

**UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI**

Cu titlul de manuscris  
CZU 663.252.4(478)

**NAZARIA ALIONA**

**PROCESUL DE FERMENTAȚIE COMBINATĂ A MUSTULUI  
DE STRUGURI LA PRODUCEREA VINURILOR ALBE**

**253.03 - TEHNOLOGIA BĂUTURILOR ALCOOLICE ȘI NEALCOOLICE**

**Teză de doctor în științe tehnice**

**Conducător științific:**

**Balanuță Anatol  
dr., prof. univ.**

**Autor:**

**Nazaria Aliona**

**CHIȘINĂU 2017**

**©NAZARIA ALIONA, 2017**

## CUPRINS

<b>ADNOTARE .....</b>	<b>6</b>
<b>LISTA ABREVIERILOR.....</b>	<b>9</b>
<b>INTRODUCERE .....</b>	<b>10</b>
<b>1. PROCESUL DE FERMENTAȚIE ALCOOLICĂ LA PRODUCEREA VINURILOR ALBE .....</b>	<b>14</b>
<i>1.1. Tehnologiile existente la producerea vinurilor albe.....</i>	<i>14</i>
1.1.1. Tehnologiile utilizate la producerea vinurilor albe seci.....	16
1.1.2. Tehnologiile utilizate la producerea vinurilor din struguri supracopți. ....	18
1.1.3. Tehnologiile utilizate la producerea vinurilor seci cu conținut corectat de alcool. ....	21
<i>1.2. Procesul de degradare a hexozelor.....</i>	<i>23</i>
<i>1.3. Utilizarea sușelor de levuri la fermentația mustului.....</i>	<i>27</i>
<i>1.4. Metodele de declanșare a fermentării alcoolice a mustului. ....</i>	<i>29</i>
<i>1.6. Fermentația alcoolică cu utilizarea levurilor imobilizate. ....</i>	<i>31</i>
1.6.1. Aspecte privind utilizarea celulelor de levurile imobilizate. ....	33
1.6.2. Metode de imobilizare a levurilor.....	35
1.6.3. Fermentația mustului cu celule de levuri fixate și imobilizate. ....	37
<i>1.7. Concluzii la capitolul 1. ....</i>	<i>39</i>
<b>2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE .....</b>	<b>40</b>
2.1. <i>Obiectul de cercetare .....</i>	<i>40</i>
2.2. <i>Metodica efectuării cercetărilor științifice .....</i>	<i>41</i>
2.3. <i>Materiale și metode de analiză .....</i>	<i>43</i>
2.3.1. Determinarea indicilor fizico-chimici de bază în struguri, must și vinuri materie primă. .....	43
2.3.2. Analiza senzorială a vinurilor. ....	44
2.3.3. Identificarea levurilor și mucegaiurilor cu PIKA Weihenstephan™ FastOrange™ Yeast Agar. ....	44
2.3.4. Determinarea aminelor biogene prin metoda HPLC. ....	45
2.3.5. Determinarea acizilor organici prin metoda HPLC. ....	45
2.3.6. Determinarea glicerolului prin metoda enzimatică. ....	46
2.3.7. Determinarea aldehidei acetice.....	46
2.3.8. Prelucrarea statistică și matematică a datelor experimentale. ....	47
2.4. <i>Concluzii la capitolul 2. ....</i>	<i>48</i>

<b>3. PROCESUL DE FERMENTAȚIE COMBINATĂ A MUSTULUI LA PRODUCEREA VINURILOR ALBE.....</b>	<b>49</b>
3.1. <i>Factorii fizico – chimici ce influențează acumularea biomasei de levuri.....</i>	49
3.1.1. Acumularea biomasei de levuri imobilizate în dependență de temperatura de fermentare a mustului.....	50
3.1.2. Evidențierea relației dintre concentrația în masă a zaharurilor în must și acumularea biomasei de levuri imobilizate. ....	52
3.1.3. Acumularea biomasei de levuri imobilizate în dependență de suprafața imobilizatorului. ....	54
3.1.4. Influența oxigenului asupra acumulării biomasei de levuri imobilizate. ....	55
3.1.5. Prelucrarea matematică a rezultatelor experimentale. ....	57
3.2. <i>Studiul procedurii de obținere a biomasei de levuri uscate active la fermentația alcoolică a mustului. ....</i>	60
3.2.1. Obținerea biomasei de levuri uscate active în condiții de laborator. ....	60
3.2.2. Obținerea biomasei de levuri uscate active în condiții industriale. ....	63
3.3. <i>Procesul de fermentație combinată a mustului la producerea vinurilor albe seci. ....</i>	70
3.4. <i>Procesul de fermentație combinată a mustului la producerea vinurilor albe din struguri supracopți.....</i>	79
3.4.1. Analiza comparativă a fermentației combinate a mustului cu utilizarea diferitor sușe de levuri la producerea vinurilor albe din struguri supracopți.....	79
3.4.2. Analiza fizico-chimică și organoleptică a vinurilor albe din struguri supracopți obținute cu utilizarea diferitor levuri. ....	84
3.5. <i>Concluzii la capitolul 3. ....</i>	87
<b>4. ELABORAREA REGIMURILOR TEHNOLOGICE DE PRODUCERE ALE VINURILOR MATERIE PRIMĂ CU CONȚINUT CORECTAT DE ALCOOL .....</b>	<b>88</b>
4.1. <i>Procesul de fermentație combinată a mustului la producerea vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool.....</i>	88
4.1.1. Analiza comparativă a fermentației combinate a mustului cu utilizarea diferitor sușe de levuri la producerea vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool.....	88
4.1.2. Analiza fizico-chimică și organoleptică a vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool obținute la fermentația mustului cu diferite levuri.....	90
4.2. <i>Elaborarea tehnologiei de producere a vinurilor albe cu conținut corectat de alcool prin fermentație combinată.....</i>	96
4.3. <i>Compararea tehnologiilor de obținere a vinurilor cu conținut corectat de alcool. ....</i>	102

4.4. Concluzii la capitolul 4.....	104
<b>CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI .....</b>	<b>105</b>
<b>BIBLIOGRAFIE .....</b>	<b>107</b>
<b>Anexe .....</b>	<b>120</b>
<i>Anexa 1. Participare la conferință internațională Modern Technology in the Food Industry 2016</i> .....	121
<i>Anexa 2. Participare la conferință internațională Modern Technology in the Food Industry 2014</i> .....	122
<i>Anexa 3. Participare la conferință internațională Modern Technology in the Food Industry 2012</i> .....	123
<i>Anexa 4. Cerere de brevet de invenție nr. 5879 din 27.10.2014.....</i>	124
<i>Anexa 5. Cerere de brevet de invenție nr. 5884 din 13.11.2014.....</i>	126
<i>Anexa 6. Acte de implementare a lotului experimental de vin alb sec produs cu levuri immobilizate conform tehnologiei propuse.....</i>	128
<i>Anexa 7. Acte de implementare a lotului experimental de vin alb sec cu conținut corectat de alcool produs cu levuri immobilizate conform tehnologiei propuse.....</i>	129
<i>Anexa 8. Acte de implementare a lotului experimental de vin alb din struguri supracopți produs cu levuri immobilizate conform tehnologiei propuse.....</i>	130
<i>Anexa 9. Act de prelevare a probelor. ....</i>	131
<i>Anexa 10. Calculul eficienței economice anuale al implementării tehnologiei propuse. ....</i>	132
<b>DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII .....</b>	<b>133</b>
<b>CURRICULUM VITAE .....</b>	<b>134</b>

## ADNOTARE

**Nazaria Aliona „Procesul de fermentație combinată a mustului de struguri la producerea vinurilor albe”**, teză de doctor în științe tehnice, Chișinău 2017. Teza de doctor constă din: introducere, 4 capitole, concluzii generale și recomandări, surse bibliografice ce conține 181 titluri, 10 anexe și cuprinde 106 pagini de conținut de bază cu 50 figuri și 18 tabele. Rezultatele științifice obținute au fost expuse în 16 publicații.

**Cuvinte cheie:** levuri uscate active, regenerare, imobilizare, fermentație alcoolică combinată.

**Domeniul de studiu:** 253.03 - Tehnologia băuturilor alcoolice și nealcoolice.

**Scopul și obiectivele lucrării:** studierea și aplicarea procesului de fermentație alcoolică combinată a mustului la producerea vinurilor albe seci, cu conținut corectat de alcool și din struguri supracopți. Obiectivele: studierea procedelor de imobilizare și regenerare a levurilor selecționate active; perfecționarea regimurilor tehnologice la producerea vinurilor materie primă albe seci, vinurilor cu conținut corectat de alcool și din struguri supracopți, precum și implementarea tehnologiilor noi.

**Noutatea și originalitatea științifică.** Pentru prima dată a fost utilizat recipientul de fermentație a mustului în calitate de bioreactor pentru obținerea levurilor selecționate, care pot fi reutilizate în vinificație. Pentru prima dată a fost utilizat procedeul de fermentație combinată – anaerobă și aerobă pentru obținerea vinurilor albe cu conținut corectat de alcool.

Utilizând procedeul de regenerare a levurilor uscate active imobilizate au fost produse vinuri materii prime albe seci, vinuri cu conținut corectat de alcool și vinuri din struguri supracopți în condiții industriale la fabrica de vinuri „JAVGURVIN” S.A. în cantitate a câte 1500 dal.

**Problema științifică** soluționată constă în extinderea domeniului de utilizare a biomasei de levuri selecționate active imobilizate regenerate în tuburi sau saci cu pereții permeabili la fabricarea vinurilor albe și reutilizarea lor la fabricarea altor loturi de vinuri, astfel diminuând cheltuielile de procurare a levurilor uscate active selecționate.

**Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării:** În baza cercetărilor efectuate, referitor la procedeul de regenerare a levurilor active imobilizate au fost elaborate scheme tehnologice de fabricare: a vinurilor materie primă albe seci; vinurilor cu conținut corectat de alcool și din struguri supracopți.

**Implementarea rezultatelor științifice:** Rezultatele cercetărilor științifice au fost verificate și implementate conform schemelor tehnologice elaborate în baza studiului în condițiile fabricii de vin „JAVGURVIN” S.A. obținându-se loturi de vin a câte 1500 dal.

## АННОТАЦИЯ

**Назария Алёна „Процесс комбинированного спиртового брожения виноградного суслу в производстве белых вин”,** диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук, Кишинев, 2017 год. Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов и рекомендаций, библиографического списка содержащий 181 наименований охватывает 106 страниц основного текста, 18 таблиц и 50 рисунков. Научные результаты представлены в 16 публикациях.

**Ключевые слова:** активные сухие дрожжи, регенерация, иммобилизация, комбинированное спиртовое брожение.

**Специальность:** 253.03 - Технология алкогольных и безалкогольных напитков.

**Цели и задачи работы:** изучение и внедрение процесса комбинированного спиртового брожения виноградного суслу в производстве белых вин, с корректировкой содержания спирта и из перезрелого винограда. Задачи исследования: изучение методов иммобилизации и регенерации активных секционированных дрожжей; совершенствование режимов технологических процессов для производства белых сухих вин, вин с корректированием содержанием спирта и из перезрелого винограда, а также внедрение новых технологий.

**Новизна и научная оригинальность** Впервые была использована ёмкость для брожения в качестве биореактора для получения биомассы дрожжей, которые могут быть повторно использованы в виноделии. Впервые было использовано комбинированное спиртовое брожение для производство белых вин с корректировкой содержания спирта.

**Научная задача,** решаемая в диссертации, состоит в расширении области использования биомассы иммобилизованных дрожжей регенерированный в тубусах или мешках с полупроницаемыми стенками в производстве белых вин к их повторного использования при отработке других партий вин, таким образом, уменьшая затраты на закупку секционированных сухих активных дрожжей.

**Теоретическая значимость и практическая ценность работы:** На основе проведенных исследований, касающихся процесса регенерации иммобилизованных дрожжей, были разработаны технологические схемы для производства: белых сухих вин; вин с корректировкой содержания спирта и из перезрелого винограда.

**Внедрение научных результатов:** Результаты были проверены и внедрены согласно разработанным технологическим схемам разработанных на основе проведенных исследования в условиях предприятия А.О. „ЖАВГУРВИН” с получением производственных партий вин по 1500 дал.

## ABSTRACT

**Nazaria Aliona „The process of combined fermentation of grape must in order to produce white wines”,** PhD thesis in technical sciences, Chisinau 2017. The thesis consists of introduction, four chapters, conclusions and recommendations, bibliography with 181 references, 10 annexes, and 106 pages of basic content, 18 tables, and 50 figures. The results were presented in 16 scientific publications.

**Keywords:** active dry yeast, regeneration, immobilization, combined alcoholic fermentation.

**Field of study:** 253.03 - Technology of alcoholic and nonalcoholic drinks.

**Goals and objectives:** The study and implementation the process of combined alcoholic fermentation of grape must in the production of dry white wines, wines with corrected alcohol content and wines on the overripe grapes.

**Objectives:** to study the processes of immobilization and regeneration single species of active cultured yeast; improvement of technological schemes for producing dry white wines, wines with corrected alcohol content and overripe grapes white wines and implementation of new technologies.

**Scientific originality and novelty** For the first time, the vessel of must was used fermentation as a bioreactor to obtain selected yeasts, which can be reused in winemaking.

For the first time, the combined alcoholic and aerobic fermentation was used for producing wine with low alcohol grade.

Using the regeneration of immobilized active dry yeast were produced dry white wines, wines with corrected alcohol content and overripe grapes under industrial conditions at the winery "JAVGURVIN" J.S.C., the amount of 1500 dal each.

**Scientific problem** consists of extend the use of the biomass of active dry yeast immobilized in winemaking and its regeneration to reuse, thus reducing costs for purchase of active dry yeast.

**Theoretical significance and practicality of applied value:** Based on the carried out research on the regeneration of immobilized active yeasts technological schemes were developed for production of dry white wines, wines with corrected alcohol content and overripe grapes.

**Implementation of scientific results:** The results were tested and implemented at the winery „JAVGURVIN” J.S.C. by producing a lot of wine in industrial quantities of 1500 dal each according to the developed technological schemes based on a study.



## LISTA ABREVIERILOR

- a.a.** – (pe parcursul) a mai mulți ani;  
**ATP** – adenzin trifosfat;  
**ADP** – adenzin difosfat;  
**dal** – decaltru;  
**dm<sup>3</sup>** - un decimetru cub (1 litru);  
**fig.** – figura;  
**FLD** – detector de fluorescență;  
**g** – grame;  
**GK** – glicerol kinaza;  
**h** – ore;  
**HPLC** – cromatografie lichidă de înaltă performanță;  
**L** – litru;  
**LUA** – levuri uscate active;  
**max.** – maximum;  
**min.** – minimum;  
**MDL** – valuta națională, lei;  
**mg** – miligrame;  
**ml** – mililitru;  
**μg** – microgram;  
**NAD** - nicotinamidă adenin dinucleotidă;  
**NADH** – nicotinamidă adenin dinucleotidă forma redusă;  
**PEP** – fosfoenolpiruvat;  
**PK** – piruvat kinaza;  
**LDH** – lactat dehidrogenaza redusă;  
**S.A.** – Societate pe Acțiuni;  
**ș.a.** – și alții;  
**τ** – durata;  
**T** – temperatura;  
**t** – tonă;  
**u.m.** – unități de măsură;  
**VMP** – vin materie primă;  
**vol.** – volum.

## INTRODUCERE

**Actualitatea și importanța problemei abordate.** 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 [9, 52].

Una din tehnicile folosite curent pentru imobilizarea levurilor este includerea (incluziunea), sau încapsularea, această metodă constă în introducerea lor într-o matriță de polimeri rigizi fără scurgerea celulelor de suport [30, 83, 104].

De la începutul utilizării lor și până în prezent levurilele selecționate au fost și sunt folosite în scopul obținerii unor vinuri mai calitative decât cele fermentate spontan. Un vin sănătos se realizează cu levurile din genul *Saccharomyces*, iar cele mai frecvent folosite sunt speciile: *Saccharomyces cerevisiae* și *Saccharomyces bayanus*. De curând au început să se folosească și levurile selecționate din genul *Schizosaccharomyces* și anume din specia *Schizosaccharomyces pombe* [9, 16, 26].

De când se folosesc levurile selecționate în vinificație, s-au preferat cele din specia *Saccharomyces ellipsoideus*. Avantajul lor față de microflora indigenă constă în aceea că, au o putere alcooligenă mai mare, suportă concentrații de dioxid de sulf relativ ridicate, au un randament mai ridicat în alcool, rapid stăpânesc microflora mediului și conduc întotdeauna la realizarea unui vin de calitate [5, 6, 44].

Prin microflora indigenă se înțeleg celelalte levurile, prezente în mod natural pe strugure, care dau rezultate mai puțin satisfăcătoare la fermentația mustului. Majoritatea levurilor sălbatice aparțin speciei *Kloeckera apiculata*, care în comparație cu *Saccharomyces ellipsoideus* formează mai multă aciditate volatilă și formează un randament mai scăzut în alcool [1, 43].

Obținerea vinurilor seci din musturi bogate în zahăr necesită prezența în mediul de fermentație a levurilor din specia *Saccharomyces oviformis*. Având o putere alcooligenă superioară levurilor din specia *Saccharomyces ellipsoideus* pot fermenta zahărul dintr-un mediu care deja este bogat în alcool. La fermentația spontană, îndeosebi în prima parte, până ce gradul alcoolic n-a atins 10 % vol., datorită competiției, este posibil ca numărul celulelor de levuri din specia *Saccharomyces oviformis* să se diminueze foarte mult, iar uneori acestea dispar complet. Pentru a putea evita astfel de situații favorabile apariției diferitelor boli bacteriene, se recomandă folosirea levurilor selecționate din specia *Saccharomyces oviformis* [4, 9, 140].

Levurile din specia *Schizasaccharomyces*, prin natura particularităților lor fiziologice, pot degrada, în aceleași condiții, cantități mult mai mari, ajungând până la 95 % din acidul malic inițial.

De aici s-a născut ideea folosirii lor la dezacidifierea mustului cu conținut ridicat de acizi titrabili. Dintre speciile acestui gen, s-a constatat, că *Schizasaccharomyces pombe* contribuie la obținerea celor mai bune rezultate în produsul finit. Degradând acidul malic drojdia poate diminua aciditatea titrabilă fără formare de acizi volatili. Deci, din acest punct de vedere, specia *Schizasaccharomyces pombe* are un rol deosebit la fermentația mustului cu conținut ridicat de acizi tirabili, unde poate să se înlocuiască fermentația malo-lactică [7, 9, 13].

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, cât și în Republica Moldova imobilizând celulele de levuri pe suportul inert de  $TiCl_4$  [8, 13, 104].

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-adaosul în anumite condiții ale catalizei heterogene a fermentării alcoolice [9, 13].

În acest context, o sarcină importantă pentru industria vinicolă este studierea procesului de fermentare alcoolică prin administrarea diferitor specii de levuri imobilizate în scopul ameliorării calității produsului finit.

### **Scopul și obiectivele tezei**

Scopul abordat constă în studierea și aplicarea procesului de fermentare alcoolică combinată a mustului la producerea vinurilor albe seci, vinurilor cu conținut corectat de alcool și din struguri supracopți.

Obiectivele lucrării sunt:

- analiza tehnologiilor de producere a vinurilor materie primă albe seci, vinurilor cu conținut corectat de alcool și vinurilor albe din struguri supracopți;
- studierea fermentației alcoolice combinate din punct de vedere biochimic și tehnologic;
- studierea procedeelelor de imobilizare și regenerare a levurilor uscate active;
- studierea procesului de fermentație combinate la producerea vinurilor materie primă albe seci, vinurilor cu conținut corectat de alcool și vinurilor albe din struguri supracopți cu diferite levuri;
- perfecționarea regimurilor tehnologice la producerea vinurilor materie primă albe seci cu conținut corectat de alcool;
- compararea tehnologiilor de obținere a vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool;
- implementarea rezultatelor experimentale în producere.

**Noutatea și originalitatea științifică.** Pentru prima dată a fost utilizat recipientul de fermentare a mustului în calitate de bioreactor pentru obținerea levurilor imobilizate, care pot fi reutilizate în vinificație.

Pentru prima dată a fost utilizat procedeul de fermentație combinată – anaerobă și aerobă pentru obținerea vinurilor albe cu conținut corectat de alcool.

**Problema științifică** soluționată constă în extinderea domeniului de utilizare a biomasei de levuri uscate active imobilizate regenerate în tuburi sau saci cu pereții permeabili la fabricarea vinurilor albe și reutilizarea lor la fabricarea altor loturi de vinuri, astfel diminuând cheltuielile de procurare a levurilor uscate active.

#### **Importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării.**

Studiul teoretico-științific al procesului de fermentare alcoolică, procedeele de imobilizare și utilizare în domeniul vinicol a fost efectuat în cadrul bibliotecii Universității Tehnice a Moldovei studiind lucrări științifice și metodicodidactice din revistele științifice de profil, materialele conferințelor științifice din domeniu și din rețeaua Internet.

Cercetările au fost efectuate în cadrul laboratoarelor științifico-practice ale departamentului Oenologie, Universitatea Tehnică a Moldovei, Întreprinderea de Stat „Centrul Național de Verificare a Calității Producției Alcoolice” și în condiții de producere la „JAVGURVIN” S.A.

Utilizând procedeul de regenerare a levurilor uscate active imobilizate au fost produse vinuri materii prime albe seci, vinuri cu conținut corectat de alcool și vinuri din struguri supracopți în condiții industriale la fabrica de vinuri „JAVGURVIN” S.A. în cantitate de 1500 dal.

În baza cercetărilor efectuate, referitor la procedeul de regenerare a levurilor uscate active imobilizate în tuburi sau saci cu pereții permeabili, au fost elaborate scheme tehnologice de fabricare a vinurilor materie primă albe seci, cu conținut corectat de alcool și din struguri supracopți.

**Implementarea rezultatelor științifice:** Rezultatele au fost verificate și implementate pe parcursul anilor 2014÷2015 conform schemelor tehnologice elaborate în baza studiului în condițiile fabricii de vin „JAVGURVIN” S.A. obținându-se loturi de vin a câte 1500 dal.

**Aprobarea rezultatelor.** Rezultatele de bază ale tezei au fost comunicate și discutate în cadrul manifestărilor științifice, inclusiv: Conferința tehnico-științifică a colaboratorilor, doctoranzilor și studenților. Chișinău: UTM (2011, 2012, 2015); Conferința internațională “Tehnologii Moderne în Industria Alimentară –Chișinău (2012, 2014, 2016); Conferința științifică a studenților și masteranzilor, Chișinău, 2014,UASM și MAIA; Conferința științifică internațională a doctoranzilor „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”,

AȘM, martie 2014. De asemenea, au fost publicate **16** lucrări științifice și metodico-didactice în culegeri internaționale și naționale, din care **3** articole fără coautori.

### **Sumarul compartimentelor tezei.**

Teza de doctor este expusă pe 106 pagini de text dactilografiat, include 18 tabele, 50 figuri, 10 anexe și este structurată în 4 capitole, dintre care primul reprezintă analiza bibliografică referitoare la tehnologiile de producere a vinurilor seci, cu conținut corectat de alcool și din struguri supracopți, precum și procedeele de realizare a procesului de fermentare alcoolică cu utilizarea levurilor imobilizate, al doilea capitol – descrierea succintă a materialelor și metodelor de analiză, iar în capitolele trei și patru sunt expuse rezultatele științifice obținute și analiza lor.

**Introducerea** cuprinde argumentarea actualității temei, scopul și obiectivele lucrării, noutatea și originalitatea științifică, valoarea teoretică și aplicativă a lucrării, implementarea și rezultatele științifice obținute.

