi, se creează toate posibilitățile pentru aplicarea cu succes a celulelor microorganismelor imobilizate la fermentarea mustului limpezit și a vinurilor brute tinere. Aplicarea largă a acestor metode biotehnologice asigură astăzi baza producerii băuturilor și vinurilor de toate tipurile de calitate înaltă și cu competitivitate sporită [9].

## CONCLUZII

Imobilizarea celulelor a devenit o practică importantă în biotehnologiile ultimilor ani ducând la creșterea performanței și economicității proceselor fermentative.

Utilizarea microorganismelor fixate și imobilizate în vinificație sunt înalt apreciate în întreaga lume de aceea pentru sporirea performanței industriei vinicole în Republica Moldova s-au făcut cercetări pentru creșterea biomasei levurilor pure.

Desfășurarea procesului de fermentație alcoolică cu levuri imobilizate permite acumularea biomasei de levuri pure.

## Bibliografie

1. **Anghel, I., Toma, M., Voica, C., Cojocaru, I.** *Biologia și tehnologia drojdiilor. Vol. I, București: Ed. Tehnică, 1989.*
2. **Bertuccioli, M., Rosi, I., Costamagna, L.** *Recent progress in the use of immobilized yeasts on wine fermentation, in Proceedings of the Second International Cool Climate and Oenology Symposium, New Zealand Society for Viticulture and Oenology, Auckland, New Zealand, 1988.*
3. **Busova, K., Magyar, I., Janky, F.** *Effect of immobilized yeasts on the quality of bottlefermented sparkling wine, Acta Alimentaria, 1994.*
4. **Clemansa, T.** *Microbiologie alimentară. București: Agir, 2004. 296 p.*
5. **Coulon, P., Duteurtre, B., Charpentier, M., Parenthoen, A.** *Nouvelles perspectives dans la methode champenoise: Utilisation de levures incluses lors du tirage. Le Vigneron Champenois, 1983.*
6. **Duteurtre, B., Charpentier, P., Ors, P., Hennequin, D.** *Les levures incluses pour la prise de mousse: historique et fabrication des billes, Conferences de l'Association des Techniciens Superieurs en Viticulture et Oenologie, 1990.*

7. **Duteurtre, B., Charpentier, P., Ors, P., Hennequin, D.** *The use of immobilized yeast in the champagne making process. Agro Food Industry Hi-Tech, 1992.*

8. **Găina, B.** *Biotehnologii ecologice viti – vinicole. Monografie. Chișinău, 2007. 264 p.*

9. **Jirku, V., Masak, J., Cejkova, A.** *Yeast cell attachment: A tool modulating wall composition and resistance to 5bromo-6azauracil. In: Enz. and Microb. Technol., 2000.*

10. **Ribereau-Gayon, P. și colab.** *Handbook of Enology: The Microbiology of Wine and Vinifications, Vol. 1. British Library Catalogue, 2006.*

11. **Sîrghi, C., Zironi, R.** *Aspecte inovative ale enologiei moderne. Chișinău: Sigma, 1994. 261 p. 22.*

12. **Țirdea, C., Sîrbu, Gh., Țirdea, A.** *Tratat de vinificație. Iași: Ion Ionescu de la Brad, 2000. 728 p.*

13. **Zarnea, Gh.** *Tratat de microbiologie generală. Vol.V, București: Ed. Academiei Române, 1994.*

14. **Arkad'eva Z. A. i dr.** *Promyshlennaya mikrobiologiya: Uchebnoe posobie dlya VUZov po specz.: "Mikrobiologiya" i „Biotexnologiya”. M.: Vyssh. Shk., 1989. 688s..*

15. **Bur'an N.I.** *Prakticheskaya mikrobiologiya vinodeliya. Simferopol': Tavrida, 2003. 560s.*

16. **Saroshvili N.G., Rejtlat B.B.** *Mikrobiologicheskie osnovy texnologii shampanzaczii vina. Moskva: Pishhepromiudat, 2000. 365s.*