



CZU: 663.2:663.125:663.131

EVIDENȚIEREA ȘI SELECTAREA TULPINILOR DE LEVURI CU ÎNSUȘIRI TEHNOLOGICE AVANSATE DIN PLAIUL VITIVINICOL „PURCARI” PENTRU PRODUCEREA VINURILOR ALBE ȘI ROȘII CU TIPICITATE LOCALĂ

Nicolae TARAN, dr. hab., prof. univ., Olga SOLDATENCO, dr., conf. cercet.; Victor BOSTAN, director general „Vinăria Purcari”, Nicolae CHIOSA, șef departament Oenologie „Vinăria Purcari”, masterand UTM

ABSTRACT. Wine fermentation was traditionally carried out by indigenous yeasts associated with grapes and cellar equipment. Today majority of wine production is based on use of active dried yeast which ensures rapid and reliable fermentation and reduces the risk of sluggish or stuck fermentation and microbial contamination. Most commercial wine yeast strains available today have been selected in the vineyard for oenological traits. The selection of yeasts for winemaking consists of identifying specific cultures, mainly *Saccharomyces*, which can ferment grape juice effectively and can produce good quality wines.

In this paper isolation and selection of local yeast strains from the vineyard Purcari was presented.

KEYWORDS: grape must, local yeast, white and red wines, allocation, isolation, quality.

INTRODUCERE

O importanță deosebită în domeniul biotehnologiei și microbiologiei vinului o constituie sistematizarea morfologico-culturală a tulpinilor de levuri locale, care asigură păstrarea pentru industria vinicolă a culturilor cu o activitate înaltă, obținute prin selectarea și conservarea genofondului microbial autohton.

În vinificația Republicii Moldova, în ultimul timp, la fermentarea mustului se folosesc pe larg levurile active uscate (LAU) produse în diferite țări din Europa: Franța, Elveția, Italia, Germania etc. Costul înalt al LAU de import (40–90 €), care duce la creșterea sinecostului producției finite și în unele cazuri nu sunt accesibile

pentru majoritatea producătorilor de vinuri, problemele existente în limpezirea mustului și slaba acomodare a levurilor străine la condițiile de fabrică, precum și obținerea în unele cazuri a nuanțelor străine după fermentarea mustului, impune necesitatea utilizării levurilor autohtone.

Înainte de selectarea levurilor autohtone este necesar de evidențiat diferite microorganisme prezente în must, de identificat specia și de ales tulpina cea mai potrivită în baza unor criterii stabilite în oenologie [1].

Levurile responsabile pentru fermentarea alcoolică în vinificație, de obicei pătrund în must de pe suprafața strugurilor, echipamentului utilizat sau prin administrarea directă a levurilor specifice [2, 3]. Procesul de fermentare poate fi dirijat și natural: fără inocularea levurilor selecționate și prin administrarea în must a maielei de levuri selecționate sau a levurilor comerciale – levuri active uscate (LAU) de import [4, 5]. În prezent LAU sunt răspândite în multe țări, prin utilizarea cărora se obțin rezultate excelente [2]. Se menționează că un vin mai calitativ se obține atunci când este fermentat cu utilizarea levurilor locale [2, 6].

În ultimul timp, a crescut interesul față de utilizarea tulpinilor de levuri locale izolate din mustul fermentat, care dețin anumite caracteristici metabolice specifice și pot influența pozitiv calitatea produsului finit. Cu toate că multe levuri comerciale sunt folosite pentru fermentarea mustului, se consideră că utilizarea levurilor locale va fi mai eficientă, deoarece ele posedă un potențial dominant în procesul de fermentare în vinificație. În plus, utilizarea levurilor locale trebuie să asigure obținerea proprietăților senzoriale tipice și specifice pentru vinurile fabricate în anumite centre vitivinicole.

Diversitatea levurilor din vin este o sursă favorabilă pentru selectarea tulpinilor noi, care domină în timpul procesului de fermentație și evaluează caracteristicile organoleptice ale vinurilor [7].

În timp ce unele tulpini de levuri sunt destul de fiabile în procesul de fermentare, altele greu se adaptează la condițiile mediului și au o activitate fermentativă mai redusă sau sunt predispuse de a se inactiva înainte de fermentarea completă a zaharurilor, iar ca rezultat contribuie la diminuarea calității vinurilor și apariția riscurilor de alterare microbiologică a vinurilor finite.

În acest context, o sarcină importantă în domeniul microbiologiei vinului este obținerea levurilor autohtone din anumite centre vitivinicole, cu însușiri tehnologice valoroase, ușor adaptabile la mediul dat, ce fermentează total glucidele din must pentru a obține vinuri albe și roșii seci cu calitate organoleptice înalte, în vederea garantării autenticității vinurilor de proveniență, precum și depozitarea în Colecția Ramurală de Microorganisme pentru Industria Oenologică.