**Capitolul 1. „Procesul de fermentație alcoolică la producerea vinurilor albe”** prezintă o analiză amplă a publicațiilor științifice de ultima oră, care reflectă următoarele aspecte: analiza tehnologiilor utilizate la producerea vinurilor seci, din struguri supracopți și cu conținut corectat de alcool, precum și procesul de degradare a hexozelor, sușe de levuri utilizate în vinificație, procedeele de imobilizare a levurilor și aplicarea lor în industria vinicolă.

**Capitolul 2. „Materiale și metode de cercetare”** reprezintă metodică efectuării cercetărilor științifice, materialele utilizate și metodele de analiză tradiționale și moderne pentru a elucida veridicitatea ipotezelor și rezultatelor obținute.

**Capitolul 3. „Procesul de fermentație combinată a mustului la producerea vinurilor albe”** include 6 subcompartimente: studiul procedeei de obținere a biomasei levurilor uscate active selecționate la fermentația alcoolică; studiul procesului de fermentație combinată a mustului la producerea vinurilor albe seci, vinurilor cu conținut corectat de alcool și vinurilor din struguri supracopți.

**Capitolul 4. „Elaborarea regimurilor tehnologice de producere ale vinurilor materie primă cu conținut corectat de alcool”** include 3 subcompartimente referitoare la perfecționarea regimurilor tehnologice de producere ale vinului materie primă cu conținut corectat de alcool.

Astfel, această lucrare prezintă o cercetare finalizată, care include multiple aspecte, scopul final al cărora a fost atins în vederea producerii vinurilor albe prin aplicarea procesului de fermentare alcoolică combinată a mustului la producerea vinurilor albe seci, cu conținut corectat de alcool și din struguri supracopți cu levuri uscate active selecționate imobilizate în tuburi sau saci cu pereții permeabili.

# 1. PROCESUL DE FERMENTAȚIE ALCOOLICĂ LA PRODUCEREA VINURILOR ALBE

## 1.1. Tehnologiile existente la producerea vinurilor albe.

Vinurile albe [11, 12, 14] ocupă cea mai mare pondere din producția viti-vinicolă a țării noastre, precum și în lume.

Vinurile albe se produc într-o gamă foarte largă, și anume: vinuri albe seci, demiseci, demidulci și dulci; vinuri din struguri supracopți, vinuri albe cu indicație geografică, cu denumire de origine și cu denumire de origine controlată [28, 31, 34, 37].

Condițiile ecologice foarte diferite și sortimentele de soiuri cultivate, creează posibilitatea obținerii unor vinuri albe excelente, cum sunt cele din podgoriile Purcari, Romanești ș.a. [26, 44].

Consumatorii preferă tot mai mult vinurile albe de calitate cu concentrația alcoolică cuprinsă între 10,5 și 12,5 % vol., culoarea alb - verzuie sau galben - pai, gustul răcoritor și cu multă fructuozitate [8, 33].

Tehnologia de producere a vinurilor albe [10, 15, 17, 18, 27] este cea mai complicată și cea mai pretențioasă, deoarece prelucrarea strugurilor trebuie să fie realizată într-un interval cât mai scurt de timp, precum și contactul dintre must, aer și părțile solide ale strugurilor trebuie să fie cât mai redus posibil.

Orice abatere, se reflectă în calitatea vinurilor albe, îndeosebi prin culoarea și gustul lor. Operațiile tehnologice de bază care trebuie să fie respectate în tehnologia de producere a vinurilor albe, sunt următoarele [23, 44, 45]:

- recoltarea și transportare strugurilor întregi la fabrica de vinuri;
- desciorchinarea - zdrobirea strugurilor;
- macerarea sau criomacerarea mustuielii;
- scurgerea rapidă a mustului ravac;
- sulfitarea mustului pe măsură ce este extras din struguri;
- presarea boștinei sau mustuielii adaptată la gradul de maturare a strugurilor și starea fitosanitară a recoltei;
- limpezirea riguroasă a mustului;
- fermentația alcoolică a mustului cu levuri selecționate;
- utilizarea preparatelor enzimatice și activatorilor de fermentație;
- desfășurarea fermentării alcoolice a mustului la temperaturi de 14 - 16 °C.

În figura 1.1 este prezentat schema generală de producere a vinurilor albe seci, care reprezintă etapele tehnologice principale. În tehnologia de elaborare a vinurilor albe seci există două tendințe [26, 27, 28]:

- producerea vinurilor de tip tehnologic, la care aromele secundare de fermentație sunt dominante;
- producerea vinurilor de tip varietal (soi), la care expresia aromatică este mult mai complexă, incluzând și aromele primare din struguri.

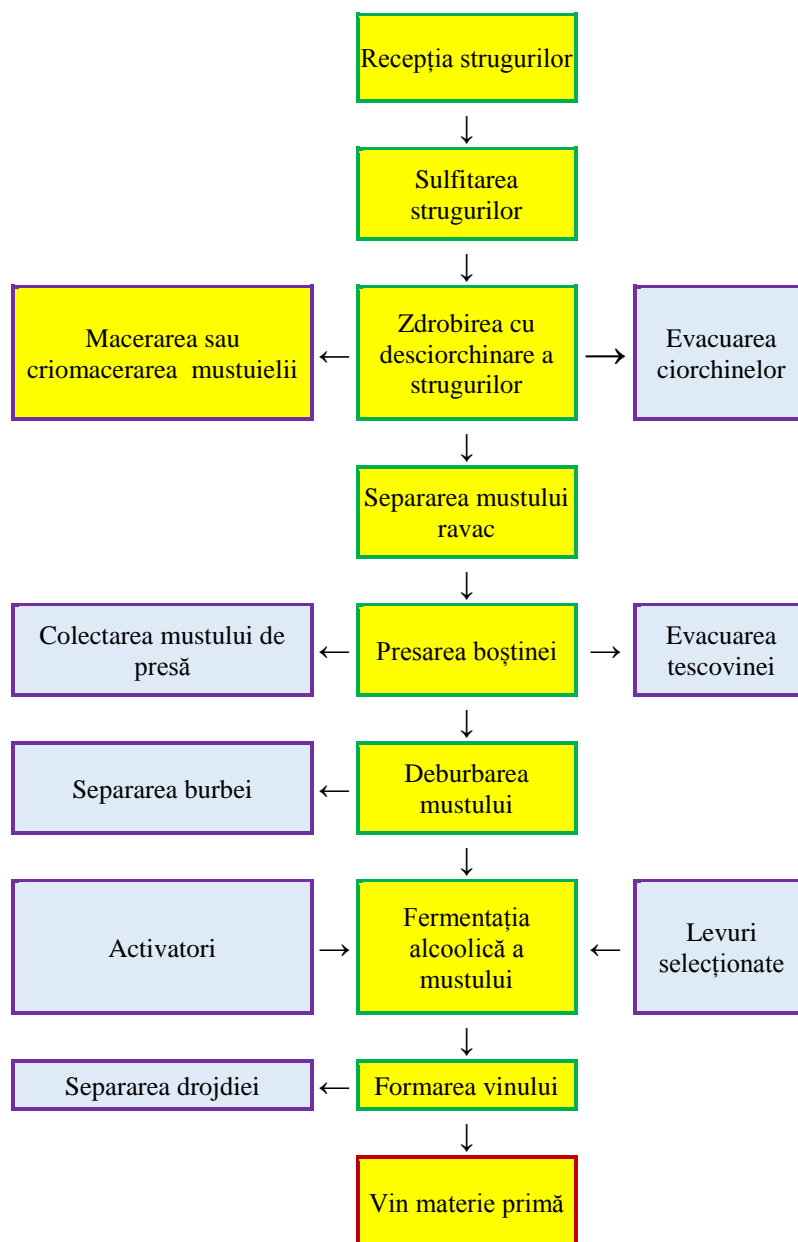


Fig. 1.1. Schema generală de producere a vinurilor albe seci [28].

La producerea vinurilor albe se utilizează schema tehnologică bazată pe următoarele etape tehnologice [28]:

- zdrobirea și presarea moderată a strugurilor;
- separarea riguroasă a fracțiunilor de must pe calitate;
- corecțiile de compoziție a musturilor, în faza de prelucrare a strugurilor;
- efectuarea macerației peliculare prefermentative;
- utilizarea sușelor de levuri selecționate și a preparatelor enzimatic;
- utilizarea dozelor moderate de anhidridă sulfuroasă și de bentonită.

Pentru vinurile de calitate, strugurii se recoltează la maturarea deplină când au acumulat cantități mari de zaharuri, minimum 170 - 180 g/L. În ceea ce privește maturitatea aromatică a strugurilor la soiurile potențial aromate (Sauvignon, Chardonnay), aceasta este întotdeauna legată de o maturare tehnologică avansată: 200 g/L zaharuri la soiul Sauvignon și 220 g/L la soiul Chardonnay [28, 44].

Vinurile albe de calitate din struguri supracopți se produc în areale viticole strict delimitate, în care condițiile pedoclimatice foarte favorabile pentru cultura viței de vie sunt valorificate prin intermediul unor soiuri cu potențial biologic ridicat de acumulare a zaharurilor în struguri [44].

#### **1.1.1. Tehnologiile utilizate la producerea vinurilor albe seci.**

Calitatea vinurilor albe seci este influențată de calitatea strugurilor, tehnologia de procesare a lor și metodele de tratare, maturare, îmbuteliere.

Conform datelor expuse în [28, 44], consumatorul de azi preferă vinurile albe de calitate, cu concentrația alcoolică cuprinsă între 10,5 și 12,5 % vol., arome de soi bine pronunțate, cu multă fructozitate și gust răcoritor, care păstrează tipicitatea podgoriei de unde provin.

Indicii principali ai calității vinurilor albe seci sunt: conținutul optimal de alcool, extractul sec nereducător, concentrația în masă a: aldehydelor, acizilor volatili, substanțelor azotate și anhidridei sulfuroase [1, 8, 43, 49].

Având în vedere importanța problemei abordate, studiul surselor de literatură referitoare la tehnologiile elaborate și recomandate până în prezent pentru producerea vinurilor albe seci s-au axat pe următoarele diviziuni [28, 70, 121]:

- evoluția tipurilor de vinuri albe seci și particularitățile tehnologiilor de producere a lor;
- principalele procedee tehnologice specifice pentru obținerea vinurilor albe seci;
- analiza tehnologiilor existente pentru producerea vinurilor albe seci.

În urma analizei datelor bibliografice se poate conchide, că obținerea unui vin alb sec de înaltă calitate poate fi realizată în cazul respectării operațiilor tehnologice de bază [10, 11, 44]:



- protejarea strugurilor, mustuielii, mustului și vinului de acțiunea oxigenului din aer;
- optimizarea extragerii compușilor și mai cu seamă a substanțelor odorante din pielea boabelor;
- păstrarea și acumularea de noi compuși chimici ce influențează benefic calitatea vinului în procesul de fermentație alcoolică a mustului.

Este cunoscut faptul, că protejarea mustului de acțiunea O<sub>2</sub> se realizează prin operația tehnologică ce prevede utilizarea antioxidanților. În oenologie cel mai frecvent sunt folosiți în calitate de antioxidanți dioxidul de sulf și acidul ascorbic [10].

Fermentația alcoolică a mustului este o etapă foarte importantă în tehnologia de producere a vinurilor albe seci. Realizarea cu succes a fermentației alcoolice depinde de temperatura de fermentație.

În acest context în literatura de specialitate sunt recomandate temperaturi de fermentație a mustului care variază de la 8 până la 32 °C [44]. Temperatura de fermentare a mustului a fost obiect de studiu de-a lungul anilor.

Conform surselor bibliografice [26], regimul optim de temperatura la fermentația mustului pentru producerea vinurilor albe de calitate constituie 14-18 °C. În [9, 99, 113] se recomandă de realizat fermentația alcoolică a mustului la temperatură mai mică de 6 °C, care decurge foarte încet, iar la 15 °C – foarte violent, de aceea temperatura optimă trebuie considerată 8 -10 °C.

La temperaturi înalte de fermentare alcoolică a mustului (mai mari de 22 °C) au loc pierderi de uleiuri eterice, care participă la formarea aromei vinului, precum și de alcool etilic.

Majorarea temperaturii de la 15 până la 30 °C contribuie la creșterea conținutului în acizi volatili și micșorarea cantității de alcooli superiori și esteri [8, 101].

În Republica Moldova primele cercetări privind stabilirea regimului optim de temperatură la fermentația mustului au fost realizate de P. Ungureanu [50]. Regimul optim de temperatură recomandat de autor la acea perioadă a constituit 18 - 32 °C. Temperaturi, mai joase de 16 °C și mai mari de 38 °C în opinia autorului ar putea influența negativ calitatea vinului natural alb sec.

Cele mai recente cercetări în domeniu privind fermentația alcoolică a mustului din țările europene au demonstrat, că la temperaturi ce variază între 12 și 15 °C permit obținerea vinurilor albe ce se disting prin aromă tipică de soi și gust armonios [9].

Savantul român, Cotea V.D. consideră, că pentru obținerea vinurilor albe seci cu o aromă de fermentație, care să completeze amplu și armonios aroma soiului este necesar ca temperatura în decursul fermentației alcoolice să nu depășească 20 °C [7].

Analiza surselor bibliografice ne permit să concluzionăm, că referitor la regimul de temperatură se evidențiază două extreme, ce se reflectă negativ atât asupra procesului de

fermentație, cât și a calității vinului: temperaturi foarte joase (sub nivelul de 10 °C) și temperaturi foarte ridicate (peste 25 °C).

Practica producătorilor a demonstrat, că cele mai bune rezultate se obțin la temperatura de fermentare 14 -20 °C, motiv pentru care levurile trebuie să posede și însușiri criofile [33, 35, 36].

În concluzie este important de menționat, că calitatea produsului finit depinde nu numai de materia primă utilizată, dar și de procedeele și tehnologiile aplicate.

### **1.1.2. Tehnologiile utilizate la producerea vinurilor din struguri supracopți.**

Vinurile se obțin prin fermentația alcoolică a mustului fără adaos de zahăr și alcool.

Adaosul de zahăr este permis numai în anii în care concentrația în masă a zaharurilor este inferioară celei medii din zonele viticole respective.

Adaosul de zahăr permis este limitat cantitativ, astfel încât conținutul de alcool să fie mărit până la nivelul mediu realizat în zona viticolă în care se obține [44]. Vinurile din struguri supracopți sunt bogate în alcool, zahăr și caracteristici organoleptice specifice, care rezultă, în urma fermentării incomplete a mustului proaspăt de struguri, limitarea fermentației fiind obținută pe cale naturală sau artificială [28, 77].

Conform legislației din țara noastră, după conținutul de zahăr se prepară următoarele tipuri de vinuri [28, 44, 48]:

- sec – de cel mult 4 g/dm<sup>3</sup> sau de cel mult 9 g/dm<sup>3</sup>, cu condiția că aciditatea totală, exprimată în grame de acid tartric pe decimetru cub, să nu fie cu mai mult de 2 g sub concentrația în masă a zahărului rezidual;
- demisec – dacă concentrația în masă a zaharurilor depășește valoarea maximă stabilită pentru vinul sec, dar este de cel mult 12 g/dm<sup>3</sup> sau este de cel mult 18 g/dm<sup>3</sup>, cu condiția ca aciditatea totală, exprimată în grame de acid tartric pe decimetru cub, să nu fie cu mai mult de 10 g sub concentrația în masă a zahărului rezidual;
- demidulce – dacă concentrația în masă a zaharurilor este mai mare decât valoarea maximă stabilită pentru demisec, dar este de cel mult 45 g/dm<sup>3</sup>;
- dulce – de cel puțin 45 g/dm<sup>3</sup>.

Producerea vinurilor cu zahăr rezidual din struguri supracopți [27, 28, 44] se apropie foarte mult de vinificația clasică, respectându-se operațiilor tehnologice de bază ale oenologiei „în alb” sau „în roșu”. Această tehnologie de producere a vinurilor cu zahăr rezidual se confruntă cu două probleme importante, și anume: oprirea fermentației mustului la un anumit conținut de alcool și zahăr, caracteristice tipului de vin și asigurarea stabilității lor.

Concentrarea parțială a zaharurilor din must se realizează cu ajutorul următoarelor procedee: evaporarea sub vid, congelarea parțială și osmoza inversă [142].

**Evaporarea sub vid.** Operația constă în transformarea în vapori a dizolvatului volatil urmată de îndepărtarea acestora din aparatul în care are loc operația. În acest mod conținutul dizolvantului în soluție scade, iar concentrația soluției în substanța nevolatilă crește [44, 117].

Sunt folosite instalații speciale de evaporare a apei din must sub vid, la temperaturi joase de 25- 30 °C. Mustul obținut prin această metodă este de bună calitate, deoarece concentrarea acestuia este parțială și la regimul de temperatură menționat nu au loc procese de degradare a zaharurilor.

Deși la moment există instalații de evaporare de mare capacitate, procedeul respectiv nu are răspândire largă în practica vinicolă autohtonă. Mustul corectat în conținutul de zahăr prin evaporare sub vid, datorită costului mai mare, se utilizează la obținerea vinurilor de înaltă calitate [141].

Vinul obținut parțial prin evaporarea sub vid are o intensitate colorantă superioară, precum și un conținut diminuat în alcoolii C<sub>6</sub> și fenil- 2- etanol, în raport cu vinul obținut din must neconcentrat sau șaptalizat [44].

**Congelarea parțială.** Principiul metodei constă în răcirea mustului sub 0 °C, în urma căreia se formează cristale de gheață. Ulterior, ele sunt înlăturate din must prin centrifugare sau separare. Datorită înlăturării unei părți de apă, crește concentrația zaharurilor, precum și a altor constituenți ai mustului.

Avantajele acestei metode constau în calitatea înaltă a mustului, precum și a vinului obținut din acest must.

Dezavantajele sunt mai mult de ordin economic: consum ridicat de energie; prețul de cost înalt al produsului și pierderi de zahăr inevitabile, odată cu eliminarea cristalelor de gheață. Din aceste considerente, în vinificația autohtonă practic nu se folosește concentrarea parțială a mustului prin congelare [44].

**Osmoza inversă.** Osmoză - trecere a unui solvent printr-o membrană semipermeabilă care separă două soluții de concentrații diferite sau o soluție de solventul pur.

Termenul de osmoza inversă presupune exercitarea unei presiuni artificiale, printr-o forță externă asupra soluției mai concentrate, iar dacă membrana este poziționată în direcția corectă, vom obține o migrație a moleculelor către substanța mai slabă în concentrație, obținând astfel apă pură și o creștere a concentrației de zaharuri în mustul rămas.

Concentrarea parțială a mustului are loc în urma trecerii apei printr-o membrană semipermeabilă sub acțiunea unei presiuni puternice superioare presiunii osmotice [28, 44].

Prin osmoza inversă, concentrația zaharului poate să ajungă până la 400 g/L. Pe lângă aceasta, are loc creșterea conținutului în acizi, săruri, compuși fenolici, proteide etc. însă, în afară de apă, prin membrană mai trece și o mică parte din zaharuri, elemente minerale și o porțiune însemnată de acid malic [141].

Ca dezavantaje, este necesar de menționat unele probleme de ordin tehnologic, referitor la curățarea și spălarea membranelor colmatate, precum și consumul ridicat de energie pentru realizarea și menținerea presiunii de lucru [44].

**Supramaturarea strugurilor** are loc atunci când zaharurile depășesc nivelul realizat pe cale biochimică, ca urmare a procesului de evaporare a apei din boabe. Scăderea greutateii boabelor se datorează în cea mai mare măsură evaporării apei din boabe, uscării ciorchinelui, precum și unor fenomene respiratorii.

Ca o consecință a acestor procese, volumul și greutatea bobului se micșorează, pielea se zbârcește, iar mustul se concentrează mult în zahăr, putând ajunge până la 300 ÷ 400 g/L. Supramaturarea mai poate avea loc sub acțiunea căldurii solare sau artificiale. Sub acțiunea căldurii soarelui, supramaturarea se poate desfășura în condiții, când strugurii nu sunt desprinși de pe butuc sau în condiții artificiale, la strugurii culeși și expuși la soare pe paie, rogojini sau grătare din lemn [8].

Perioada de supramaturare sau supracoacere se caracterizează prin aceea că, strugurele se lasă pe butuc, sucii se concentrează în componenții săi, uneori supracoacerea fiind influențată de unele mucegaiuri nobile [44].

Tehnologia de producere a unor vinuri cu zahăr rezidual prevede sistarea fermentației alcoolice, cunoscută în vinificație și ca “întreruperea” fermentației.

Prin sistarea fermentației alcoolice se înțelege inhibarea activității levurilor la atingerea conținutului de glucide, corespunzător pentru fiecare tip prin utilizarea procedurilor autorizate.

Intervențiile de sistare a fermentației au loc atunci, când tăria alcoolică are valori mai mici cu 0,5- 1 % vol. decât cea preconizată [28].

La prepararea vinurilor cu zahăr rezidual este necesar ca fermentația să fie întreruptă, înainte ca acesta să fie în totalitate fermentat.

Alegerea momentului de întrerupere a fermentației este condiționată de tipul de vin ce trebuie realizat, dependent la rândul său de concentrația inițială a mustului în zaharuri.

După sistarea fermentației se asigură stabilitatea microbiologică prin menținerea conținutului în vin de SO<sub>2</sub> liber la nivelul de 30-35 mg/L sau prin administrarea conservanților [3, 91].

### **1.1.3. Tehnologiile utilizate la producerea vinurilor seci cu conținut corectat de alcool.**

Aceste vinuri reprezintă o alternativă sănătoasă produselor cu grad alcoolic înalt. Odată cu majorarea conținutului de alcool etilic în vinuri se observă un interes deosebit la nivel național și european față de efectele nocive ale alcoolului etilic asupra sănătății [53, 56, 62, 80, 108, 161].

Conform Reglementării tehnice nr. 356 din 11.06.2015 “Organizarea pieței viti-vinicole”, procedeul de corecție a conținutului de alcool al vinului sec are ca scop obținerea unui vin parțial dealcoolizat, prin eliminarea unei părți de alcool (etanol) din vin cu ajutorul procedeelor de separare fizică [48].

Vinul cu conținut corectat de alcool nu trebuie să prezinte defecte organoleptice și trebuie să fie potrivit pentru consumul uman direct. Corecția conținutului de alcool al vinului nu se poate efectua dacă se face unul dintre procedeele de îmbogățire, în scopul creșterii concentrației alcoolice a vinurilor materie primă, iar reducerea concentrației alcoolice dobândite a vinului dealcoolizat nu poate fi mai mare de 2 % vol., iar concentrația alcoolică dobândită a produsului finit trebuie să fie obținută exclusiv prin fermentația alcoolică, totală sau parțială, a strugurilor proaspeți, presăți sau nu, sau a mustului [54, 75, 79, 135].

În ultimii ani, au fost elaborate diferite procedee de reducere a concentrației alcoolice în vinuri, care cuprind perfecționarea tehnologiilor de cultivare a strugurilor, elaborarea noilor metode de eliminare a alcoolului din vinuri, precum și utilizarea diferitor tulpine de levuri cu sinteză scăzută a alcoolului etilic [64, 68, 74, 106, 119, 143].

Implementarea unor astfel de tehnologii în practică permite de a diversifica asortimentul produselor vinicole pentru atragerea consumatorilor.

Producerea vinurilor cu un conținut redus de alcool, necesită o atenție deosebită la selectarea celor mai eficiente procedee tehnologice. Producătorii de vinuri la selectarea metodei de corectare a gradului de alcool trebuie să analizeze diferiți factori tehnico-economici, cum ar fi: tipul vinului, volumul de producere, conținutul de etanol, dorința de a păstra naturalețea produsului, volumul investițiilor necesare și cheltuielile de producere [136, 147, 149, 159].

Eliminarea alcoolului în vid este cunoscută ca, fiind metoda cea mai delicată și eficientă. Sistemul de vid este controlat de un computer, asigurând în acest fel eliminarea corectă și optimă a alcoolului. Vinul dealcoolizat nu trebuie să prezinte defecte organoleptice și trebuie să fie apt pentru consumul uman direct. Reducerea concentrației alcoolice dobândite nu poate fi mai mare de 2 % vol. [151, 152, 167, 110].

Dezavantajele procedeului de reducere a conținutului de alcool prin dealcoolizarea lui constă în concentrarea substanțelor componente din vin ceea ce duce la defavorizarea calităților

organoleptice ale produselor finite, iar corecția lor prin diluarea vinului cu apă este o încălcare a legii și indică comiterea falsificărilor de vin [48, 76, 81].

Procedeul de dealcoolizare în vid mai are și alte dezavantaje – consumul de energie, pierderea unor substanțe aromatice care sunt separate odată cu alcoolul etilic [157].

Un alt dezavantaj ar fi, că pentru a obține un vin slabalcoolic prin procedeul cunoscut strugurii recoltați trebuie să conțină o zaharitate maxim 142 g/L când complexul aromatic nu este bine acumulat în boabe și aciditatea titrabilă este exagerată [120, 132].

Conform literaturii de specialitate [84, 109, 111], vinul slab alcoolic sau fără alcool a apărut în urmă cu aproximativ două decenii și, ca orice invenție, a fost extrem de bine primită, iar popularitatea acestei băuturi a crescut constant. Practic, crearea acestui tip de vin a răspuns unor cerințe care nu puteau fi îndeplinite până relativ de curând.

În zilele noastre vinificatorii se confruntă cu o problemă de un conținut excesiv de alcool în vin ca o consecință a schimbărilor climatice în întreaga lume.

Combi-nația dintre sănătate, reglementările legale, economia și problemelor de calitate legate de vinurile cu alcool a condus vinificatorii și oamenii de știință pentru a dezvolta tehnologii pentru reducerea nivelului de alcool, care conservă în ansamblul calitatea vinului.

Aceste tehnici pot fi aplicate în diferite stadii a procesului de vinificare, fie individual, fie în combinație pentru a obține vinuri de înaltă calitate. Factorii cei mai importanți, care influențează selectarea tehnicii sunt: pierderi de calitate minime în produsul final și costul minim pentru tehnicile aplicate. Având în vedere aceste informații, tehnicile noi de vinificație sunt sugerate pentru a fi practicate și adaptate la producerea vinurilor luând în considerare ambele puncte de vedere atât din partea producătorilor, cât și a consumatorilor [55, 111].

Una din tehnologiile de fabricare a vinurilor cu un conținut redus de alcool prezintă dealcoolizarea vinului până la conținutul de alcool de  $0,3 \div 0,4$  % vol. cu ajutorul evaporatorului la temperaturile de la 15 până la 100 °C. Durata procesului de dealcoolizare variază în dependență de temperatură și tipul evaporatorului folosit. Rezultatul procesului de dealcoolizare este obținerea concentratului de vin și condensatul, care constă din alcool și substanțe aromatice ale vinului. Acest condensat se distilează fiind divizat în 3 fracțiuni: etanol, metanol și etilacetat; etanol și substanțe aromatice și etanol. Frațiunea, care conține substanțe aromatice și etanol se amestecă cu concentratul de vin și se adaugă apă demineralizată, iar volumul apei adăugate depinde de tipul vinului care urmează a fi obținut [144, 155].

Dezavantajele acestui procedeu constau în utilizarea temperaturilor înalte până la 100°C în procesul eliminării alcoolului, ceea ce poate reda vinului nuanțe de „vin fiert”, precum și folosirea apei demineralizate în scopul diluării concentratului de vin care este interzisă în practica

oenologică internațională, iar ca rezultat poate reda vinului nuanțe străine ceea ce influențează calitatea produsului finit [132, 157].

Alt procedeu de obținere a vinurilor cu conținut redus de alcool este distilarea vinului în atmosferă de gaz inert mobil (Ar, He, CO<sub>2</sub>). Dezavantajul acestui procedeu este costul înalt al procedurii din cauza utilizării gazului inert [63, 70, 132].

O altă soluție la fabricarea vinurilor cu conținut corectat de alcool este procedeu de obținere a vinurilor, care prevede dealcoolizarea vinului de o calitate mai scăzută cu utilizarea diferitor procedee (osmoză inversă, distilare, evaporare ș.a.) până la un conținut de alcool de la 0,5 până la 1,5 % vol., iar după procesul de dealcoolizare, în vinul obținut se adaugă îndulcitor artificiali cantitatea căruia constituie mai puțin de 5 % de la volumul vinului dealcoolizat. La următoarea etapă se efectuează cupajarea vinului dealcoolizat cu un vin de înaltă calitate în dependență de concentrația alcoolică dorită, maxim până la 10 % vol. [160].

Dezavantajele acestui procedeu este dealcoolizarea practic deplină a vinului inițial, ceea ce reduce semnificativ calitatea produsului final, precum și utilizarea îndulcitorilor care este interzisă în practica oenologică internațională, iar pe de altă parte poate influența caracteristicile fizico-chimice și organoleptice ale produsului finit.

O altă metodă de fabricare a vinurilor cu conținut corectat de alcool la noi în țară propusă de către Stoleicova Svetlana prevede producerea vinului materie primă, dealcoolizarea unei părți a acestuia prin distilare în vid la temperatura de 20÷40 °C și presiunea de 0,02÷0,04 bar până la atingere unui conținut de alcool de 6÷8 % vol., cupajarea vinului parțial dealcoolizat cu vin inițial în raport de, % de vol. (30...50):(50...70) [156, 157].

Dezavatajele acestui procedeu constă în costul înalt al instalației de dealcoolizare în vid, precum și cheltuieli suplimentare legate de întreținerea utilajului, precum și reprezintă un procedeu de intervenție în compoziția chimică a vinului, fiind o tehnologie specială.

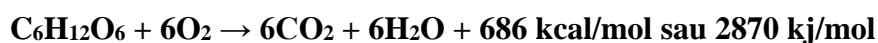
## **1.2. Procesul de degradare a hexozelor.**

Fermentațiile aerobe (oxidative) se realizează în prezența oxigenului atmosferic și produc un șir de acizi organici (acid acetic, acid citric, acid succinic, acid fumaric, etc.). Aceste fermentații nu trebuie confundate cu respirația aerobă, în care substanțele sunt oxidate complet până la CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O, cu degajare de energie. Procesul de degradare a hexozelor poate fi anaerob și aerob [1, 85].

Degradarea anaerobă constă în oxidarea substanțelor organice ce se realizează în lipsa oxigenului atmosferic, cu degajare parțială de energie. Oxidarea este incompletă și duce la formarea unui produs intermediar și a dioxidului de carbon [19, 123]:



Degradarea aerobă reprezintă tipul de respirație prin care substanțele bogate în energie (glucide, proteine, grăsimi) se descompun complet, până la dioxid de carbon și apă, în prezența oxigenului molecular ( $O_2$  este un acceptor de electroni), cu eliberare de energie chimică [19, 126]:



Procesul de degradare a hexozelor constă din trei stadii [141]:

- Glicoliza (calea Embden – Meyerhof – Parnas) și producerea de acetil-CoA;
- Fermentația alcoolică;
- Ciclul Krebs sau ciclul acizilor tricarboxilici (CAT).

Prima etapă a degradării, în cadrul căreia hexozele se descompun până la acidul piruvic se bazează pe reacții identice pentru toate organismele vii, însă căile metabolice ulterioare sunt diferite. În condiții anaerobe acidul piruvic este supus degradării prin fermentație, iar în condiții aerobe – prin ciclul Krebs (fig. 1.2) [19, 103].

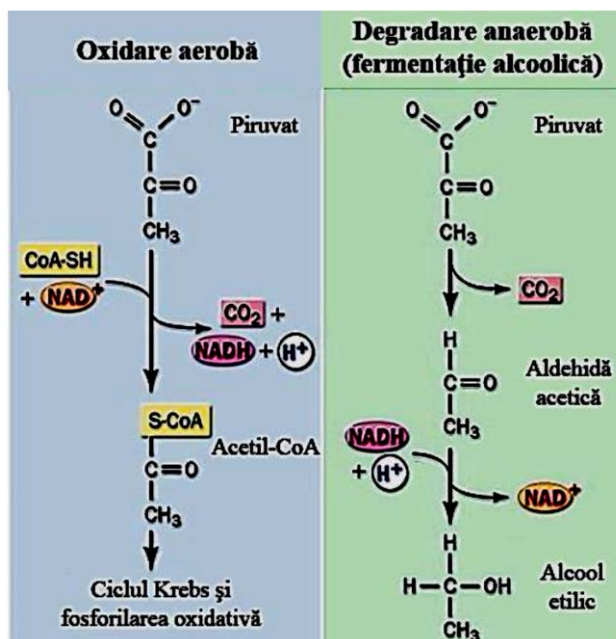


Fig. 1.2. Căile metabolice posibile ale acidului piruvic–produs al glicolizei [19]

Procesul de descompunere anaerobă de către microorganismele (fig. 1.2) a substanțelor organice în produse intermediare cu eliberare de energie se numește fermentație. Din punct de vedere filogenetic, fermentația este cea mai veche formă de catabolism pe Pământ [8].

Printre organismele care își primesc cea mai mare parte de ATP din fermentații sunt microorganismele – bacteriile și ciupercile.

*Fermentația alcoolică* este un proces anaerob prin care glucidele fermentescibile sunt metabolizate prin reacții de oxidoreducere, sub acțiunea echipamentului enzimatic al levurilor, în



produse principale (alcool etilic și CO<sub>2</sub>) și produse secundare (alcooli superiori, acizi, aldehide etc.) [144].

Dintre monoglucide fermentează ușor glucoza, manoza și fructoza, iar galactoza – mult mai greu. Restul hexozelor și pentozelor nu fermentează sub acțiunea levurilor, însă sunt degradate de alte microorganisme. Monoglucidele fermentează direct, iar diglucidele și poliglucidele numai după transformarea acestora în monoglucide. Reacțiile care au loc în fermentația alcoolică sunt determinate de enzimele din celulele levurilor sau din extractele din levuri, dar trebuie de menționat că fermentația cu extracte din levuri are un randament mai scăzut [1].

Microflora specifică vinificației este foarte bogată. Din punct de vedere sistematic microorganismele specifice vinificației aparțin la două mari încrângături: Bacteriophyta și Mycophyta.

Levurile fac parte din: ramura Thalophyta (adică organisme vii, cu aparat vegetativ nediferențiat). Clasa (subclasa) Ascomycetae; ordinul Endomycetales. Acest ordin prezintă mai multe familii, dintre care cea mai importantă sub raport oenologic este Familia Endomycetaceae. La rândul ei această familie se subdivide în mai multe subfamilii. Pentru oenologie prezintă interes numai subfamilia Saccharomycetoideae. În această subfamilie se încadrează mai multe genuri cu importanță pentru industria vinicolă.

În funcție de capacitatea lor de a forma sau nu spori, levurile se împart în două mari categorii: sporogene și asporogene. Din categoria celor sporogene fac parte următoarele genuri conform

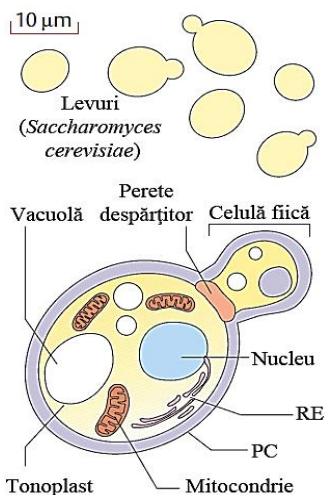


Fig. 1.3. Structura levurii *Saccharomyces ellipsoideus* [19]; \* – RE – reticul endoplasmatic; PC –

Yarrow [181]:

*Genul Saccharomyces.* Levurile din acest gen au forme diferite: rotunda, alungită sau filiformă. Prezintă 1-4 spori în ască, ei putând fi rotunzi sau ovali. Principalele specii din acest gen sunt: *Saccharomyces acidifaciens*, *Saccharomyces chevalieri*, *Saccharomyces heterogenicus*, *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces ellipsoideus*.

*Genul Zygosaccharomyces.* Levurile din acest gen sunt deosebit de rezistente la concentrații foarte ridicate de zaharuri, fiind capabile să inițieze fermentații chiar la proporții de 500-600 g/l glucide. Datorită acestui fapt ele poartă numele de levuri osmofile, mai ales formele haploide.

*Genul Torulaspora* prezintă importanță prin aceea că în timpul fermentației produce cantități mici de acizi volatili. Formează pelicula la suprafața vinurilor dar de altă natură decât cea produsă de floarea vinului-*Micoderma*.

*Genul Saccharomycodes* cu speciile: *Saccharomycodes Ludwiggii*, *Saccharomycodes Bisporum*, *Saccharomycodes Mestris*. Aceste levuri au putere alcooligenă mică în schimb sunt foarte rezistente la anhidrida sulfuroasă.

*Genul Schizosaccharomyces*. Celulele speciilor din acest gen se înmulțesc prin sciziune. Astăzi se știe ca aceste levuri pot metaboliza acidul malic pe cale ne lactică producând alcool etilic. Două specii sunt mai importante: *Schizosaccharomyces pombe* și *Schizosaccharomyces acidodevoratus*.

*Genul Torulopsis* cu doua specii mai importante: *Torulopsis bacillaris* și *Torulopsis stellata*. Celulele acestei specii au forma rotunda, sunt mici, asemănătoare bacteriilor. Au putere alcooligenă scăzută, producând alcool pana la 6-7 vol. %.

*Genul Bretanomyces* contaminează vinurile, provocând boli grave. Urmare activității lor, in produs apar proporții mari de acid acetic si alte substanțe urat mirositoare.

*Genul Kloeckera*. Pe struguri se găsește in cea mai mare proporție fata de toate celelalte genuri si specii. Celulele au forma apiculata, sunt considerate levuri sălbatice întrucât produc conținuturi scăzute in alcool (4-5 vol. %).

*Genul Candida (Mycoderma)* produce floarea vinului (boala aeroba). La suprafața vinului infectat produce o pelicula alba-cenușie formată din pseudomicelii. Sub pelicula alcoolul este transformat în aerobioză în CO<sub>2</sub> și apa.

*Genul Kluyveromices*. Levurile din acest gen au capacitatea sa metabolizeze cantități considerabile de acid L (+) lactic. Acestui gen ii aparțin unele rase capabile să ucidă alte specii de levuri. De aceea se numesc sușe sau rase killer [181].

Principalii *produși secundari* sunt:

- glicerolul, care se acumulează în cantități de 3,3 g/100 g glucoză fermentată și are un rol benefic asupra calității vinului, conferindu-i „catifelaj”;
- alhidele, din care cea mai importantă este aldehida acetică și la concentrații ce depășesc 2,5 mg/L influențează indirect gustul vinului, deoarece prin oxidare duce la formarea de acid acetic;
- acizii, care provin din must și din procesul fermentativ; ei dau aciditate vinului (acid acetic, formic, propionic, butiric) precum și o aciditate fixă (acid lactic, succinic), care se regăsește în aciditatea totală a vinului. Acidul lactic se poate acumula în cantități de 20 mg/L, iar acidul acetic se acumulează în cantități de 80-120 mg/L. Prin formarea esterilor (acetat de etil), gustul vinului este depreciat. Acidul succinic se formează din zahăr sau din aminoacizi și poate reprezenta 0,7 % din cantitatea de zahăr fermentată.
- alcooli superiori, care rezultă din surse hidrocarbonatate și din aminoacizi.

Cea mai potrivită pentru majoritatea levurilor este concentrația zahărului de 10 –15 % [20]. Procesul de fermentație alcoolică, produs de *Saccharomyces cerevisiae*, se oprește când concentrația de alcool este de 14 %, deoarece acest tip de levuri nu se pot înmulți la concentrații mai mari de alcool. *Saccharomyces bayanus* este o specie de levuri care pot tolera concentrații mai mari de alcool – 17 – 20% și sunt folosite pentru producerea vinurilor tari [78, 102, 107].

Dacă mediul de fermentare este puternic aerat atunci are loc efectul Pasteur, prin care se observă conversiunea fermentației în respirație. Oxidarea substratului se face până la produsele finale CO<sub>2</sub> și H<sub>2</sub>O [19].

### **1.3. Utilizarea sușelor de levuri la fermentația mustului.**

La fermentația spontană a mustului există unele dezavantaje, printre care: obținerea vinurilor cu o fermentație incompletă; pericolul de infecție a vinurilor; conținutul de alcool mai redus; conținutul înalt de acizi volatili; o limpezire mai lentă a vinului decât la fermentația mustului cu utilizarea culturilor de levuri selecționate [28].

Pentru evitarea rezultatelor nedorite la fermentația mustului în el se inoculează cultura selecționată de levuri *Saccharomyces*. Pentru, ca fermentația alcoolică să se realizeze pe sușa de levuri selecționată este necesar de a respecta următoarele [38, 93, 146] condiții tehnologice:

- limpezirea mustului de efectuat în așa mod, încât concentrația microorganismelor endogene să se micșoreze rapid;
- de a folosi culturi de levuri cu capacități de concurență, adică dotate cu fenotipul Killer;
- inocularea levurilor de cultură în must în faza prefermentativă în volumul necesar;
- omogenizarea maielei de levuri în tot volumul de mustul obținut după limpezire.

Mustul obținut după procesul de limpezire conține într-un 1 cm<sup>3</sup> de la 1000 până la 100 mii celule de diferite levuri. În procesul de înmulțire concentrația lor în mediu crește până la 1 mln cel/cm<sup>3</sup>. La începutul fermentației alcoolice spontane în mediu se conține circa 100-150 mii cel/cm<sup>3</sup>. La introducerea a 2 % de maia de levuri selecționate în mustul supus fermentației, concentrația celulelor este de 2-3 mln cel/cm<sup>3</sup> de levuri [13, 60].

Pentru efectuarea fermentației alcoolice a mustului pe sușa de levuri inoculată, este necesar ca concentrația levurilor să fie de 10 ori mai mare decât până la inoculare. Deci în must până la administrarea levurilor trebuie să fie nu mai mult de 200-300 mii cel/cm<sup>3</sup> [13, 44].

În majoritatea țărilor vinicole se practică sulfitarea mustului fără răcire, iar doza utilizată de SO<sub>2</sub> trebuie să stopeze multiplicarea levurilor *Saccharomyces* și protecția mustului de oxidare [10]. S-a constatat, că deoarece mustul diferitor soiuri de struguri se combină în mod diferit cu SO<sub>2</sub>, în unele cazuri doza stabilită poate fi prea mică sau din contra, prea mare [9].

La utilizarea cu succes a suşelor de levuri selecţionate este necesar de a limpezi prealabil mustul la instalaţiile de filtrare de capacitate mare, de centrifugare sau de a folosi floculanţi, ce asigură o limpezire rapidă şi eficientă, precum şi de a micşora timpul de limpezire la temperaturi joase [44].

De asemenea, cultura de levuri selecţionată trebuie să posede capacitatea de concurenţă. Pentru aceasta, levurile trebuie să fie rezistente la anhidrida sulfuroasă. Printre levurile sulfite de genul *Saccharomyces vini* (sin. *S. cerevisiae*) există diferite fenotipuri: neutre (N), killer (K) cu o capacitate de concurenţă mai mare ca cele sensibile (S) [41, 42].

Pentru fermentaţia mustului la temperaturi relativ înalte se utilizează suşe de levuri termofile, iar la temperaturi joase - levuri "criofile". În aşa mod, este necesar de a dirija procesul de fermentare alcoolică a mustului, folosind culturi de levuri selecţionate, precum şi diferite procedee tehnologice [19, 44].

Într-un mediu de cultură lichid, natural (must) sau artificial, se însămânţează un număr determinat de celule microbiene şi apoi este incubat la temperatura optimă speciei, atunci în urma multiplicării se formează o populaţie microbială sau o cultură mai mult sau mai puţin bogată. Dacă pe parcursul dezvoltării acestei culturi se iau periodic, la intervale de timp strict determinate, probe în care se determină masa celulară gravimetric sau numărul de celule pe unitatea de volum, iar rezultatele se transpun grafic într-un sistem de coordonate semilogaritmice, atunci rezultă curba de creştere a microorganismului respectiv. Legile după care se dezvoltă o asemenea populaţie (cultură) au fost stabilite de [57, 58, 97].

Păstrarea viabilităţii levurilor la diferite nivele de temperatură este condiţionată de faptul dacă temperatura este coborâtă sau ridicată (ultima fiind mai dăunătoare), de vârsta levurilor (celulele tinere sunt mai rezistente decât cele bătrâne), forma de existenţă (sporii sunt mai rezistenţi decât celulele), starea fiziologică şi conţinutul în apă al celulelor, precum şi de compoziţia mediului în care se găsesc [35, 40].

O influenţă mai mare asupra activităţii levurilor o are însă presiunea osmotică a mediului în care trăiesc. Se ştie, că presiunea osmotică a unei soluţii oarecare este direct proporţională cu concentraţia ei. Cum în must cantitatea de glucide este cu mult mai ridicată decât a altor substanţe, înseamnă că presiunea osmotică a acestuia depinde în primul rând de concentraţia lui în glucide.

Aceasta înseamnă, că ele îşi vor desfăşura normal activitatea în mediile în care glucidele nu depăşesc o concentraţie de 30 % (300 g/l) [44, 51].

Când concentraţia mustului în glucide creşte peste această valoare (recolte supramaturate, stafidite sau atinse de putrezirea nobilă), levurile pierd apă prin schimb osmotic cu mediul, fapt ce duce la scăderea intensităţii activităţii lor. Diferite experienţe au demonstrat şi practica au

confirmat că, pe măsură ce musturile au o concentrație mai mare în glucide ritmul fermentării scade, iar începând de la o anumită limită (peste 30 %) randamentul în alcool scade treptat cu creșterea concentrației mustului în glucide [1, 59].

#### **1.4. Metodele de declanșare a fermentării alcoolice a mustului.**

În funcție de cauzele care declanșează fermentația alcoolică, aceasta poate fi spontană sau dirijată [40].

*Fermentația alcoolică spontană.* Această fermentație se produce de la sine, fără nici o intervenție exterioară aparentă. Transformarea zaharurilor în alcool și CO<sub>2</sub> se face sub influența levurilor provenite în mod natural de pe strugure.

Inițial fermentația spontană este declanșată de levurile apiculate în special cele din genul *Kloeckera* (*K. apiculata*), care, în scurt timp, ajung să reprezinte 70-80 % din totalul levurilor. Ele produc fermentația glucidelor până când gradul alcoolic ajunge la 3-4 % vol., după care numărul lor scade, astfel încât, spre mijlocul perioadei de fermentare să se mai găsească doar în proporție de 15-20 %, după care scad și mai mult [44].

După declanșarea fermentației, în locul levurilor apiculate predomină levurile eliptice, adică cele care aparțin speciei *Saccharomyces ellipsoideus*. În plină fermentație, proporția lor atinge 90 %. Puterea alcooligenă a levurilor eliptice poate ajunge până la 16 % vol. alcool, dar de regulă, concentrația lor începe să scadă după ce tăria alcoolică din mediu atinge 10-11 % vol. Fermentația spontană este apoi continuată de levurile din specia *Saccharomyces oviformis* care fermentează până la 18 % vol. alcool sau chiar 20 % vol. alcool [40]. Aceste levuri se mai numesc și „levuri de finisare” și sunt utile la producerea vinurilor seci cu grad alcoolic ridicat. În schimb, sunt puțin dorite la obținerea vinurilor cu rest de zahăr, deoarece pot determina refermentația acestora [9].

*Fermentația alcoolică dirijată.* Se face printr-un adaos de levuri și în acest caz, succesiunea levurilor nu mai are loc. Levurile adăugate pun stăpânire pe mediu și devin de la început până la sfârșit principalii realizatori ai fermentației alcoolice [28].