Scopul abordat în acest studiu constă în evidențierea și selectarea tulpinilor de levuri locale pentru utilizarea lor la fabricarea vinurilor albe și roșii seci în plaiul vitivinicol „Purcari”



MATERIALE ȘI METODE

Cercetările au fost efectuate în laboratorul „Biotehnologii și microbiologia vinului” al Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare.

În calitate de obiecte de cercetare au fost utilizate:

- struguri și must din soiuri de struguri albe (Chardonnay, Fetească albă) și roșii (Cabernet-Sauvignon, Rară neagră) recoltați din plaiul vitivinicol „Purcari”;
- tulpini noi izolate din plaiul vitivinicol „Purcari”.

Studiul microbiologic (microscoparea, însămânțarea pe medii nutritive, acumularea biomasei levuriene etc.) a fost efectuat conform instrucțiunii controlului microbiologic al producției vinicole în vigoare (IC MD 67-42582515-001:2010), rezoluției OIV (OENO-MICRO 08-370, versiunea 10/2011) și surselor bibliografice microbiologice existente în oenologie.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În scopul izolării și selectării tulpinilor de levuri locale din plaiul vitivinicol „Purcari” au fost efectuate cercetări de obținere a culturilor pure de pe boabele de struguri și din mustul de struguri de soiuri albe (Fetească albă, Chardonnay) și soiuri roșii (Rară neagră, Cabernet-Sauvignon). Pentru realizarea cercetărilor la această etapă a fost utilizată schema de izolare redată în figura 1 și etapele de cercetare expuse în tabelul 1.

Probele de struguri au fost prelevate din plantațiile viticole ale „Vinăriei Purcari” (s. Purcari, m. Ștefan-Vodă), în sezonul de vinificație (luna septembrie–noiembrie, a. 2016);

- mustul din soiul Fetească albă s-a caracterizat prin următorii indici inițiali: concentrația zaharurilor – 194 g/dm³, aciditatea titrabilă – 4,9 g/dm³;
- mustul din soiul Chardonnay s-a caracterizat prin următorii indici inițiali: concentrația zaharurilor – 202 g/dm³, aciditatea titrabilă – 7,7 g/dm³;
- mustul din soiul Rară neagră s-a caracterizat

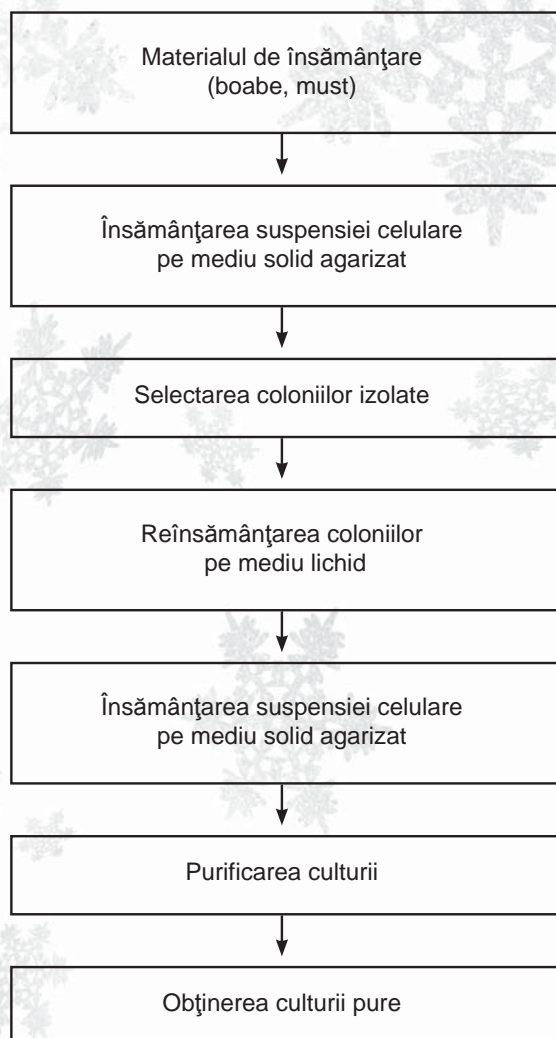


Fig. 1. Schema de izolare a tulpinilor de levuri

Etapele și condițiile de cercetare pentru izolarea celulelor de levuri

Tabelul 1

Materialul biologic din care s-a realizat recoltarea	Specificația	Momentul izolării
Boabe	Momentul recoltării: - măturitate tehnologică	Spălare: τ-4 min. τ-8 min.
Must	Conținut în zaharuri: 190–200 g/dm ³ (soiuri albe) 210–220 g/dm ³ (soiuri roșii) Doze de sulf aplicate: - Must nesulfitat } Soiuri albe - 75 mg/dm ³ - 150 mg/dm ³ - Must nesulfitat } Soiuri roșii - 60 mg/dm ³ - 120 mg/dm ³	Începutul fermentației Fermentația tumultuoasă Sfârșitul fermentației