Fermentația dirijată este necesară, mai ales, la recoltele insuficient de bogate în microfloră naturală, la cele cu microflora modificată, precum și în cazul când se dorește ca fermentația să se realizeze cu levuri dintr-o anumită specie. Adaosul de levuri se poate face cu levuri indigene sau cu levuri selecționate dintre care, în prezent, o largă extindere o au levurile liofilizate. Cele mai des folosite sunt cele din specia *Saccharomyces ellipsoideus* [26, 44].

*Declanșarea fermentației alcoolice cu levuri uscate active.* Începutul utilizării levurilor uscate active în industria vinicolă datează cu anul 1964 și, la un moment, au o extindere largă atât în oenologia internațională, cât și în cea autohtonă [44].

Pentru prepararea levurilor uscate active se folosesc levuri ce aparțin speciilor *Sacch. ellipsoideus*, *Sacch. oviformis*, precum și *Sacch. bayanus*. O condiție importantă la prepararea levurilor uscate este ca sușele de levuri folosite să fie, în mod obligatoriu, de origine vinicolă, cu alte cuvinte, să provină de pe struguri, din must sau vin [38].

Producerea de levuri uscate active include mai multe etape: obținerea biomasei de levuri, separarea ei de mediul fermentativ, uscarea biomasei de levuri și ambalarea lor în scopul pregătirii sau livrării întreprinderilor vinicole [20].

Ca mediu pentru pregătirea biomasei, servește mustul de struguri. La atingerea concentrației în levuri de 3- 4 % exprimată în substanță uscată totală, se recurge la separarea biomasei de mediul de cultură lichid prin centrifugare, iar produsul obținut se filtrează, obținându-se o cremă cu conținutul în apă de 70 %. Biomasa de levuri obținută se usucă cu ajutorul unui curent de aer cald, la o temperatură de maximum 45 °C, timp de 2-3 ore. La uscarea lejeră apa intracelulară, trece prin membrana celulelor fără să le deterioreze. În levurile uscate, conținutul de apă nu depășește 7-8 % [36, 37].

Utilizarea levurilor uscate active, comparativ cu celelalte procedee de declanșare a fermentației alcoolice posedă multiple avantaje și anume [44]:

- asigură în must, încă înainte de declanșarea fermentației o concentrație sporită de levuri ce aparțin unei sușe cu caracteristici cunoscute;
- prezintă o activitate fermentativă mai ridicată;
- permite utilizarea acestora direct fără o prealabilă înmulțire, fapt ce conduce la reducerea cheltuielilor suplimentare și evitarea riscurilor de infecții cu microorganisme străine;
- determină o fermentație alcoolică mai completă, iar vinurile obținute au un grad alcoolic mai ridicat;
- durata de fermentație alcoolică este mai scurtă;
- realizarea de vinuri cu un conținut mai redus de acetal aldehydă, deci și cu un conținut mai scăzut de SO<sub>2</sub> sub formă combinată.

Din dezavantajele pe care le prezintă levurile active uscate sunt evidențierea unor gusturi străine, ca de exemplu: „gust de pâine dospită” sau „gust de ars”. Pe lângă aceasta unele sușe de levuri uscate nivelează particularitățile specifice de soi și îndeosebi, a zonei viti-vinicole [38, 44].

***Declanșarea fermentației alcoolice cu levuri imobilizate.*** Levurile imobilizate sunt folosite în mod obișnuit la fermentația mustului, fiind imobilizate în niște matrice rigide și insolubile, astfel încât acestea să nu se mai poată dispersa în toată masa mustului. Levurile imobilizate sunt în formă globuloasă (bile mici), alcătuite din alginat de calciu și celule de levurile [26].

Prepararea levurilor imobilizate se face prin amestecarea unei suspensii de levuri de o anumită concentrație cu o soluție de acid alginic, după care acest amestec se toarnă picătură cu picătură într-o soluție de clorură de calciu. Picăturile gelifică rapid obținându-se niște bile mici, alcătuite din alginat și levuri, după care calciu rezidual se înlătură prin spălare. Bilele spălate sunt trecute din nou printr-o soluție de acid alginic, pentru a forma un înveliș suplimentar insolubil la exterior. Bilele formate au diametru de câțiva milimetri, iar celulele de levuri aflate în interior nu pierd din capacitatea lor fermentativă. Învelișul exterior de alginat de calciu îndeplinește funcția de membrană semipermeabilă, adică lasă să treacă prin ea glucidele din must pentru ca ele să ajungă la levuri și, în sens invers, alcoolul și CO<sub>2</sub>, ce se obțin din metabolismul levurilor. Tot odată, celulele de levuri nu părăsesc matricea și rămân imobilizate în ea. În fiecare bilă se conțin 1000-2000 de celule de levuri în stare activă. Pentru fermentația mustului se recomandă cca. 2 g/L care sunt incluse în 250-2500 de bile mici în funcție de mărimea acestora [88].

Practica fermentației mustului cu levuri imobilizate constă în dozarea lor în volumul lichidului. Cantitatea de levuri care se adaugă în must este prestabilită de firma producătoare. După finalizarea procesului, bilele se sedimentează la fundul recipientului mult mai rapid [13, 27, 29].

Avantajele utilizării levurilor imobilizate constă în intensificarea procesului de limpezire a vinului și ameliorarea separării acestuia de sediment. Există însă și unele incertitudini [9, 13, 69]:

- referitor la grosimea stratului exterior de alginat de calciu, dacă este prea subțire, celulele de levuri îl pot perfora și vinul se tulbură, iar în cazul când este prea gros, difuzia substanțelor decurge greu, fermentația alcoolică durează prea mult și de multe ori este incompletă;
- excluderea desfășurării procesului de autoliză a levurilor, acesta având o mare importanță în ceea ce privește calitatea vinului obținut.

La moment, fermentația cu ajutorul levurilor imobilizate mai mult se aplică la producerea vinurilor spumante. La fermentația mustului se cer efectuate cercetări suplimentare mai cu seamă în domeniul producerii vinurilor cu zahăr rezidual și cu conținut corectat de alcool [44].

### **1.6. Fermentația alcoolică cu utilizarea levurilor imobilizate.**

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 bio-transformarea totală sau parțială a substraturilor [44, 65].

Una din tehnicile folosite curent pentru imobilizarea microorganismelor este includerea (incluziunea), sau încapsularea; această metodă constă în introducerea microorganismelor într-o matriță de polimeri rigizi fără scurgerea celulelor de suport [104].

De la începutul utilizării lor și până în prezent levurilele selecționate au fost și sunt folosite în scopul obținerii unor vinuri calitativ mai bune decât cele fermentate spontan. Un vin sănătos se realizează cu levurile din genul *Saccharomyces*, cele mai frecvent folosite sunt speciile: *Saccharomyces ellipsoideus*, *Saccharomyces oviformis* și *Saccharomyces bayanus*. De curând au început să se folosească și levurile selecționate din genul *Schizosaccharomyces* și anume din specia *Schizosaccharomyces pombe* [28].

Cultura pură reprezintă o biomasă de celule rezultate prin reproducere dintr-o singură celulă aflată într-un mediu nutritiv steril, cu volum limitat. Cultura pură este considerată și colonia care se formează ca rezultat al izolării unei celule sau a unei unități formatoare de colonii, atunci când aceasta este localizată pe un mediu nutritiv solid. Puritatea unei culturi se poate obține și prin repicare, deci prin transfer de celule din eprubeta ce conține cultura pură, în alt recipient cu mediu de cultură steril.

În practica de laborator se cunosc numeroase metode prin care se poate realiza separarea unei singure celule din microbiotă eterogenă a mediilor naturale. Metodele cunoscute și practicate în laborator în scopul izolării culturilor pure pot fi clasificate în metode fizico-mecanice și metode biologice.

Imobilizarea poate fi definită ca o captare a unei molecule de levură sau enzimă într-o fază distinctă care permite schimburi cu substratul, dar este separată de acesta.

Levurile se denumesc imobilizate dacă sunt legate chimic sau prin adsorbție de diverse materiale suport (matrici), sau entrapate în formă solubilă în microcapsule sau membrane impermeabile pentru elevuri și care permit un schimb continuu de substrat sau produs.

Pentru ca utilizarea imobilizatelor să fie eficientă, acestea trebuie să îndeplinească o serie de cerințe:

- densitatea biomoleculelor imobilizate să fie mare;
- să prezinte o mare activitate enzimatică;
- să fie stabile la temperatura și timp,
- să răspundă rapid în timp;
- să fie rezistente la desprindere, desorbție.

Utilizarea levurilor imobilizate la transformarea, prin cataliza eterogenă, a diferitelor substraturi, este o practica curentă datorită avantajelor pe care le prezintă:



a) permite utilizarea repetată a levurilor (cu aceeași cantitate de enzimă se poate prelucra o cantitate mai mare de substrat);

b) permite lucrul în instalații semicontinuu și continuu, micșorând volumul instalației, permițând automatizarea proceselor;

c) levurile nu se regăsește în produs, pot fi eliminate ușor;

d) se pot deplasa în mod controlat spre anumite valori pH-ul optim și temperatura optimă de acțiune a levurilor;

e) la utilizarea procedeelor continuu scade timpul de contact între levuri, substrat și produși, scăzând în acest fel posibilitatea de a se forma produși secundari nedorți;

Elementele de bază ale unei levuri imobilizate sunt levurile, suportul și modul de interacțiune al levurilor cu acesta. Suportul este de regulă un polimer hidrofil cu greutate moleculară mare. Acesta are o importantă contribuție la performanța levurei imobilizate [71].

#### **1.6.1. Aspecte privind utilizarea celulelor de levurile imobilizate.**

Imobilizarea celulelor a devenit o practică importantă în biotehnologiile ultimilor ani, ducând la creșterea performanței și a economicității proceselor fermentative [71, 104].

Folosirea celulelor imobilizate asigură numeroase avantaje, cum ar fi [72, 105]:

- 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;
  - posibilitatea reutilizării biocatalizatorilor;
  - separarea ușoară a imobilizatorului de mediu de reacție.

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

La alegerea materialelor pentru suport în cazul producerii biocatalizatorilor, trebuie luați în considerare o multitudine de factori [82, 104]:

- 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 poliacril-amida, accentul punându-se apoi pe polimeri naturali ca alginatul și carrageenanul [82].

*Kapa – Carrageenan* este o polizaharidă naturală extrasă din algele marine și este deseori folosită ca aditiv alimentar. Autorii [104] 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. Amestecarea soluției de celule cu soluția polimerului.

Gelatinizarea 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 gelatinizarea. Cercetătorii [25] au comparat influența diferitelor condiții de gelatinizare asupra tăriei gelului. Ionii monovalenți de  $K^+$ ,  $Rb^+$ ,  $Cs^+$  și  $NH_4^+$  duc la obținerea de geluri mai puternice în comparație cu ionii polivalenți [78, 82].

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 emulsificată într-un ulei vegetal stabil într-un reactor termostațat. Emulsia este apoi răcită la temperatura camerei, obținându-se picături la gelatinizarea 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 fermentația continuă. Cercetătorii [87] au subliniat faptul, că activitatea și viabilitatea celulelor imobilizate în carrageenan sunt asemănătoare cu cele ale celulelor libere.

*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 [98].

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 [88].

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 [98].

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 [95].

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, savanții [98] 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).

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

Variantele noi de tirajare constau în:

- utilizarea levurilor selecționate incluse în bile de alginat;
- utilizarea levurilor selecționate incluse în cartușe Millispark.

### 1.6.2. Metode de imobilizare a levurilor.

Au fost elaborate mai multe metode de imobilizare. Mulți autori, ca [89, 112], au grupat metodele de imobilizare în patru categorii: de fixare pe o suprafață, includere, floculare și menținere în spatele unei bariere (fig. 1.4 și fig. 1.5) [104, 172].

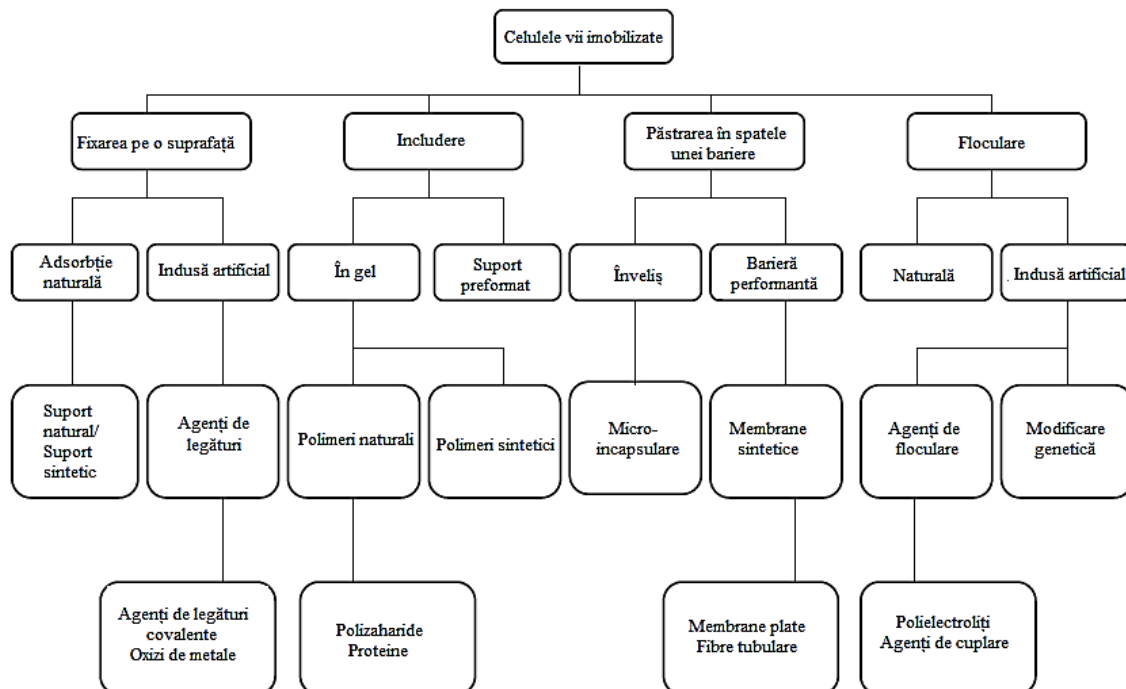


Fig. 1.4. Clasificarea metodelor de imobilizare [104]

*Fixarea pe o suprafață* poate fi efectuată cu ajutorul a două fenomene: adsorbție sau prin legături covalente. Sistemele în care celulele sunt imobilizate prin adsorbție sunt comune datorită

simplității tehnicii. Ea rezultă dintr-o atracție electrostatică între suport și membrana celulară, încărcate negativ [105, 138].

Atașarea celulelor pe un suport este variabilă și depinde nu numai de organism, dar și de asemenea, de suportul utilizat. Suporturile pot fi materiale de diferită natură: lemn, PVC, cărămidă, silice, bentonită, fragmente de plante [104, 105].

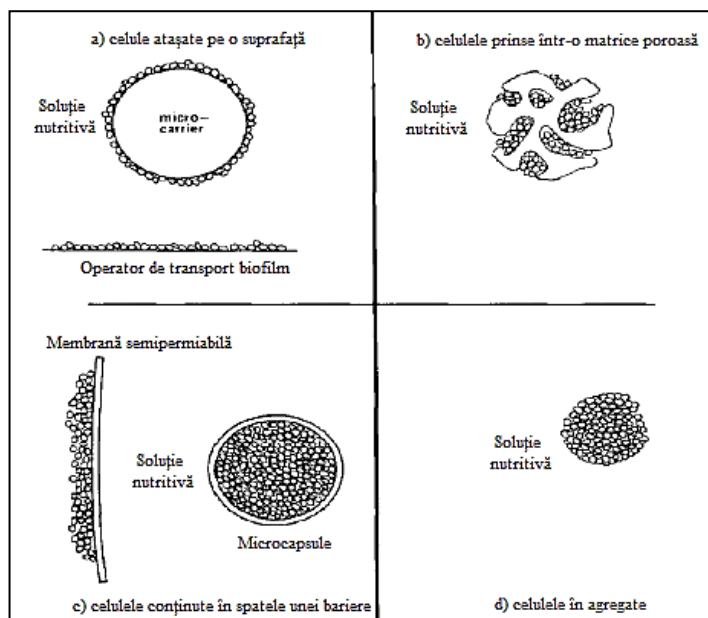


Fig. 1.5. Patru clasificări de celule imobilizate [104]

*Includerea.* Conform acestei tehnici, care este cea mai frecvent utilizată, celulele sunt încorporate într-o matrice polimerică mai mult sau mai puțin rigidă. Acești polimeri sunt sintetici: poliacrilamida sau celofanul, sau naturali: pot fi proteine, cum ar fi gelatina și colagenul, sau polizaharid natural, cum ar fi celuloza, alginat, agar-agar – caragenanul [172].

*Flocularea.* Această tehnică se bazează pe capacitatea naturală a microorganismelor de a se lipi una de alta. Dar, de asemenea este posibil să se adauge agent de floculare pentru a promova agregarea microorganismelor care nu floculau spontan. Fenomenele implicate în floculare sunt: legăturile de hidrogen, forțele Van der Waals și forțele de dispersie [104].

*Păstrarea în spatele unei bariere.* Imobilizarea celulelor prin această metodă poate avea loc prin trei metode diferite. În primul caz, celulele sunt imobilizate într-o barieră preformată astfel încât fibrele sunt goale. În al doilea caz, imobilizarea este efectuată prin formarea unei bariere în jurul microorganismelor, cum ar fi tehnica de micro-încapsulare [164, 172].

A treia și ultima metodă este de a utiliza o membrană semi-permeabilă de microorganisme în creștere. Acest tip de imobilizare s-a dovedit ideal pentru sistemele în care produsele cu greutate moleculară mare ar trebui să fie separate din efluent. Cu toate acestea, transferul de masă și posibila

contaminare a barierei cauzate de creșterea celulară, sunt toate problemele care limitează această tehnică [104, 105].

În urma analizei tehnice date de imobilizare a levurilor uscate active se propune de a studia regenerarea levurilor uscate active selecționate păstrate în spatele unei bariere formate din membrane filtrante permeabile cu diametrul porilor 0,60 μm, confecționate sub formă tubulară sau dreptunghiulară, cu dozare de oxigen și fără dozare de oxigen, astfel determinând activitatea levurilor imobilizate la producerea vinurilor albe seci, vinurilor din struguri supracopți și vinurilor cu conținut corectat de alcool, de asemenea cercetând majorarea biomasei de levuri imobilizate în dependență de temperatura de fermentare, de zaharitatea inițială a mustului, de suprafața imobilizatorului și de dozarea oxigenului în interiorul imobilizatorului [172].

### **1.6.3. Fermentația 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 [104].

Utilizarea microorganismelor fixate (prin absorbție sau adsorbție cu utilizarea forțelor Coulomb 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 [73, 105, 148].

Proteinazele și pectinazele imobilizate pe suprafața levurilor reziduale din vin, tratate cu  $TiCl_4$  pentru prima dată au fost obținute în anul 1973 la INVV din Ialta „Magaraci” de către un grup de cercetători. Ele au fost utilizate la limpezirea dificilă a vinurilor de masă și tari, care erau greu de prelucrat în alte condiții [13, 43].

De asemenea, a fost propusă fixarea separată a levurilor *Schizosaccharomyces* într-un reactor pe diferite suporturi (rumeguș de stejar și de fag, inele de ceramică și polietilenă etc.). Sușa de levuri selecționată special în acest scop a fost utilizată cu succes la instalarea în reactorul principal pentru dezacidifierea continuă a mustului și vinului [13, 100].

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 vinurile spumante obținute prin metoda de rezervor mari au devenit cunoscute în lume datorită lucrărilor cercetătorilor [13, 115, 150].

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 biologic active, care permit intensificarea procesului de șampanizare și contribuie la îmbunătățirea calității acestor vinuri [9, 13, 44, 122, 165].

Bioreactorul cu celule fixate de levuri și bacterii este permanent alimentat cu culturi pure din maielei levuriene și bacteriene, ceea ce asigură dezacidifierea continuă de lungă durată a vinurilor datorită simbiozei microorganismelor în bioreactoare [86, 100, 168].

Crearea de către savanți a reactoarelor pe baza pectinazelor și proteinazelor imobilizate se utilizează pe larg la stabilizarea sucurilor, vinurilor și berii [82, 83].

Metodele de imobilizare a celulelor cu utilizarea membranelor inclusiv și gelurilor, sunt eficiente în cazul când trebuie asigurată fermentația cu o productivitate înaltă și obținerea produselor cu caracteristici prestabilite (cu conținut corectat de alcool, arome). Imobilizarea poate servi drept bază și pentru utilizarea altor specii de microorganisme obținute prin ingineria genică, cu aplicații.

Cea mai de perspectivă și practică este metoda utilizării celulelor microorganismelor fixate sau imobilizate pe suporturi insolubili supuși unor cerințe rigide ca: rezistența în vin și suc, rezistența mecanică și fizică, prezența suprafeței de absorbție bine dezvoltate, accesibilitatea și prețul redus, acceptarea utilizării de către legislație [98].

Aplicarea largă a acestor metode biotehnologice asigură astăzi baza producerii băuturilor și vinurilor de toate tipurile de calitate înaltă și cu competitivitate sporită [13].

Reieșind din studiul bibliografic efectuat s-a evidențiat următorul scop al lucrării, care constă în studierea și aplicarea procesului de fermentare alcoolică combinată a mustului la producerea vinurilor albe seci, vinurilor cu conținut corectat de alcool și vinurilor din struguri supracopți.

Obiectivele lucrării sunt:

- analiza tehnologiilor de producere a vinurilor materie primă albe seci, vinurilor cu conținut corectat de alcool și vinurilor albe din struguri supracopți;
- studierea fermentației alcoolice combinate din punct de vedere biochimic și tehnologic;
- studierea procedeelelor de imobilizare și regenerare a levurilor uscate active;
- studierea procesului de fermentație combinate la producerea vinurilor materie primă albe cu diferite levuri;
- perfecționarea regimurilor tehnologice la producerea vinurilor materie primă albe seci cu conținut corectat de alcool;
- compararea tehnologiilor de obținere a vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool;
- implementarea rezultatelor experimentale în producere.

Problema cercetării soluționată constă în extinderea domeniului de utilizare a biomasei de levuri uscate active immobilizate regenerate în tuburi sau saci cu pereții permeabili la fabricarea vinurilor albe și reutilizarea lor la fabricarea altor loturi de vinuri, astfel diminuând cheltuielile de procurare a levurilor uscate active selecționate.

Direcțiile de soluționare a problemei cercetării este orientarea spre biotehnologii agricole, și anume spre procesele fermentative și immobilizare a microorganismelor, care pot fi reutilizate.

### **1.7. Concluzii la capitolul 1.**

În baza studiului bibliografic realizat la tema tezei putem afirma, că calitatea vinurilor albe seci este determinată de compoziția fizico-chimică și anume de concentrația alcoolului etilic, acizilor organici, glicerolului, substanțelor fenolice .

Reieșind din studiul bibliografic concluzionăm, că la baza tehnologiilor de producere a vinurilor albe stă atât concentrația inițială în zaharuri din struguri cât și procesul de fermentare alcoolică. Acest proces poate avea loc cu levuri, care pot fi uscate seci active sau immobilizate.

Fiecare recipient cu must în fermentare prezintă un bioreactor, care poate fi utilizat în sezonul de procesare a strugurilor pentru obținerea sușelor de levuri cu efecte economice raționale.

De asemenea, până în prezent, recipientul pentru fermentare a avut un singur scop de a optimiza procesul de fermentație alcoolică pentru a obține vinuri calitative. Una din condițiile de bază este utilizarea sușelor de levuri selecționate, dar comercializarea lor anuală este destul de costisitoare. Din aceste considerente, se propune de utilizat bioreactorul prin fermentația combinată a mustului cu levuri immobilizate prin metoda păstrării în spatele unei bariere permeabile, care poate fi utilizat simultan pentru obținerea levurilor pure selecționate, care fiind purificate, depozitate în condiții optime pot fi reutilizate în viitor în scopuri economice.

Mustul din struguri supracopți este un mediu nutritiv bogat. La fermentația lentă a acestui must apar condiții favorabile de multiplicare a microorganismelor immobilizate în saci cu pereții semipermeabili. Astfel formându-se o diferență de presiune osmotică în must și în sacul cu levuri immobilizate, ce favorizează procesul de difuzie a glucidelor prin peretele semipermeabil asigurând o viteză de multiplicare și fermentare în mediul cu levuri immobilizate.

Până în prezent în vinificație nu a fost utilizată o fermentare combinată aerobă și anaerobă care poate fi folosită pentru obținerea vinurilor cu conținut corectat de alcool pe cale biochimică naturală. Astfel, se propune de a obține levuri active prin folosirea vasului de fermentare ca bioreactor, precum și fabricarea vinurilor albe seci, vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool și vinurilor din struguri supracopți prin utilizarea levurilor immobilizate.

## 2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Cercetările referitoare la producerea vinurilor materie primă albe prin aplicarea procedurii de regenerare a levurilor uscate active immobilizate în tuburi sau saci cu pereții permeabili au fost efectuate în cadrul laboratoarelor științifico-practice ale departamentului Oenologie, Universitatea Tehnică a Moldovei, Întreprinderea de Stat „Centrul Național de Verificare a Calității Producției Alcoolice” și în condiții de producere la „JAVGURVIN” S.A.

### 2.1. Obiectul de cercetare

Obiectele de cercetare au fost musturile de struguri din soiurile: Chardonnay, Sauvignon blanc, Aligote și Traminer [2] recoltați de pe plantațiile fabricii de vin „JAVGURVIN” S.A. și vinurile materie primă obținute din soiurile respective.

La producerea vinurilor materie primă albe seci, vinurilor din struguri supracopți și vinurilor cu conținut corectat de alcool s-au utilizat următoarele levuri uscate active comerciale (fig. 2.1): Oenoferm Freddo, Erbslöh Geisenheim AG (Germania), EZFerm44, Enartis Ferm (Italia) și levuri incluse în bile de alginat: ProRestart și ProDessert de la Scott Laboratories (California, SUA).

ProRestart și ProDessert conțin celule de levuri capsulate în interiorul unui polizaharid natural extras din alge marine, care sunt acomodate mediului din vin. Spre deosebire de levurile uscate active, levurile capsulate sunt pre-condiționate pentru condiții aspre, cum ar fi concentrația înaltă de zaharuri sau tăria alcoolică înaltă. Ele sunt o alegere excelentă pentru finisarea fermentației stopate sau fermentarea vinurilor licoroase. Pentru a putea fi utilizate, bilele de alginat sunt plasate într-un sac de nailon care este suspendat în must. O cantitate esențială din biomasa de levurile rămâne prinsă în aceste bile de alginat.



Fig. 2.1. Levuri uscate active (a) Oenoferm Freddo și levuri incluse în bile de alginat (b) ProRestart și (c) ProDessert [180]

În condiții de laborator au fost confecționate tuburi perforate de polietilenă (fig. 2.2) cu suprafața 50 cm<sup>2</sup> pentru immobilizarea levurilor uscate active comerciale.



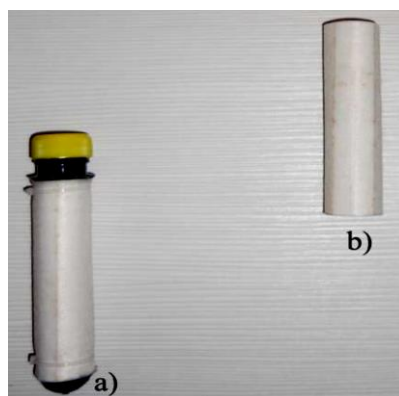


Fig. 2.2. Tub de polietilenă perforată (a) și membrană filtrantă (b)

De asemenea, au fost procurați saci din membrane permeabile cu diametrul porilor  $0,60 \mu\text{m}$  în scopul imobilizării levurilor de la compania Oliver Ogar (Italia) pentru producerea vinurilor materie primă în condiții industriale la fabrica de vinuri „JAVGURVIN” S.A.

Mustul de struguri din soiul *Traminer alb* pentru producerea vinurilor albe din struguri supracopți s-au recoltat de pe vița de vie până la sosirea înghețului, permițând obținerea unui must cu concentrația în masă a zaharurilor  $320 \text{ g/L}$ .

## 2.2. Metodica efectuării cercetărilor științifice

În cadrul campaniei vinicole a. 2011 la departamentul Oenologie, UTM în condiții de laborator au fost confecționate tuburi perforate de polietilenă în scopul imobilizării levurilor și determinării influenței factorilor fizico-chimici (temperatura, concentrația în masă a zaharurilor, suprafața imobilizatorului și dozarea oxigenului) asupra activității levurilor uscate active imobilizate.

Pentru realizarea acestei experiențe s-a utilizat mustul de struguri din soiul Aligote (a.r. 2011), care preventiv a fost filtrat prin filtru cu căruș pentru must MESH2500 în scopul înlăturării microflorei indigene.

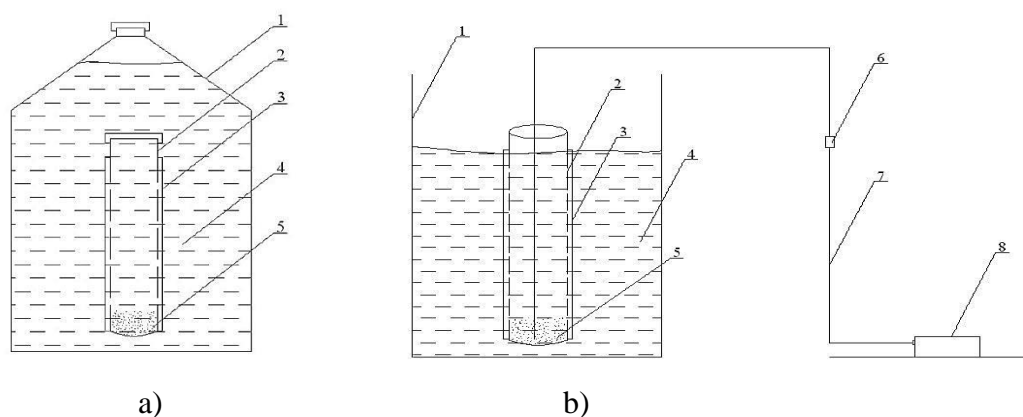


Fig. 2.3. Schema instalației de fermentare cu utilizarea levurilor uscate active imobilizate în tuburi de polietilenă: a) fără oxigen; b) cu dozare de oxigen.

**\*Notă:** 1 – recipient de fermentare; 2 – tub perforat de polietilenă; 3 – membrană filtrantă cu diametrul porilor de 0,6 μm; 4 – must; 5 – levuri uscate active Oenoferm Freddo; 6 – filtru steril; 7 – furtun de polietilenă; 8 – pompă de oxigen.

De asemenea, în această perioadă, s-a utilizat mustul de struguri din soiul Chardonnay (a.r. 2011) pentru obținerea biomasei de levuri în condiții de laborator în scopul studierii dinamicii fermentării zaharurilor și concentrației alcoolice obținute la fermentarea mustului în recipiente de sticlă (5 L) cu levuri uscate active (Oenoferm Freddo) imobilizate în tuburi de polietilenă cu suprafața de 50 cm<sup>2</sup>, cu și fără dozare de oxigen (compresor de laborator) conform schemei din fig. 2.3.

În cadrul campaniei vinicole a. 2012 la fabrica de vinuri „JAVGURVIN” S.A., în condiții de producere au fost procurați saci din membrane permeabile cu diametrul porilor 0,60 μm de la compania Oliver Ogar (Italia), în scopul imobilizării levurilor Oenoferm Freddo și realizării fermentării alcoolice combinate la producerea vinurilor materie primă albe seci, vinurilor din struguri supracopți și vinurilor cu conținut corectat de alcool.

Mustul de struguri din soiul Chardonnay luat în cadrul cercetărilor, în cantitate de 1000 dal, a fost păstrat la temperatura de 4 ÷ 5 °C și sulfitat până la concentrația 75 mg/L SO<sub>2</sub> total, din care apoi s-au luat porțiuni de câte 100 dal pentru fiecare probă luată în experiment.

După fermentația alcoolică, tubul cu levuri a fost supus procedeelor de determinare a biomasei de levuri descrise mai jos. Pentru obținerea biomasei de levuri pure s-au parcurs următoarele etape tehnologice:

- dializa în apă distilată timp de 24 h cu schimbarea apei de 3 ori,
- uscarea până la 2,7 % s.u. în termostat la temperatura de 40 ÷ 45 °C;
- cântărirea la balanța de precizie seria WLC C/2.

Pentru păstrarea levurilor imobilizate, după acumularea populației de 40 ÷ 60 mln de celule/mL, sacul cu levuri imobilizate a fost supus următoarelor procedee:

- dializa în apă distilată timp de 24 h cu schimbarea apei de 3 ori și păstrarea ulterioară la temperatura 0 ÷ 2 °C până la următoarea campanie vinicolă;
- dializa în apă distilată timp de 24 h cu schimbarea apei de 3 ori și deshidratarea prin procedeul de liofilizare la temperatura de -30 ÷ -40 °C;
- pentru descompunerea bacteriilor din mediul de levuri imobilizate s-a utilizat enzima „Lizozim”, doza 10 mg/L.

În cadrul campaniilor vinicole a.a. 2013 ÷ 2015 la întreprinderea „JAVGURVIN” S.A. s-a implementat tehnologia de producere a vinurilor albe seci, vinurilor din struguri supracopți și

vinurilor cu conținut corectat de alcool prin realizarea fermentării alcoolice combinate cu ajutorul levurilor uscate active immobilizate în saci cu pereții permeabili cu și fără dozare de oxigen (DosiOx QX2).

Strugurii din soiul aromatic Sauvignon blanc cu zaharitatea 200 g/L și aciditatea titrabilă 7,8 g/L au fost prelucrați conform tehnologiei tradiționale de producere a vinurilor albe. Strugurii din soiul neutru Aligote cu zaharitatea 182 g/L și aciditatea titrabilă 7,9 g/L au fost prelucrați prin fermentație combinată.

### **2.3. Materiale și metode de analiză**

#### **2.3.1. Determinarea indicilor fizico-chimici de bază în struguri, must și vinuri materie primă.**

Metodele de analiză utilizate la determinarea indicilor fizico–chimici ai strugurilor, mustului și vinului materie primă sunt următoarele [32, 46, 61, 131]:

- starea sanitară a strugurilor conform SM 84 - 2011;
- concentrația în masă a zaharurilor prin metoda areometrică conform SM 84 - 2011;
- concentrația în masă a acizilor titrabili conform GOST 14252-73;
- concentrația alcoolică conform GOST R 51653-2000 și 13191-73;
- concentrația în masă a zaharurilor conform GOST 13192-73;
- concentrația în masă a acizilor volatili conform GOST R 51654 – 12;
- concentrația în masă a dioxidului de sulf (total/liber) conform GOST R 51655 - 08;
- concentrația în masă a extractului sec nereducător conform SM GOST R 51620:2008;
- fracția volumică a levurilor în vin conform SM 303;
- concentrația esterilor conform PS-21-MI-GC-LI;
- concentrația alcoolilor superiori conform PS-21-MI-GC-LI;
- pH-ul și valoarea potențialului oxido-reducător, prin metoda potențimetrică la conductometru inoLab Cond7110;
- determinarea conținutului azotului amoniacal după metoda Conway-Bairn;
- determinarea numărului total de celule de microorganisme în biomasa acestora după metoda Goryaev;
- determinarea indicilor organoleptici conform Regulamentul CCD, HG 810 din 29.10.2015;
- identificarea levurilor și mucegaiurilor cu PIKA Weihenstephan™ FastOrange™ Yeast Agar;
- determinarea aminelor biogene prin metoda HPLC;
- concentrația acizilor organici conform RT 708, MA-F-AS312-05-ACIORG;

- determinarea glicerolului prin metoda enzimatică;
- concentrația aldehidei acetice conform PS-21-MI-GC-LI.

### 2.3.2. Analiza senzorială a vinurilor.

Analiza senzorială sau degustarea reprezintă una din modalitățile principale de apreciere a calității vinului. Pentru efectuarea evaluării senzoriale la fabrica de vinuri „JAVGURVIN” S.A. s-a creat comisia de degustare care constă din 5 degustători, cărora li s-a propus spre degustare vinurile materie primă obținute. De asemenea, vinurile materie primă obținute au fost degustate de către comisia de degustare din cadrul Întreprinderea de Stat „Centrul Național de Verificare a Calității Producției Alcoolice”, unde apoi vinurile materie primă au fost certificate și comercializate [1, 129].

### 2.3.3. Identificarea levurilor și mucegaiurilor cu PIKA Weihenstephan™ FastOrange™ Yeast Agar.

*Generalități:* PIKA Weihenstephan™ FastOrange™ Yeast Agar reprezintă un mediu nutritiv, care a fost elaborat în special pentru identificarea levurilor și mucegaiurilor din industria băuturilor și a produselor alimentare. Datorită compoziției sale speciale, activitatea levurilor și mucegaiurilor se intensifică în timp ce activitatea bacteriilor se suprimă. PIKA Weihenstephan™ FastOrange™ poate fi comercializat sub formă solidă și lichidă [177, 178].

*Principiul metodei.* constă în interacțiunea compușilor din mediu PIKA Weihenstephan™ FastOrange™ cu levurile sau mucegaiurile formând compuși care transformă culoarea violetă a mediului în galbenă sau pe suprafața solidă a mediului agar cresc formațiuni galbene (fig. 2.4).



Fig. 2.4. Colonii de levuri și mucegaiuri crescute pe mediul de cultură FastOrange™ [178]

*Modul de lucru:* Preventiv, butelia cu mediul PIKA Weihenstephan™ FastOrange™ se încălzește într-o baie de apă la temperatura de 90 ° C sau se introduce într-un cuptor cu microunde la putere mică pentru a topi agarul. Butelia introdusă în cuptorul cu microunde trebuie să fie deschisă pentru a se evita explozia ei înainte de încălzire.

Apoi, în dependență de starea mediului PIKA Weihenstephan™ FastOrange™ (lichidă sau solidă) lichidul experimentat se toarnă pe placa Petri (mediu solid) sau în eprubetă (mediu lichid), iar volumul trebuie să constituie 20 – 30 % din volumul total al plăcii Petri sau eprubetei.

După care, se adaugă aceeași cantitate de probă experimentală, care are temperatura de 55 °C, se amestecă ușor și se lasă să se răcească până la temperatura camerei. După răcire, probele se introduc la termostat pentru 2 – 7 zile. Schimbarea culorii din violet în galben confirmă, că în lichidul analizat sunt prezentate microorganisme patogene.

#### **2.3.4. Determinarea aminelor biogene prin metoda HPLC.**

*Generalități.* Determinarea aminelor biogene s-a efectuat prin metoda cromatografică cu fază lichidă. Prin această metodă s-au determinat 8 amine biogene: histamina, metilamina, etilamina, tiramina, fenilamina, putreescina, cadaverina și izoamilamina. În calitate de echipament s-a utilizat cromatograful cu fază lichidă – HPLC SPD – 20AV Shimadzu la ÎS „Centrul Național de Verificare a Calității Producției Alcoolice”.

*Principiul metodei.* În mediul alcalin, aminele biogene sunt transformate în derivați pseudo-indoli fluorescenți, prin derivare cu orto-ftaldialdehida și 2-mercaptoetanol. Derivații sunt separați prin cromatografie HPLC și detectați cu ajutorul spectrofluorimetrului.

*Modul de lucru.* Vinul se filtrează prin membrane cu porii de 0,45 μm și se adaugă sulfat acid de sodiu. Soluția de derivare, soluția tampon, probele pregătite pentru analiză și etaloanele de lucru, sunt introduse în flacoanele de sticlă de 2 mL și așezate în caruselul transportor/preparator. Pentru construirea curbei de etalonare se realizează un număr minim de 6 soluții etalon de referință, analizate în dublu. Ele se analizează la fel ca probele de vin. Pentru fiecare serie de analiză panta curbelor de etalonare. Volumul de injecție în coloana cromatografică a fost de 8 μL din toate probele. Debitul de eluție 0,6 mL/minut. Detecția spectrofluorimetrică: radiația de emisie 350 nm, radiația de excitație 445 nm. Calculul concentrațiilor s-a efectuat prin interpolarea valorilor picurilor de la probele de vinuri analizate, la gama de etalonare [43, 131].

#### **2.3.5. Determinarea acizilor organici prin metoda HPLC.**

*Generalități.* Prin această metodă se poate determina simultan acizii: tartric, lactic, malic și citric. În calitate de echipament s-a utilizat cromatograful cu fază lichidă – HPLC SPD – 20AV Shimadzu.

*Principiul metodei.* Din proba de vin filtrată prin filtru teflon acizii organici prin cromatografie HPLC. Detecția UV la lungimea de undă de 194 nm. Este necesar amestecul standard de acizi, pentru întocmirea curbelor de calibrare.

*Modul de lucru.* Proba de vin se filtrează prin filtru de teflon, porozitatea 0,45 μm. Se injectează cu seringă în aparat 20 μL vin filtrat, prin valva incl.

Pentru construirea curbei de calibrare se pregătesc soluții apoase de acizi, în intervalul de concentrație 0,01 – 0,90 %. Soluțiile se injectează în aparat și se întocmesc curbele de calibrare. Calibrarea se realizează prin determinarea ariei picului, în funcție de cantitatea de acizi injectată. Debitul de eluție 2 mL/min, timpul de retenție pentru fiecare acid: 0,91 min. pentru acidul tartric, 1,20 min. pentru acidul lactic, 1,44 min. pentru acidul citric. Detectarea acizilor în UV se efectuează la lungimea de undă de 194 nm [43, 131].

### **2.3.6. Determinarea glicerolului prin metoda enzimatică.**

*Generalități.* Dozarea glicerolului s-a efectuat prin metoda enzimatică. În calitate de echipament s-a utilizat spectrofotometrul PGT80.

*Principiul metodei.* Enzima glicero-kinaza catalizează fosforilarea glicerolului din vin cu ATP în glicerol-3-fosfat și formarea ADP, care este convertit în ATP prin reacția cu fosfoenol-piruvat în prezența enzimei piruvat-kinaza și formarea piruvatului. În final, piruvatul este redus la lactat de către NADH în prezența enzimei lactat-dehidrogenaza. NADH-ul care se consumă în timpul reacției este proporțională cu cantitatea din vin. Oxidarea NADH-ului se determină prin măsurarea absorbantei la lungimi de undă de 334 nm, 340 nm sau 365 nm.

*Modul de lucru.* Determinarea glicerolului se face direct din vin, după diluția prealabilă a vinului cu apă distilată, astfel ca glicerolul să se situeze între 30 și 500 mg/L. În cuve se iau 1 mL de soluție tampon, 0,1 mL soluție reducătoare de NADH, ATP și PEP, 0,1 mL vin, apă bidistilată 2,0 mL pentru proba martor și 1,9 mL pentru proba analizată și 0,01 mL suspensie de PK/LDH. Se agită minuțios și după 5 minute se măsoară adsorbanța, după care se adaugă suspensie de GK câte 0,01 mL și se agită. După 5-10 minute se măsoară adsorbanța probelor. Măsurătorile se repetă la fiecare 2 minute până când valorile adsorbanței rămân constante. Se determină diferența între probe și prin formula de calcul se determină conținutul de glicerol (g/L). Rezultatul obținut se înmulțește cu factorul de diluție [43, 131].

### **2.3.7. Determinarea aldehidei acetice.**

*Principiul metodei.* Etanalul (Aldehida acetică) se determină din vinul decolorat cu cărbune activ datorită culorii care variază de la verde la violet, care o formează cu nitro pentacianoferatul II de sodiu și piperidina. Intensitatea culorii formate se măsoară la 570 nm.

*Modul de lucru.* Într-un balon conic de 100 ml se iau aproximativ 25 ml de vin, se adaugă 2 g de cărbune activ. Se amestecă energic timp de câteva secunde, se lasă în repaus 2 minute, se filtrează printr-un filtru gofrat pentru a obține un filtrat limpede. Într-un balon conic de 100 ml se iau 2 ml de filtrat incolor, agitând se adaugă 5 ml de nitroprusiat de sodiu și 5 ml soluție de piperidină, se amestecă și imediat se trece în cuva spectrofotometrului cu drumul optic de 1 cm. Culoarea obținută care variază de la verde la violet se măsoară în raport cu un drum echivalent de

aer la lungimea de undă de 570 nm . Această culoare crește ca apoi rapid să scadă. Se ia ca valoare finală a absorbției, valoarea maximală obținută după aproximativ 50 secunde. Conținutul de etanal în lichidul analizat se citește de pe curba de etalonare. Notă. În cazuri excepționale, dacă în lichidul analizat se conține etanal liber e necesar în prealabil de a-l lega cu dioxidul de sulf. În acest scop în lichidul de analizat se adaugă un surplus de dioxid de sulf și se lasă pe câteva ore înainte de determinare.

În baloane cotate de 100 ml se iau succesiv 5, 10, 15, 20 și 25 ml de soluție -etalon. Se aduc la cotă cu apă distilată. În aceste soluții concentrația de etanal este corespunzător 40, 60, 120, 160 și 200 mg/l. Concentrația exactă a aldehidei acetice în soluțiile etalon se calculează în dependența de concentrația ei în soluția etalon de bază. Reprezentarea grafică a dependenței absorbției acestor soluții de concentrația aldehidei acetice este o dreaptă care trece prin origine [43, 131].

### 2.3.8. Prelucrarea statistică și matematică a datelor experimentale.

În lucrarea dată s-au utilizat modele statistice elaborate pe baza experienței active. Experiențele active constau din experimentele factorilor întregi și experimentul factorilor fracționari. Esența experimentului factorilor întregi constă în variația concomitentă a tuturor factorilor conform planului stabilit. Modelul matematic pentru acest caz e prezentat în formă de polinom liniar și se determină conform planului de tipul EFF7.

Valorile maxime și minime ale lui se notează  $X_1$  și  $X_2$  prin +1 și -1. Acest plan al experimentelor, de obicei, se notează în formă de matrice a planării. În evoluția a doua se notează valoarea variabilei fictive  $X_0 = +1$  necesară în continuare pentru calculul termenului liber a polinomului. Notarea nivelului superior și inferior al factorilor prin +1 și -1 corespunde codificării factorilor după formula [170]:

$$x_i = \frac{X_i - X_{i0}}{\Delta X_i} \quad (2.2)$$

unde:  $X_i$  – valoarea codificată a factorului  $i$  (în nivelul superior sau inferior);

$X_{i0}$  – nivelul zero al variabilei naturale;

$X_i$  – nivelul superior sau inferior al variabilei naturale;

$\Delta X_i$  – intervalul variației al variabilei naturale.

Cu ajutorul tabelului și după efectuarea experienței se determină coeficienții ecuației de regresie:

$$\hat{y} = b_0 + b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + b_3 \cdot x_3 \dots + b_n \cdot x_n \quad (2.3)$$

Alegerea corectă a centrului experimentului, intervalului și nivelelor variației factorilor are însemnătate decisivă la alcătuirea modelului matematic, deoarece scopul modelului matematic este optimizarea procesului tehnologic.

După crearea matricii planificării se efectuează experiențele. Deoarece asupra parametrului la ieșire influențează și perturbațiile, experimentul se efectuează de 3 ori pentru a obține m – valori ale parametrului la ieșire [178].