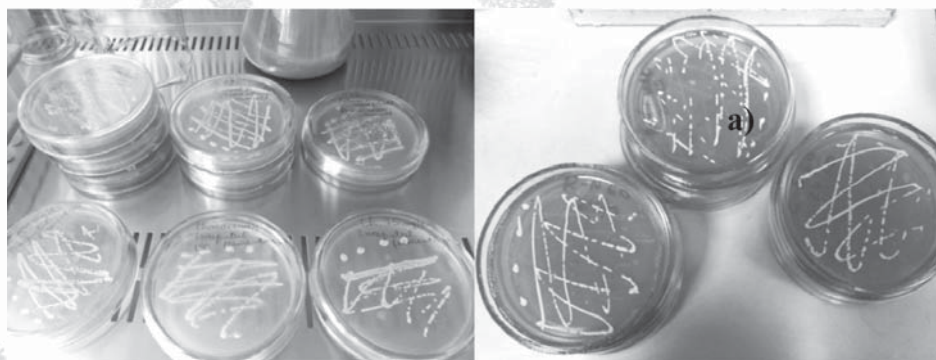


Fig. 2. Însămânțarea prin metoda „ansei epuizate” pentru obținerea culturilor pure

prin următorii indici inițiali: concentrația zaharurilor – 207 g/dm³, aciditatea titrabilă – 5,7 g/dm³;

– mustul din soiul Cabernet-Sauvignon s-a caracterizat prin următorii indici inițiali: concentrația zaharurilor – 220 g/dm³, aciditatea titrabilă – 6,2 g/dm³.

Pentru realizarea izolării celulelor de levuri din must au fost folosite etapele de cercetare expuse în tabelul 1.

Izolarea celulelor de levuri autohtone s-a realizat pornind de la o singură celulă, utilizându-se metoda di-

luțiilor succesive și metoda izolării în cultură pură prin tehnica epuizării ansei prin metoda sectoarelor. Din clasa *Ascomycotina* au fost izolate 64 de tulpini (34 din soiuri albe, 30 din soiuri roșii).

Pentru obținerea culturilor pure de levuri și evidențierea proprietăților calitative, mostrele studiate au fost supuse procedurii de reînsămânțare cu utilizarea metodei „ansei epuizate” (fig. 2).

În scopul stabilirii purității celulelor levurilor izolate,

a fost efectuată microscoparea culturilor cercetate cu ajutorul microscopului „Meopta” (Cehia), utilizând programa specială TUCSEN și video camera Scinelab TCA-8.0 color. Pentru aceasta, tulpinile de levuri au fost incubate preventiv timp de 3 zile pe mediu nutritiv (must de struguri) la temperatura de 28 °C.

Rezultatele obținute prin metoda de microscopare au fost confirmate și completate cu fotografiile, care sunt prezentate în figurile 3, 4.

În scopul argumentării apartenenței tulpinilor de levuri studiate conform criteriilor de identificare taxonomică după Kudreavțev, s-a demonstrat că din 64 de culturi izolate numai 31 de tulpini de levuri aparțin genului *Saccharomyces*.

Levurile de fermentare din genul *Saccharomyces* au forma celulei rotundă sau elipsoidală, în timp ce microorganismele din genul *Torulopsis* au o formă sferică, iar forma de lamâie sau cilindrică este caracteristică

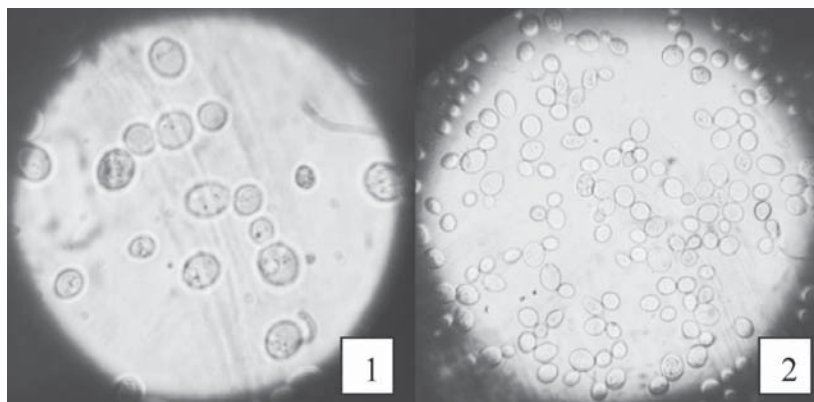


Fig. 3. Microscoparea tulpinilor de levuri izolate din must nesulfitat Fetească albă (1 – varianta 1, 2 – varianta 6)