#### **2.4. Concluzii la capitolul 2.**

Obiectul de cercetare al prezentei teze îl constituie musturile din patru soiuri de struguri: Chardonnay, Sauvignon blanc, Aligote și Traminer recoltați de pe plantațiile fabricii de vin „JAVGURVIN” S.A. și vinurile materie primă obținute din soiurile respective.

În acest capitol a fost elaborată metodologia de studiu al fermentării alcoolice combinate la producerea vinurilor albe seci, vinurilor cu conținut corectat de alcool și vinurilor din struguri supracopți, precum și imobilizarea levurilor. De asemenea, s-a studiat factorii care influențează acumularea biomasei de levuri imobilizate. Metodologia selectată reprezintă un ansamblu de metode tradiționale și moderne, care se îmbină reciproc și adecvat în realizarea cercetărilor.

Utilizarea complexă a metodelor de cercetare îmbinate cu prelucrarea statistică și modelarea matematică a rezultatelor experimentale permit generalizarea rezultatelor, analiza complexă, formularea concluziilor și propunerilor pentru implementarea ulterioară în practica oenologică a acestora.



### 3. PROCESUL DE FERMENTAȚIE COMBINATĂ A MUSTULUI LA PRODUCEREA VINURILOR ALBE

#### 3.1. Factorii fizico – chimici ce influențează acumularea biomasei de levuri.

Analiza surselor bibliografice referitoare la imobilizarea celulelor de levuri a permis să conchidem, că această tehnică a devenit o practică importantă în domeniul vinicol pe parcursul ultimilor ani, ducând la creșterea performanței și a eficienței economice a proceselor fermentative.

Dintre metodele de imobilizare, păstrarea în spatele unei bariere semi-permeabile a microorganismelor în creștere s-a dovedit a fi optimală pentru sistemele cu greutate moleculară mare, care ar trebui să fie separate din efluent [66, 104].

Levurile uscate active (LUA) prezintă următoarele avantaje[44, 67]: se pot păstra active timp de mai mulți ani; sunt mai rezistente; intră rapid în fermentație, deoarece 10 g/hl levuri uscate corespund 25 milioane de levuri vii la mililitru de must; fermentarea mustului este uniformă și completă, cu randament maxim în alcool, conținut scăzut în acizi volatili și în aldehydă acetică și se pot utiliza mai multe sușe de levuri.

Reeșind din argumentele expuse mai sus, s-a decis a fi cercetată această tehnică de imobilizare a LUA din comerț la producerea vinurilor albe pe parcursul procesului de fermentație a mustului în scopul reducerii costurilor pentru procurarea lor.

Din aceste considerente, pentru realizarea obiectivelor propuse de a produce vinuri albe cu levuri imobilizate prin metoda păstrării în spatele unei bariere permeabile s-a studiat influența celor mai principali factori fizico-chimici: temperatura, concentrația în masă a zaharurilor inițială a mustului, concentrația de oxigen, cât și suprafața imobilizatorului.

Pentru a evita influența factorilor implicați asupra acumulării biomasei de levuri imobilizate, mustul de struguri din soiul Aligote a fost filtrat prin filtru cu cătuș pentru must MESH2500.



Fig. 3.1. Identificarea microorganismelor patogene în probele analizate

**\*Notă:** *Proba 1* – must inițial din soiul Aligote; *Proba 2* - must filtrat din soiul Aligote.

Mustul de struguri din soiul Aligote a fost supus analizei de identificare a prezenței microflorei indigene în mustul inițial și verificării mustului filtrat prin metoda de identificare a levurilor și bacteriilor cu PIKA Weihenstephan™ FastOrange™ Yeast Agar [177, 178]. Rezultatele obținute sunt prezentate în fig. 3.1.

Conform fig. 3.1, culoarea galbenă a probei 1 confirmă prezența de microorganisme patogene deoarece a avut loc transformarea culorii lichidului din violet în galben. Proba 2 și-a păstrat culoarea violetă pe parcursul analizei în comparație cu proba 1, ceea ce a asigurat efectuarea cercetărilor în continuare, și anume studierea influenței factorilor fizico-chimici asupra acumulării biomasei de LUA imobilizate în spatele unei bariere formate din membrană filtrantă cu diametrul porilor de 0,60 μm.

### **3.1.1. Acumularea biomasei de levuri imobilizate în dependență de temperatura de fermentare a mustului.**

În calitate de substrat pentru fermentația alcoolică s-a luat must proaspăt de struguri din soiul Aligote (a.r. 2011) cu concentrația în masă a: zaharurilor - 200 g/L, acizilor titrabili - 6,5 g/L, pH - 3,2 și conținutul de dioxid de sulf administrat de 100 mg/L.

Fermentația alcoolică s-a efectuat în recipiente din sticlă cu volumul mustului în fiecare de 2,5 litri. Pentru fermentare au fost utilizate LUA din specia *Saccharomyces cerevisiae*, sușa Oenoferm Freddo, doza 0,4 g/L, care au fost imobilizate în tuburi cu perete membranar permeabil (diametrul porilor 0,6 μm) și suprafața de contact a membranei cu mustul 50 cm<sup>2</sup>.

Fermentația s-a efectuat în termostat cu reglarea temperaturii și menținerea ei la valori de 15 °C, 20 °C și 28 °C. După fiecare 10 ore, tubul cu levuri a fost supus procedeelelor pentru determinarea cantității de biomasă de levuri obținute.

Din sursele literare bibliografice [44], se știe că, levurile din specia *Saccharomyces cerevisiae* aparține grupului mezofil, iar temperatura optimă a cineticii de creștere oscilează între 26 °C și 36 °C. De aceea, deplasarea cu câteva grade în jurul temperaturii optime de creștere influențează considerabil asupra vitezei de creștere, randamentului de biomasă obținut și compoziției biochimice a celulei levuriene.

Rezultatele determinărilor biomasei de levuri sunt prezentate în fig. 3.2.

Conform datelor prezentate în fig. 3.2 se observă, că 50 g/L de biomasă de levuri, se acumulează peste 20 ore la temperatura de 28 °C, iar la temperatura de 20 °C și la temperatura de 15 °C este necesar de 30 ore și respectiv 60 ore pentru aceeași cantitate de biomasă.

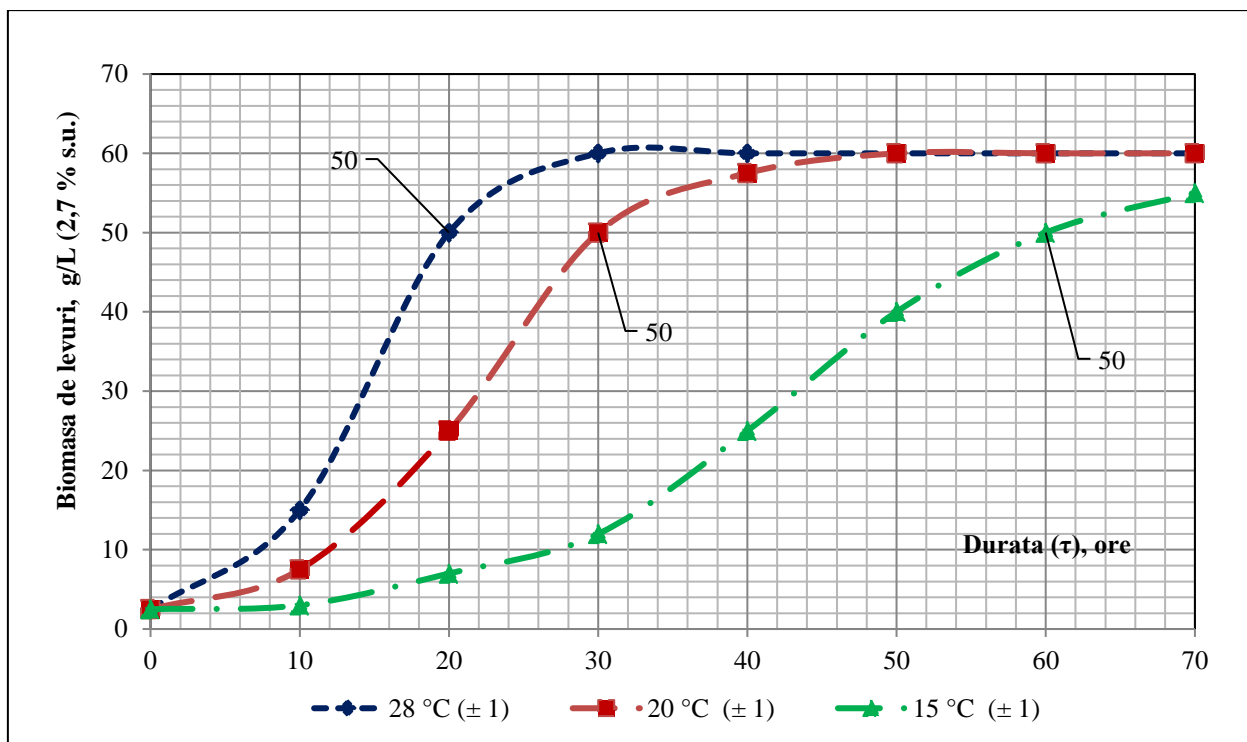


Fig. 3.2. Acumularea biomasei de levuri imobilizate în dependență de temperatura de fermentație a mustului din soiul Aligote (a.r. 2011)

Rezultatele obținute indică faptul că, temperatura de fermentare influențează considerabil asupra acumulării biomasei de levuri imobilizate și între acești doi factori există o relație directă.

În scopul confirmării dependenței dintre temperatura de fermentație și durata de acumulare a biomasei de levuri imobilizate conform tehnicii propuse s-a construit graficul din fig. 3.3.

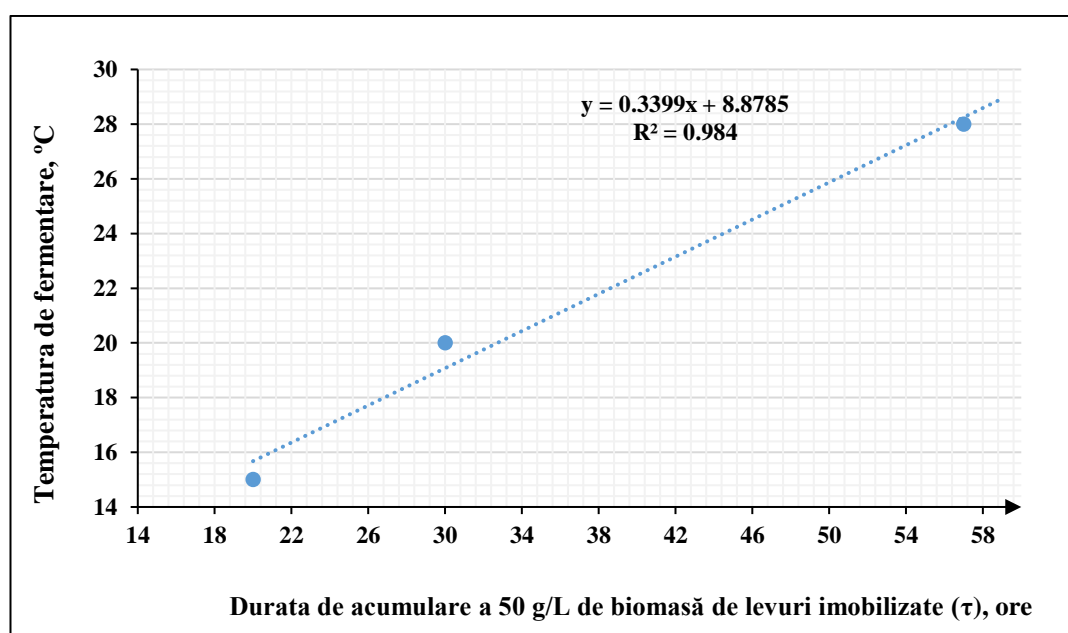


Fig. 3.3. Dependența dintre temperatura de fermentație și durata de acumulare a biomasei de levuri imobilizate

Analizând graficul obținut (fig. 3.3) se observă, că dependența studiată este corelativă și liniară, deoarece prin punctele graficelor se poate duce o linie dreaptă aproape de toate punctele, numită linie de regresie, iar valoarea coeficientului de corelare este  $R^2 = 0,984$ .

### **3.1.2. Evidențierea relației dintre concentrația în masă a zaharurilor în must și acumularea biomasei de levuri imobilizate.**

În practica oenologică se cunoaște, că pe măsura ce musturile au o concentrație în masă a zaharurilor mai mare, ritmul de fermentație scade, iar activitatea levurilor este mai încetinită și cu cât musturile sunt mai bogate în zaharuri presiunea osmotică este mai ridicată. În rezultat levurile pot să-și piardă apa de constituție și să se plasmolizeze, de aceea influența acestui factor este considerabil pentru acumularea biomasei de levuri imobilizate. Pentru ca levurile să depășească presiunea osmotică, ele trebuie să dezvolte o contrapresiune mai mare [44].

Pentru efectuarea experimentelor s-a luat must proaspăt din soiul Aligote (a.r. 2011) cu concentrația în masă a zaharurilor inițială 152 g/L și a acizilor titrabili 10,1 g/L și pH 3,05, apoi adăugând 25, 50 și 75 g/L de zahăr tos invertit, s-a efectuat corecția acidității titrabile ajustând-o la 9,5 g/L și pH - 3,1 în toate probele cercetate.

Fermentația alcoolică s-a desfășurat la temperatura  $20 \pm 1$  °C cu levuri imobilizate (sușă Oenoferm Freddo, doza 0,4 g/L) conform tehnicii propuse, utilizând tuburi cu perete membranar permeabil (diametrul porilor 0,6 μm) și suprafața de contact al membranei cu mustul 50 cm<sup>2</sup>, astfel fermentând fiecare probă până la concentrația în masă a zaharurilor  $30 \pm 1$  g/L. Volumul de must pentru fiecare probă a fost 2,5 L. Durata de fermentare alcoolică preponderent în faza logaritmică de fermentare a durat 60 ore. După fermentația alcoolică, tuburile cu levuri au fost supuse procedeelelor pentru determinarea cantității de biomasă de levuri obținute. Rezultatele sunt prezentate în fig. 3.4.

Presiunea osmotică a fost calculată folosind relația:

$$\rho \cdot V = n \cdot R \cdot T, \quad (3.1)$$

în care:

$\rho$  – presiunea osmotică, exprimată în atmosfere;

$V$  – volumul soluției, l;

$n$  – concentrația glucidelor (glucoza și fructoza) exprimată în molecule gram la litru de soluție;

$R$  – constanta universală a gazelor;

$T$  – temperatura absolută în grade Kelvin, adică 273 plus temperatura soluției în grade Celsius.

Astfel, vom determina că, la temperatura 20 °C și concentrația în masă a zaharurilor 152 g/L, presiunea osmotică va fi următoarea conform calculelor din formula 3.1:

$$P = \frac{152 \cdot 1,07 \cdot 0,082 \cdot 293}{180} = 21,6 \text{ atm}$$

iar la concentrația în masă a zaharurilor 152 g/L:

$$P = \frac{225 \cdot 1,135 \cdot 0,082 \cdot 293}{180} = 33,8 \text{ atm}$$

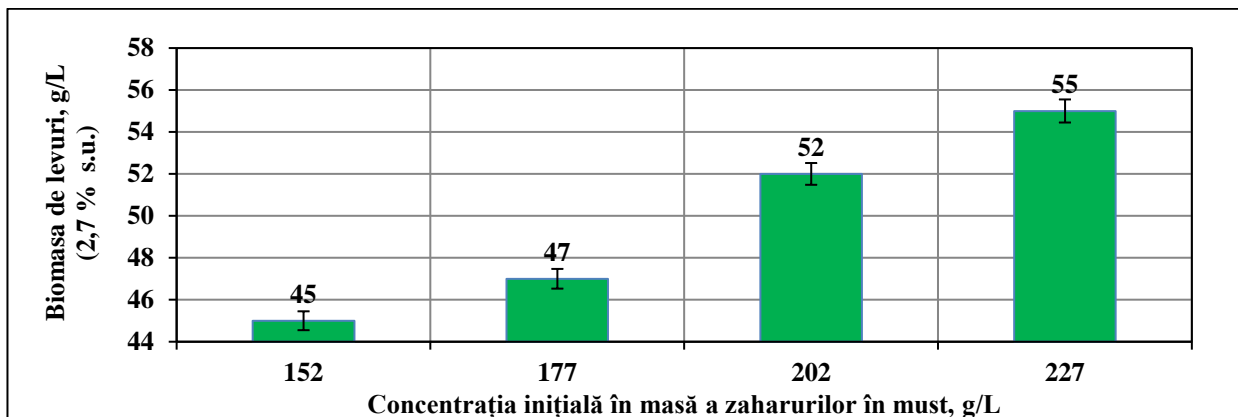


Fig. 3.4. Acumularea biomasei de levuri imobilizate în dependență de zaharitatea inițială a mustului din soiul Aligote (a.r. 2011)

Datele prezentate în fig. 3.4 indică, că diferența în acumularea biomasei de levuri este neînsemnată la concentrațiile în masă a zaharurilor de 152 g/L și 177 g/L și crește considerabil la concentrațiile în masă a zaharurilor de 202 g/L și 227 g/L. Aceasta se explică prin faptul că, diferențele presiunii osmotice dintre mediul mustului și imobilizator a contribuit la procesul de difuzie a nutriției, care a dus la creșterea biomasei de levuri.

Conform calculelor referitoare la valoarea presiunii osmotice la temperatura de 20 °C obținem 21,6 atm pentru concentrația în masă a zaharurilor 152 g/L și respectiv 34,38 atm la concentrația în masă a zaharurilor 227 g/L.

Astfel putem conchide, că imobilizatorul în procesul de fermentație alcoolică trebuie să fie plasat mai aproape de partea de jos a recipientului de fermentare.

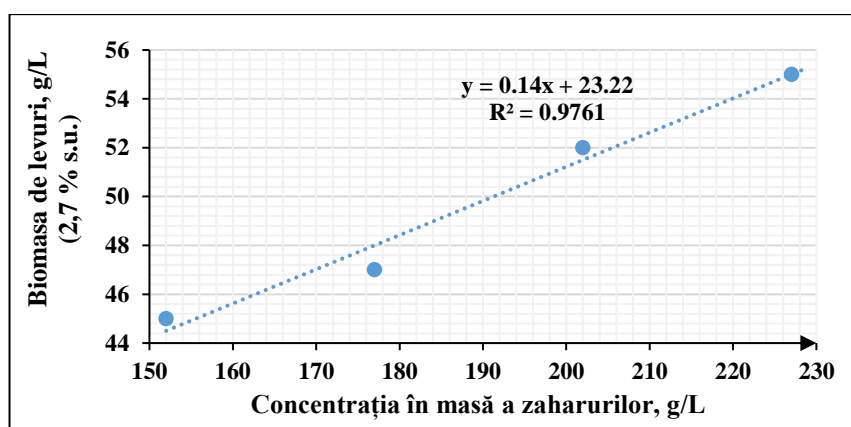


Fig. 3.5. Dependența dintre zaharitatea inițială a mustului și cantitatea de biomasă de levuri acumulată

### 3.1.3. Acumularea biomasei de levuri immobilizate în dependență de suprafața imobilizatorului.

Din literatură se cunoaște tehnica de imobilizare a levurilor în algași la producerea vinurilor spumante în scopul eliminării etapei de remuaj. Tehnica de imobilizare în spatele unei bariere permeabile este utilizată pentru prima dată în oenologie la procesul de fermentație a mustului pentru fabricarea vinurilor albe, de aceea nu se cunoaște dacă suprafața și forma imobilizatorului au o influență în activitatea levurilor [9, 13].

Pentru realizarea acestui scop s-a modificat suprafața imobilizatorului trecând de la forma tubulară la forma dreptunghiulară. Dimensiunile imobilizatoarelor studiate sunt prezentate în fig. 3.6.

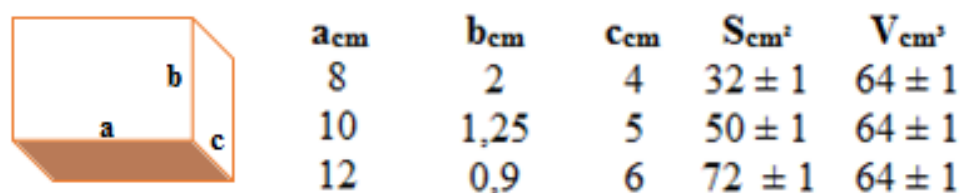


Fig. 3.6. Dimensiunile imobilizatoarelor utilizate la determinarea influenței suprafeței imobilizatorului asupra acumulării biomasei de levuri

Experimentele s-au realizat cu mustul de struguri din soiul Aligote (a.r. 2011) utilizând LUA (sușa Oenoferm Freddo) în doză de 0,4 g/L. Concentrația în masă a zaharurilor a fost de 200 g/L, iar temperatura de fermentare a mustului  $20 \pm 1$  °C. Fermentația alcoolică s-a desfășurat în recipiente din sticlă cu volumul 2,5 litri pentru fiecare probă. Durata de fermentare a fost 50 ore. După fermentația alcoolică, tuburile cu levuri au fost supuse procedeelelor pentru determinarea cantității de biomasă de levuri obținute.

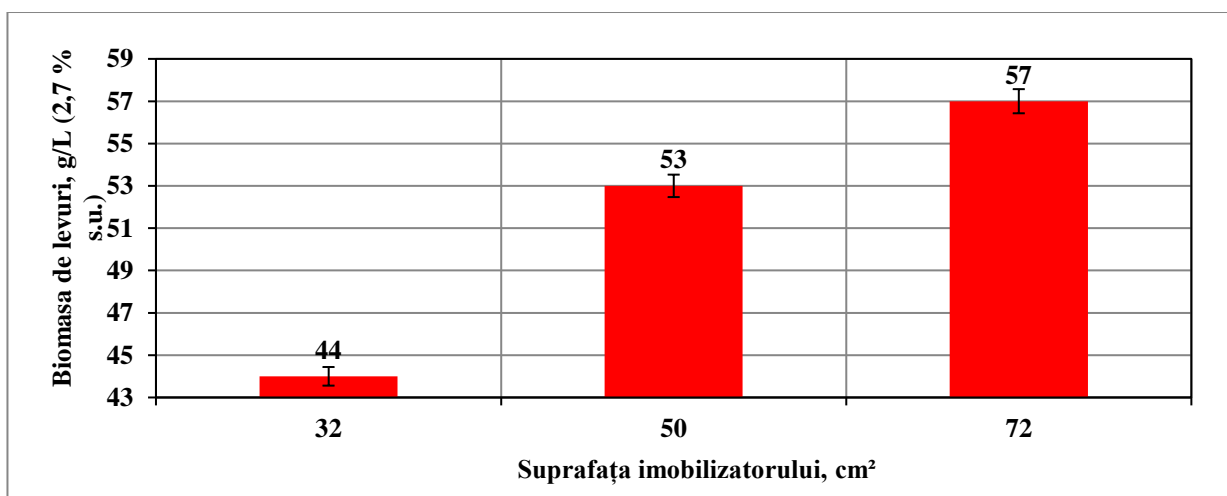


Fig. 3.7. Acumularea biomasei de levuri immobilizate în dependență de suprafața imobilizatorului la fermentarea mustului din soiul Aligote (a.r. 2011)

Din fig. 3.7 se observă, că acumularea biomasei de levuri nu este direct proporțională cu majorarea suprafeței de contact a imobilizatorului. Dacă la suprafața de contact al imobilizatorului de 32 cm<sup>2</sup> s-a acumulat 44 g/L, apoi la suprafața de 72 cm<sup>2</sup>, practic de 2,25 ori mai mare s-a acumulat 57 g/L biomasă de levuri sau cu 1,3 ori mai mult. Se presupune, că există o diferență în viteza acumulării biomasei și viteza de difuzie a glucidelor în imobilizator. Din aceste considerente concluzionăm, că suprafața imobilizatorului tot este importantă la realizarea practică a metodologiei propuse de imobilizare a LUA.

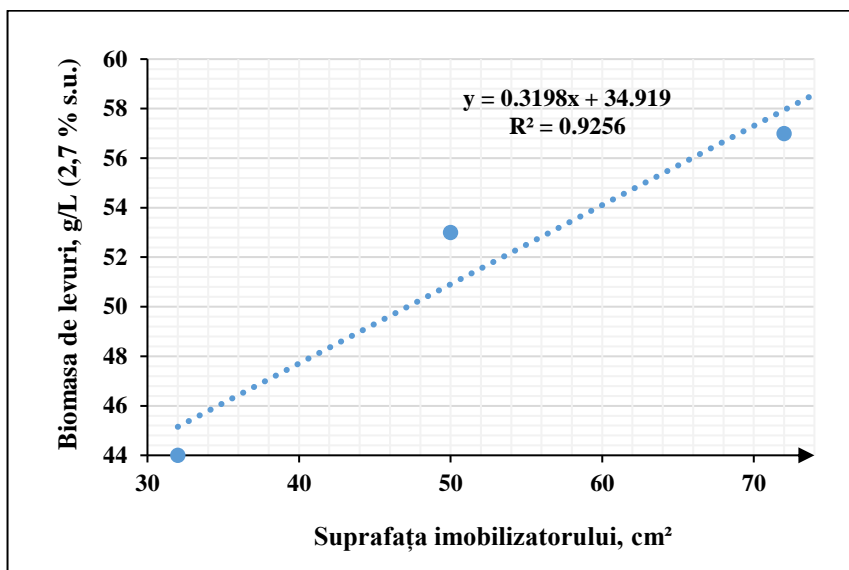


Fig. 3.8. Dependența dintre suprafața imobilizatorului și cantitatea biomasei acumulate de levuri.

Conform graficului de dependență (fig. 3.8) dintre suprafața imobilizatorului și cantitatea de biomasă acumulată de levurile imobilizate conform tehnicii propuse valoarea coeficientului de corelare constituie  $R^2 = 0,9256$ , este mai mică de 0,9500, deci nu prezintă interes pentru prelucrarea matematică.

#### 3.1.4. Influența oxigenului asupra acumulării biomasei de levuri imobilizate.

Din literatură se cunoaște, că levurile au nevoie de oxigen pentru a se înmulți și activa, iar anaerobioza îndelungată duce la moartea levurilor. Se știe, că oxigenul este blocat în masa mustului prin acțiunea enzimelor, de unde este eliberat treptat. Pe măsura ce oxigenul aflat în must este consumat, multiplicarea levurilor încetinește și celulele deja formate trec la metabolizarea glucidelor de unde își iau oxigenul. Pentru a sintetiza 1 g de substanță uscată, levurile în condiții aerobe consumă 4 g de zaharuri, iar în condiții anaerobe 100 g de zaharuri, deci zaharurile servesc nu numai ca hrană pentru levuri, dar și ca sursă de energie. De aceea este necesar de a satisface cerințele de oxigen ale levurilor la etapa inițială [5, 6, 10, 44].

Din cele expuse mai sus reiese, că dozarea oxigenului în tubul cu levuri immobilizate poate influența semnificativ creșterea biomasei de levuri în immobilizator și scopul cercetărilor a fost de a determina impactul oxigenului asupra acumulării biomasei de levuri.

Pentru realizarea scopului propus s-a folosit mustul proaspăt de struguri din soiul Aligote (a.r. 2011) cu concentrația în masă a zaharurilor 200 g/L, utilizând LUA (sușa Oenoferm Freddo) immobilizate conform tehnicii propuse în doză de 0,4 g/L. Temperatura de fermentație a mustului este  $20 \pm 1$  °C, iar durata de 50 ore.

Fermentația alcoolică s-a desfășurat în recipiente din sticlă cu volumul 2,5 litri pentru fiecare probă cu dozarea oxigenului de 2, 4, 6 și 12 mg/L·min cu ajutorul compresorului de laborator. După fermentația alcoolică, tuburile cu levuri au fost supuse procedeelelor pentru determinarea cantității de biomasă de levuri obținute. Rezultatele obținute sunt prezentate în fig. 3.9.

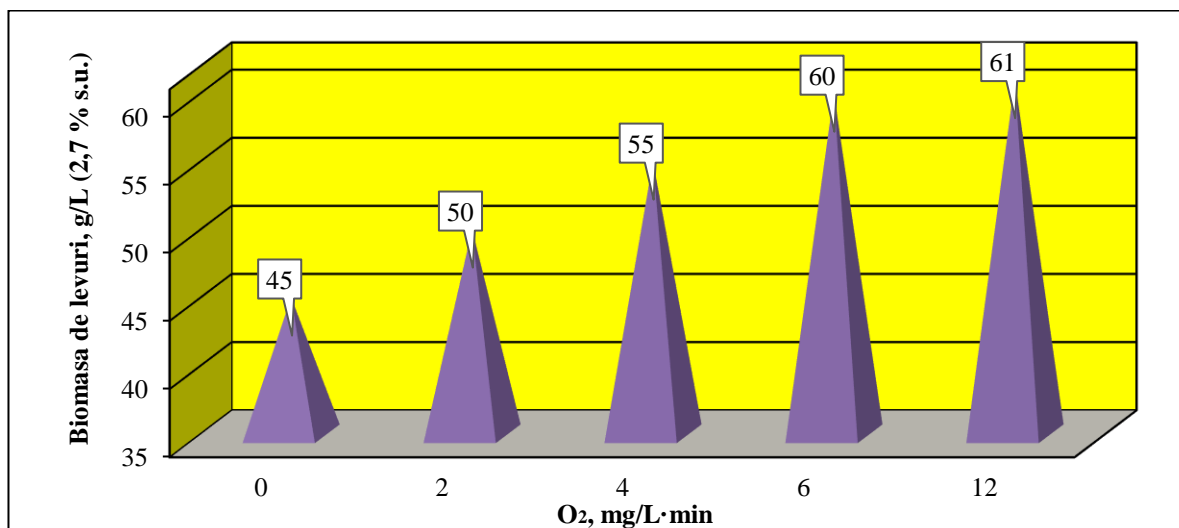


Fig. 3.9. Acumularea biomasei de levuri immobilizate în dependență de dozarea oxigenului la fermentarea mustului din soiul Aligote (a.r. 2011)

Din fig. 3.9 se observă, că creșterea biomasei de levuri în condiții aerobe și anaerobe este esențială cu o pondere de 24,6 %. Dozarea de 6 mg O<sub>2</sub>/L·min și 12 mg O<sub>2</sub>/L·min nu au influențat considerabil, diferența fiind doar de 1 g/L biomasă de levuri, iar doza de oxigen fiind dublă, ceea ce indică, că concentrațiile de oxigen mai mari de 6 mg O<sub>2</sub>/L·min nu aduc un aport major la acumularea biomasei de levuri immobilizate.

Pondere procentuală dintre celelalte concentrații de oxigen față de 6 mg O<sub>2</sub>/L·min este 16,67 % pentru doza de 2 mg O<sub>2</sub>/L·min și 8,3 % pentru doza de 4 mg O<sub>2</sub>/L·min. Astfel, putem conchide, că doza de 6 mg O<sub>2</sub>/L·min este optimă pentru desfășurarea activității LUA în immobilizator.

Pentru veridicitatea experiențelor efectuate s-a construit graficul de dependență dintre doza de oxigen și creșterea biomasei de levuri immobilizate conform tehnicii propuse, care este prezentat în



fig. 3.10. Deoarece diferența acumulării biomasei de levuri la dozele de 6 mg O<sub>2</sub>/L·min și 12 mg O<sub>2</sub>/L·min nu este esențială, ultima experiență a fost exclusă din următoarele experimente.

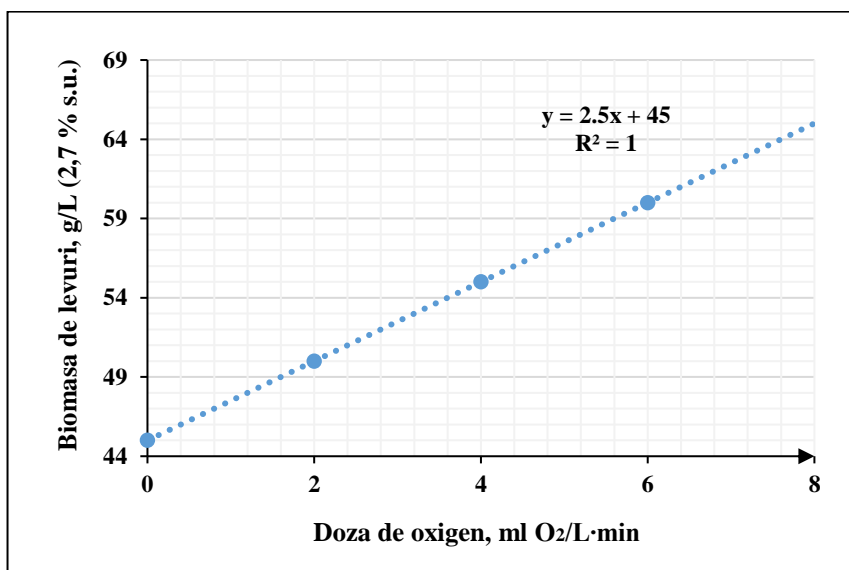


Fig. 3.10. Dependența dozării de oxigen și cantitatea de biomasă de levuri acumulată

Graficul dependenței (fig. 3.10) dozării de oxigen și cantitatea biomasei acumulate de levurile imobilizate conform tehnicii propuse reprezintă o linie liniară și corelativă, iar valoarea coeficientului de corelare este  $R^2 = 1$ , ceea ce confirmă faptul, că dozarea de oxigen până la doza de 6 mg O<sub>2</sub>/L·min este importantă pentru activitatea levurilor imobilizate conform tehnicii propuse.

În baza cercetărilor efectuate referitoare la influența factorilor fizico-chimici asupra acumulării biomasei de levuri imobilizate prin tehnica propusă se poate constata importanța deosebită a temperaturii de desfășurare a fermentației, concentrației inițiale în masă a zaharurilor și dozarea de oxigen.

### 3.1.5. Prelucrarea matematică a rezultatelor experimentale.

Condițiile pentru optimizarea creșterii biomasei de levuri imobilizate au fost prelucrate statistic prin analiza factorială utilizând metoda suprafeței de răspuns conform planului de tipul EFF7. Nivelele variației factorilor de influență și codurile lor sunt prezentate în tabelul 3.1.

Tabelul 3.1. Codificarea și limitele de variație a parametrilor de influență la acumularea biomasei de levuri

Codul	Factorul de influență	Min. (-)	Centrul	Max. (+)
X <sub>1</sub>	Temperatura	15	20	25
X <sub>2</sub>	Concentrația în masă a zaharurilor, g/L	152	177	202
X <sub>3</sub>	Oxigen, mg/L·min	2	4	6

Pentru realizarea experiențelor planificate în tabelul 3.2 s-a folosit must proaspăt de struguri din soiul Aligote (a.r. 2011) cu concentrația în masă a zaharurilor 152 g/L, utilizând LUA (sușă Oenoferm Freddo) imobilizate, doza de 0,4 g/L. Fermentația alcoolică s-a desfășurat în recipiente din sticlă cu volumul 2,5 litri pentru fiecare probă. Procesul de fermentație a fost unul combinat, aerob – în tuburi și anaerob în mediul mustului. După fermentația alcoolică s-au determinat următoarele răspunsuri ale sistemului:  $Y_1$  – concentrația alcoolică, % vol.;  $Y_2$  – cantitatea biomasei de levuri obținute, g/L;  $Y_3$  – concentrația în masă a zaharurilor, g/L.

Aprecierea parametrilor statistici a fost realizată, efectuând câte 3 experiențe în aceleași condiții. În ultimul caz rezultatul cu abaterea cea mai mare sau cea mai mică a fost abandonat.

Tabelul 3.2. Matricea de planificare a experimentului, rezultatele medii și valorile dispersiei liniare la majorarea biomasei de levuri imobilizate la producerea vinurilor albe seci

Nr.	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$Y_1$	$Y_2$	$Y_3$
1.	+	+	+	11,1	57,3	2,9
2.	-	+	+	11,6	58,3	3,4
3.	+	-	+	10,8	55,0	3,1
4.	-	-	+	10,9	53,3	3,6
5.	+	+	-	11,1	54,0	2,9
6.	-	+	-	11,5	52,3	3,4
7.	+	-	-	10,4	51,7	2,9
8.	-	-	-	10,8	50,0	3,6

În baza datelor din tabelul 3.2 au fost calculate ecuațiile regresionale (tabelul 3.3) și apreciate valorile criteriilor de validitate  $b_{crit}$ , pentru fiecare ecuație de regresie în parte.

De asemenea, fiecare ecuație a fost verificată conform criteriilor Student și Fisher.

Concentrația alcoolică ( $Y_1$ ) a probelor experimentale obținute cu levuri imobilizate prin tehnica propusă este influențată pozitiv de factorul  $X_1$  și  $X_2$ , iar negativ de complexul lor ( $X_1X_2$ ).

Tabelul 3.3. Valorile criteriilor Student și Fisher

Nr. Ord	Ecuația de regresie	$b_{crit}$	Criteriul Student	Criteriul Fisher
			$\sigma_{tab}=2.31$	$F_{tab}=19.344$
1	$Y_1=11,03+0,18X_1+0,07X_2-0,05X_1X_2$	0,04	0,33	0,370874
2	$Y_2=53,99+0,51X_1+1,49X_2+1,99X_3$	0,27	0,28	0,027267
3	$Y_3=3-0,28X_1-0,08X_2+0,99 X_1X_2 X_3$	0,026	0,38	0.000001

Cantitatea de biomasă de levuri immobilizate ( $Y_2$ ) este influențată pozitiv de toți factorii analizați ( $X_1, X_2, X_3$ ).

Concentrația în masă a zaharurilor este influențată negativ de factorii  $X_1$  și  $X_2$ , iar pozitiv de către complexul  $X_1X_2X_3$ .

Experimental a fost efectuată optimizarea procesului de fermentare, determinând valorile celorlalte răspunsuri ale sistemului. Rezultatele optimizării sunt reprezentate în tabelul 3.4.

Tabelul 3.4. Rezultatele optimizării desfășurării procesului de fermentație combinată a mustului din soiul Aligote (a.r. 2011)

Factori codificați		Numărul experiențelor			
$X_i$	$\Delta x_i$	1	2	5	6
$X_1$	1 (°C)	16	15	14	13
$X_2$	5 (g/L)	200	195	190	185
$X_3$	2 (mg/L·min)	8	6	4	2
$Y_1$		11,10	<b>11,60</b>	11,50	11,10
$Y_2$		57,30	<b>58,30</b>	52,30	54,00
$Y_3$		2,90	<b>3,40</b>	3,40	2,90

Pentru optimizarea procesului de fermentație combinată a mustului din soiul Aligote (a.r. 2011) s-au efectuat 6 experiențe în care  $\Delta x_i$  pentru  $X_1$  a constituit 1 °C,  $X_2$  - 5 g/L și  $X_3$  - 2 mg/L·min, iar rezultatele optimizării (tabelul 3.4) indică, că la experiența 2 s-au obținut răspunsuri maxime ( $Y_1, Y_2, Y_3$ ), ceea ce confirmă, că procesul de fermentare combinată a mustului la producerea vinurilor albe seci cu levuri immobilizate după tehnica propusă trebuie să se efectueze la temperatura de 15 °C, concentrația inițială în masă a zaharurilor 195 g/L și dozarea de oxigen 6 mg/L·min.

În urma analizei dependențelor dintre factorii fizico-chimici și creșterea biomasei de levuri immobilizate conform tehnicii propuse, impactul este astfel: dozarea de oxigen ( $O_2$ ) > temperatura de fermentare ( $T, ^\circ C$ ) > concentrația inițială în zaharuri ( $Z_0$ ) > suprafața imobilizatorului ( $S_i$ ).

În baza rezultatelor obținute referitor la influența factorilor fizico-chimici asupra acumulării biomasei de levuri prin tehnica propusă se recomandă de desfășurat procesul de fermentație combinată a mustului la temperatura de  $15 \pm 1$  °C, concentrația în masă a zaharurilor inițială a mustului  $195 \pm 5$  g/L și dozarea de oxigen  $6 \pm 2$  mg  $O_2$ /L·min.

### 3.2. Studiul procedului de obținere a biomasei de levuri uscate active la fermentația alcoolică a mustului.

Desfășurarea fermentației alcoolice prin metabolizarea integrală a zaharurilor fermentescibile în alcool etilic este principalul obiectiv.

În prezent, întreprinderile vinicole utilizează levurile uscate active, care dau posibilitatea de dirijare a procedului de fermentație alcoolică cu randament maxim în alcool, conținut scăzut în acizi volatili și aldehydă acetică, iar cheltuielile de procurare sunt ridicate.

De asemenea, se cunoaște, că levurile în condiții aerobe transformă zaharurile în dioxid de carbon, apă, energie și biomasă, iar în condiții anaerobe în alcool etilic, dioxid de carbon și produși secundari.

Reieșind din cele expuse, scopul cercetărilor date este de a studia acumularea biomasei de levuri imobilizate în spatele unei barieri, în condiții de laborator și industriale, astfel ca levurile din imobilizator să fie regenerate și utilizate din nou pentru fermentarea mustului.

#### 3.2.1. Obținerea biomasei de levuri uscate active în condiții de laborator.

În condiții de laborator au fost confecționate tuburi perforate de polietilenă (fig. 2.2) pentru imobilizarea levurilor uscate active comerciale sușa *Oenoferm Freddo* în scopul studierii acumulării biomasei de levuri imobilizate, cineticii fermentării alcoolice și concentrației alcoolice obținute în vinurile materie prime produse.

Realizarea fermentației alcoolice a mustului (fig. 3.11) s-a desfășurat într-un recipient de 5 L la temperatura de 14...16 °C, în care s-a introdus tubul de polietilenă cu diferite cantități de levuri *Oenoferm Freddo* și lizozima 10 mg/L pentru a evita infectarea levurilor cu bacterii sălbatice în imobilizator.

Experimentele au fost planificate conform planului prezentat în tabelul 3.5. Înainte de a fi introdus, tubul cu levuri a fost activat în must cald la temperatura de 37 °C timp de 15 – 20 min.

Tabelul 3.5. Fermentarea mustului din soiul Chardonnay (a.r. 2011) în condiții aerobe și anaerobe cu diferite doze de LUA

№ probei	Masa de levuri în tub, g/5L	Doza de oxigen, mg O <sub>2</sub> /L·min
Proba 1	0,75 ± 0,1	-
Proba 2	1,25 ± 0,1	-
Proba 3	2,00 ± 0,1	-
Proba 4	2,00 ± 0,1	4
Proba 5	2,00 ± 0,1	6
Proba 6	2,00 ± 0,1	10

Caracteristica indicilor inițiali fizico-chimici a mustului din soiul Chardonnay (a. r. 2011) este prezentată în tabelul 3.6.

Tabelul 3.6. Indicii fizico-chimici a mustului din soiul de Chardonnay (a. r. 2011)

Concentrația în masă a zaharurilor, g/L	Concentrația în masă a acidității titrabile, g/L	pH	Valoarea potențialului redox, mV
227,0 ± 0,5	6,90 ± 0,10	3,15	214

Procesul de fermentare a mustului Chardonnay (a.r. 2011) cu utilizarea levurilor uscate active Oenoferm Freddo immobilizate în tuburi de polietilenă este reprezentat grafic în figura 3.11. Monitorizarea procesului de fermentare s-a efectuat zilnic, determinându-se concentrația în masă a zaharurilor și temperatura de fermentare.

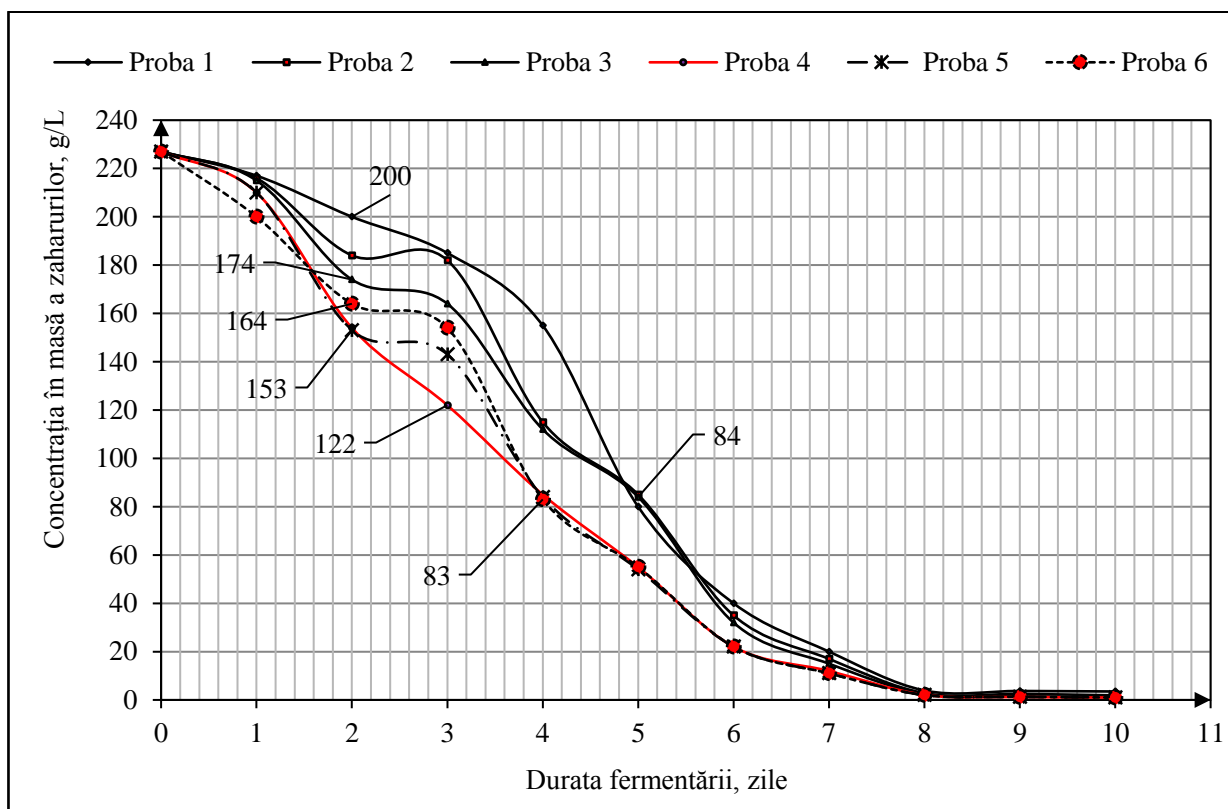


Fig. 3.11. Dinamica fermentației zaharurilor în mustul din soiul Chardonnay (a.r. 2011) cu utilizarea levurilor uscate active Oenoferm Freddo immobilizate în tuburi de polietilenă.

Din datele prezentate în fig. 3.11 se observa că, procesul de fermentație alcoolică a decurs în 7-10 zile. În primele două zile, concentrația în masă a zaharurilor a scăzut cu 63 g/L pentru proba 6 cu dozare de oxigen 10 mg/L·min, iar probele 4 și 5 concentrației în masă a zaharurilor s-a micșorat cu 74 g/L. În condiții anarobe, în primele două zile s-au consumat zaharuri de la 27 g/L (proba 3) până la 53 g/L (proba 1). Datele obținute ne confirmă faptul, că a avut loc multiplicarea levurilor și intrarea în faza tumultoasă.

Din fig. 3.11 se observă, că în condiții aerobe în a 4-a zi conținutul zaharurilor nefermentate este de 83 g/L, iar în condiții anaerobe în a 5-a zi, ceea ce demonstrează faptul că tubul cu levuri immobilizate trebuie să fie utilizat doar în faza logaritmică de fermentație, deoarece, spre sfârșitul procesului de fermentație, alcoolul care se formează în mediu influențează asupra puterii de

fermentare a levurilor, care scade treptat și metabolizează cantități din ce în ce mai mici de zaharuri. Levurile se reproduc din ce în ce mai greu și o parte din celule mor.