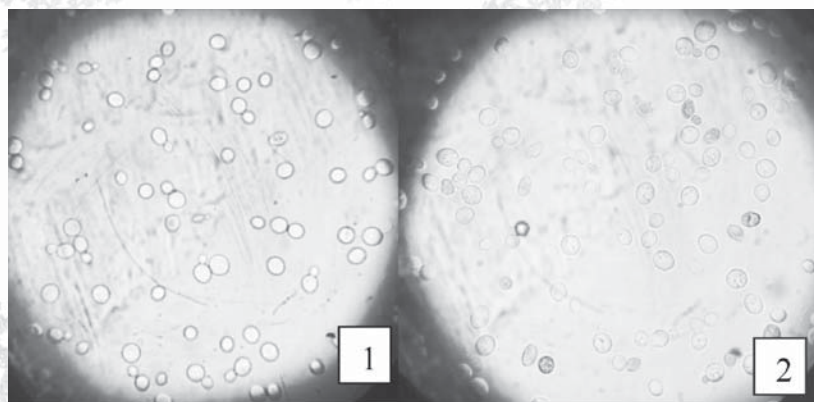


Fig. 4. Microscoparea tulpinilor de levuri izolate din must sulfat SO₂ – 120 mg/dm³ Rară neagră (1 – varianta 4, 2 – varianta 5)



pentru microorganismele din genurile *Hanseniaspora*, *Kloeckera*.

De asemenea, a fost stabilit că levurile studiate nu formează micelii reale și toate se înmulțesc pe cale vegetativă, prin înmugurire multilaterală și sexuat, prin spori, ceea ce confirmă că aceste tulpini aparțin genului *Saccharomyces*.

CONCLUZII

În perioada de cercetare (anii 2016–2017) au fost izolate 64 de tulpini de levuri: 34 de tulpini din soiurile albe și 30 din soiurile roșii, din plantațiile cu soiuri de struguri Chardonnay, Fetească albă, Rară neagră și Cabernet-Sauvignon, care se referă la plaiul vitivinicol „Purcari”. În urma microscopării, examinând toate tulpinile izolate conform cerințelor microbiologice, au fost selectate 31 de culturi pentru studii suplimentare tehnologice (15 din soiuri albe și 16 din soiuri roșii).

Microscoparea levurilor a permis să constatăm că celulele studiate se află în stare de înmugurire, dar se deosebesc prin formă și dimensiuni. La fel, tulpinile de levuri izolate din plaiul vitivinicol „Purcari” sunt de tip eucariot, în care se disting bine componentele microscopice celulare.

Tulpinile de levuri izolate sunt apreciate ca un material biologic valoros, recomandabile în perspectivă în practica vinicolă, acestea contribuind la obținerea unor vinuri de calitate ce reflectă personalitatea și potențialul soiurilor specifice plaiului „Purcari”.

BIBLIOGRAFIE



1. Redagon A.J., Perez F., Valades M.E. et al. A simple and effective procedure for selection of wine yeast strains. In: Food Microbiology, 1997, No 14, p. 247–254.
2. Rainieri S., Pretorius I.S. Selection and improvement of wine yeasts. In: Annals of Microbiology, 2000, No 50, p. 15–31.
3. Fleet G.H., Heard G.M. Yeast growth during Fermentation. In: Fleet G.H., Ed., Wine Microbiology and Biotechnology. Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland, 1993, p. 27–55.
4. Ciani M. Role, enological properties and potential use of non – *Saccharomyces* wine yeast. In: Recent Res. Dev. Microbiol., 1997, No 1, p. 317–331.
5. Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F. et al. Principles and practices of winemaking. In: Chapman and Hall, New York, 1996, p. 603.
6. Heard G.M., Fleet G.H. Growth of natural yeast flora during fermentation of inoculated wines. In: Appl. Environ. Microbiol., 1985, No 50, p. 727–728.
7. Egli C.M., Edinger W.D., Mitrakul C.M., Henick-Kling T. Dynamics indigenous and inoculated yeast populations and their effect on the sensory character of Riesling and Chardonnay wines. In: J. Appl. Microbiol., 1998, No 85, p.779–789.

RECENZIE ȘTIINȚIFICĂ – *Eugenia Soldatenco, doctor habilitat în tehnică.*

Materialul a fost prezentat la 09.10.2017.