Analizând dinamica fermentării zaharurilor în probele de vin cu dozare de oxigen din graficul prezentat în fig. 3.11 se observă o scădere bruscă a zaharurilor, ce se datorează multiplicării rapide a levurilor în primele două zile de fermentație. Un rol deosebit de important asupra multiplicării acestora a avut oxigenul, care a fost dozat în interiorul tubului cu levuri. În timp ce zaharurile aflate în masa mustului sunt consumate, levurile în tub își încetează activitatea de fermentație (efectul Pasteur), dar nu și multiplicarea.

Pentru determinarea biomasei de levuri pure s-au realizat următoarele etape tehnologice (fig. 3.12), iar rezultate sunt prezentate în tabelul 3.7.

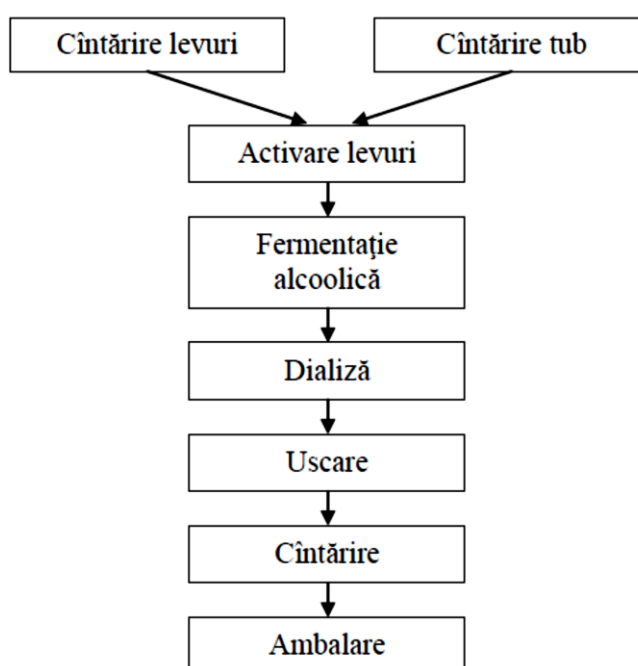


Fig. 3.12. Schema tehnologică de obținere a biomasei de levuri pure

Tabelul 3.7. Acumularea biomasei în procesul de fermentație alcoolică

№	Masa tubului înainte de fermentare, g	Masa totală a levurilor, g	Masa tubului după fermentare, dializă și uscare, g	Biomasa acumulată, g
1.	41,61 ± 0,1	0,75 ± 0,1	43,40 ± 0,1	0,82 ± 0,1
2.	42,51 ± 0,1	1,25 ± 0,1	45,10 ± 0,1	1,34 ± 0,1
3.	42,49 ± 0,1	2,00 ± 0,1	46,12 ± 0,1	2,38 ± 0,1
4.	42,20 ± 0,1	2,00 ± 0,1	44,89 ± 0,1	2,69 ± 0,1
5.	42,15 ± 0,1	2,00 ± 0,1	45,19 ± 0,1	3,04 ± 0,1
6.	42,18 ± 0,1	2,00 ± 0,1	45,58 ± 0,1	<b>3,40 ± 0,1</b>

Din tabelul 3.7 se observă, că cantitatea de biomasă acumulată în condiții anaerobe în proba 3 este cu 65,54 % mai mare decât în proba 1. Datele din tabelul 3.7 ne demonstrează că majorarea dozei de oxigen de la 4 mg/L·min până la 10 mg/L·min nu aduce la acumularea esențială a biomasei de levuri, dar poate să aducă la pierderi de substanțe aromatice.

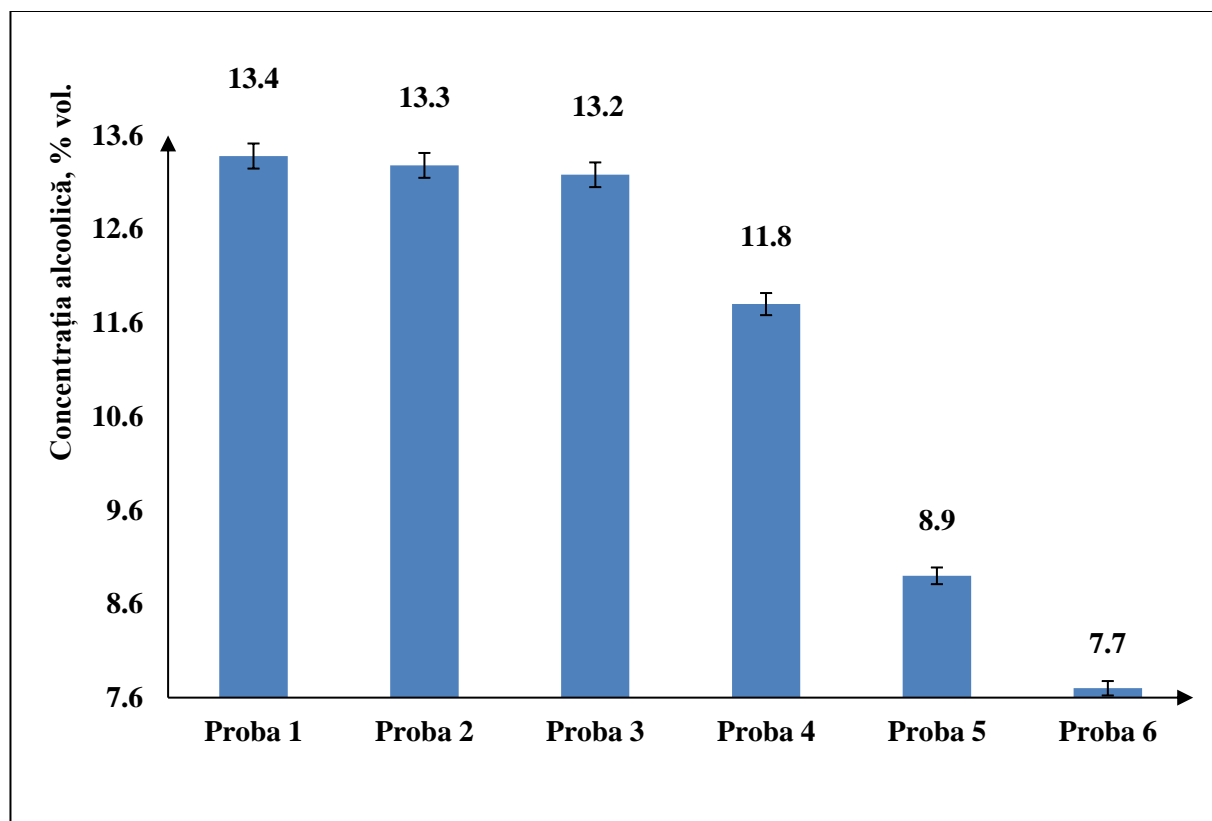


Fig. 3.13. Concentrația alcoolică în vinurile albe seci Chardonnay (a.r. 2011) obținute cu utilizarea levurilor uscate active Oenoferm Freddo immobilizate în tuburi de polietilenă

Concentrația alcoolică (fig. 3.13) obținută în vinuri la fermentarea anaerobă este mai mare decât la fermentarea aerobă. Aceasta se datorează faptului că, în cazul dozării oxigenului concomitent cu procesul de fermentație s-a desfășurat și procesul de respirație, iar o parte din zaharuri prezente în must au fost consumate la respirație, astfel desfășurându-se o fermentație combinată. Procesul de fermentare combinat a mustului poate fi utilizat la producerea vinurilor cu concentrația alcoolică scăzută.

### 3.2.2. Obținerea biomasei de levuri uscate active în condiții industriale.

Acumularea biomasei de levuri la fermentarea mustului și reutilizarea ei în procesele tehnologice au stat la baza cercetărilor multor savanți din SUA, Federația Rusă, Republica Moldova ș.a. Această biomasă de levuri poate fi utilizată în industria vinului, alcoolului etilic ș.a. La fabricarea vinurilor se obține autolizatul de levuri prin diferite procedee care se utilizează în

oenologie pentru îmbogățirea vinurilor cu substanțe biologice active ale levurilor, eliminând unele cerințe exagerate la păstrarea vinurilor și diminuând considerabil termenul de fabricare a lui [8].

Scopul principal al cercetării îl reprezintă obținerea unei cantități maxime de biomasă de levuri pure în condiții industriale.

Este cunoscut faptul că, în vinificație mustul de struguri nu se pasteurizează înainte de a fi introdus în fluxul tehnologic și conține o microfloră de levuri și bacterii sălbatice, iar efectuarea fermentării alcoolice prin procedee tradiționale dezvoltă aceste microorganisme, care influențează negativ calitatea vinurilor obținute.

Procedeul elaborat constă în realizarea fermentării alcoolice a mustului într-un mediu izolat de pereții membranari permeabili cu diametrul porilor 0,60  $\mu\text{m}$  simultan cu acumularea biomasei de levuri într-un immobilizator cu pătrunderea substanțelor nutritive micro - și macromoleculare, precum și a glucidelor pentru formarea alcoolilor și substanțelor de fermentare, dar nu și multiplicarea microflorei indigene.

Pentru a evita influența microflorei indigene asupra acumulării biomasei de levuri immobilizate, mustul de struguri a fost filtrat prin filtru cu cătuș pentru must MESH2500.

În fig. 3.14 este propusă schema instalației pentru obținerea levurilor pure prin immobilizare în procesul de fermentare alcoolică a mustului (2) destinată producerii vinurilor prevede prepararea unei mase de levuri pure active cu concentrația de 4 mln de celule/mL și conținutul în zaharuri a mediului nutritiv de 8 – 9 %. Biomasă de levuri uscate active a fost introdusă într-un sac (3) din membrană permeabilă (4) cu diametrul porilor 0,60  $\mu\text{m}$  cu administrarea lizozimei 10 mg/L. Conform fig. 3.14, pentru a asigura un proces fermentativ constant, sacul este menținut în partea de jos a rezervorului cu ajutorul greutăților de 1 kg (5) atașate de partea inferioară a acestuia cu dozarea de oxigen în doză de 6 mg  $\text{O}_2/\text{L}\cdot\text{min}$  în mediul biomasei de levuri immobilizate pe parcursul a 48 ÷ 72 ore, astfel asigurând procesul de respirație a lor. După finisarea procesului de fermentație alcoolică tumultoasă a mustului, sacul cu biomasă de levuri este extras din vinul materie obținut, iar apoi este introdus în alt rezervor pentru fermentația alcoolică a unui alt lot de must repetând operația până la concentrația 40 ÷ 60 mln de celule/mL, iar rezultatele obținute sunt reflectate în tabelul 3.8 și 3.9.

În scopul determinării numărului de utilizări a levurilor immobilizate pentru fermentarea alcoolică a diferitor loturi de musturi s-a parcurs la fermentația de 8 ori cu același immobilizator a mustului din soiul Chardonnay (a.r. 2012) cu indicii fizico-chimici prezentați în tabelul 3.8.



Tabelul 3.8. Indicii fizico-chimici ai mustului din soiul Chardonnay cu obținerea biomasei de levuri uscate active în condiții de producere (a. r. 2012)

№	Indicii fizico-chimici	Valoarea indicilor
1.	Concentrația în masă a zaharurilor, g/L	210,00 ± 0,02
2.	Concentrația în masă a acizilor titrabili, g/L	7,0 ± 0,1
3.	pH	3,17 ± 0,10
4.	Potențialul oxido-reducător (E <sub>H</sub> ), mV	214,5 ± 0,2

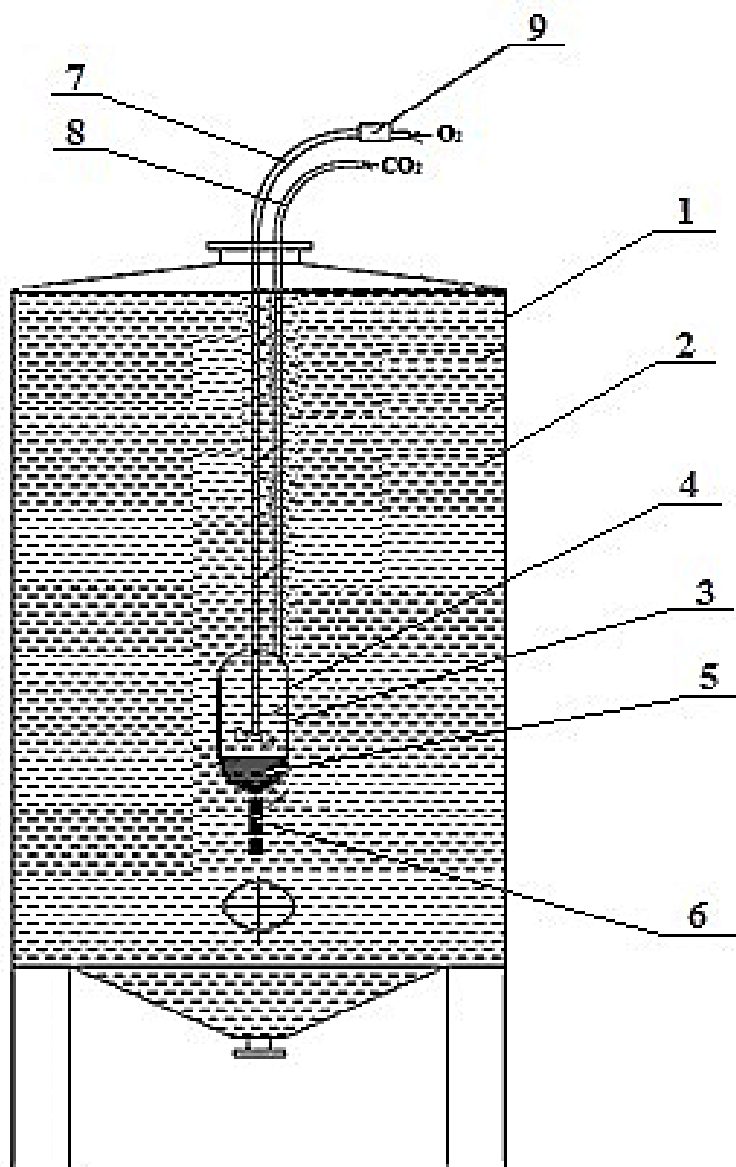


Fig. 3.14. Schema instalației de fermentație alcoolică a mustului cu utilizarea levurilor uscate active în sac din membrane permeabile cu diametrul porilor 0,60 μm

\*Notă: 1 - rezervor tehnologic; 2 - must; 3 - sac; 4 - membrană permeabilă; 5 - biomasa de levuri uscate active; 6 - greutate; 7 - conductă de oxigen; 8 - conductă de dioxid de carbon; 9 - instalația de dozare a oxigenului DosiOx QX2.

Rezultatele obținute sunt reflectate în tabelul 3.9. Acest experiment a fost repetat până când în sac s-a acumulat concentrația de 60 mln de celule/mL.

Tabelul 3.9. Indicii fizico-chimici ai vinurilor albe seci Chardonnay (a.r. 2012) obținute cu levuri imobilizate în condiții de producere

№	Indicii	Valoarea indicilor							
		Proba 1	Proba 2	Proba 3	Proba 4	Proba 5	Proba 6	Proba 7	Proba 8
1.	Concentrația alcoolică, % vol.	12,3 ± 0,1	12,3 ± 0,1	12,3 ± 0,1	12,3 ± 0,1	12,3 ± 0,1	12,2 ± 0,1	12,1 ± 0,1	11,5 ± 0,1
2.	Concentrația în masă a zaharurilor reziduale, g/L	1,7 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,9 ± 0,2	2,0 ± 0,2	2,4 ± 0,2	2,9 ± 0,2	3,5 ± 0,2	4,2 ± 0,2
3.	Concentrația în masă a acidizilor titrabili, g/L	6,7 ± 0,1	6,8 ± 0,1	6,8 ± 0,1	6,7 ± 0,1	6,7 ± 0,1	6,8 ± 0,1	6,8 ± 0,1	6,6 ± 0,1
4.	Concentrația în masă a acizilor volatili, g/L	0,40 ± 0,08	0,40 ± 0,08	0,40 ± 0,08	0,44 ± 0,08	0,48 ± 0,08	0,46 ± 0,08	0,52 ± 0,08	0,64 ± 0,08
5.	Concentrația în masă a extractului <sup>sec</sup> nereducător, g/L	20,0 ± 0,8	20,2 ± 0,8	20,2 ± 0,8	20,6 ± 0,8	20,8 ± 0,8	18,8 ± 0,8	19,2 ± 0,8	18,6 ± 0,8
6.	Concentrația în masă a dioxidului de sulf total, mg/L	122 ± 4	124 ± 4	125 ± 4	126 ± 4	122 ± 4	110 ± 4	118 ± 4	118 ± 4
7.	pH	3,20 ± 0,10	3,21 ± 0,10	3,21 ± 0,10	3,20 ± 0,10	3,22 ± 0,10	3,19 ± 0,10	3,19 ± 0,10	3,21 ± 0,10
8.	Potențialul oxido-reducător (E <sub>H</sub> ), mV	218,0 ± 0,2	217,0 ± 0,2	219,0 ± 0,2	229,0 ± 0,2	230,0 ± 0,2	250,0 ± 0,2	258,0 ± 0,2	310,0 ± 0,2
9.	Concentrația, mln de celule/mL	15	22	35	42	45	48	54	63
10.	Nota organoleptică	8,3	8,3	8,3	8,1	8,1	8,1	7,9	7,9

\***Notă:** Proba 1 ÷ 8 – numărul de utilizări.

Conform rezultatelor prezentate în tab. 3.9, cea mai mare acumulare de biomasă de levuri este cu 420 % în proba 8 față de proba 1, cu toate că levurile imobilizate au fost utilizate doar la fermentația tumultoasă a mustului.

De asemenea, s-a constatat, că începând cu proba 4 concentrația celulelor levuriene constituie 42 mln cel./mL crescând semnificativ până la 60 mln cel./mL în proba 8. În rezultat am obținut un randament de biomasă 1:10 ÷ 1:15 de la cantitatea levurilor inițial imobilizate, iar cantitatea totală de biomasă obținută a fost de 30 kg.

La determinarea viabilității levurilor în probele analizate s-a constatat, că scade semnificativ cantitatea de levuri vii începând cu proba 4, deoarece viabilitatea celulelor este doar 60 % în comparație cu proba 1, unde viabilitatea a fost 92 %. Aceste date sunt reprezentate în fig. 3.15.

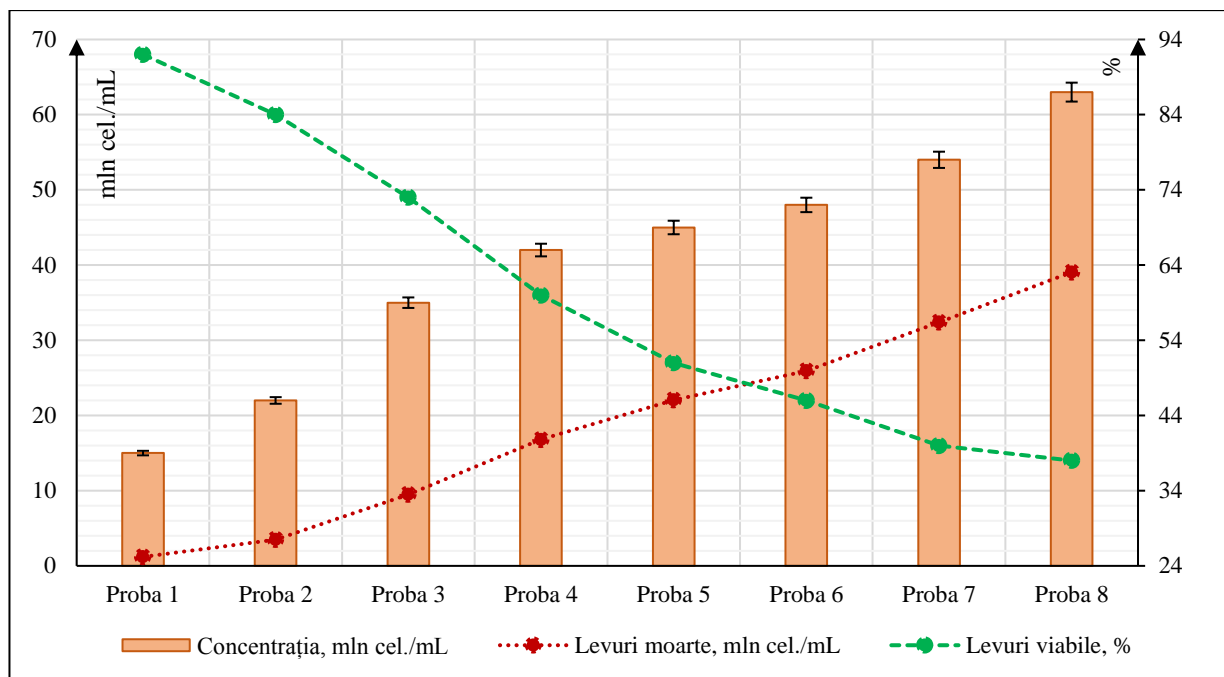


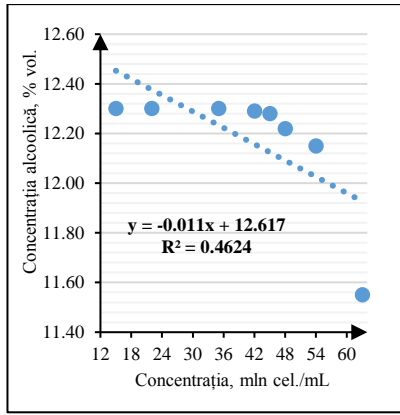
Fig. 3.15. Dinamica concentrației celulelor levuriene (mln cel./mL), levurilor moarte (mln cel./mL) și levurilor viabile (%) în dependență de numărul de utilizări la fermentația alcoolică a mustului din soiul Chardonnay (a.r. 2012)

**\*Notă:** Proba 1 ÷ 8 – numărul de utilizări ale levurilor imobilizate la fermentare.

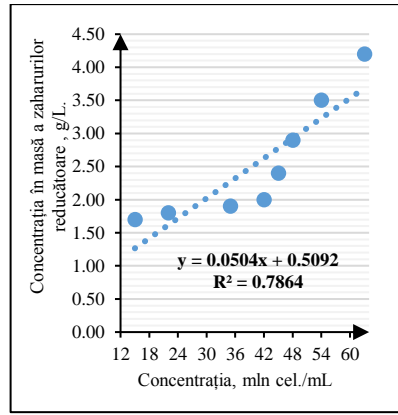
Concentrația alcoolică a vinurilor obținute este cuprinsă între 12,30 % vol. (proba 1) și 11,55 % vol. (proba 8). Odată cu creșterea biomasei de levuri, scade viabilitatea celulelor levuriene (fig. 3.15), iar concentrația alcoolică se micșorează cu 6 % pentru proba 8 în comparație cu proba 1. Proba 8 se caracterizează printr-o valoare a potențialului oxido-reducător mai mare 300 mV. Vinurile cu valorile oxido-reducătoare ridicate (> 400 mV), pierd însușirile de prospețime, fructuozitate, aromă de soi și în ele apare gustul de răsuflat.

Concentrația în masă a acizilor volatili este influențată de numărul de utilizări a levurilor imobilizate, valoarea sa fiind cuprinsă între 0,4 ÷ 0,64 g/L, pentru vinuri tinere se cere o concentrație în masă a acizilor volatili maxim de 0,60 g/L, deoarece fiind supuse următoarelor etape tehnologice valoarea lor crește, de aceea proba 8 nu corespunde cerințelor față de acest indice de calitate, ea fiind cu 6,7 % mai mare.

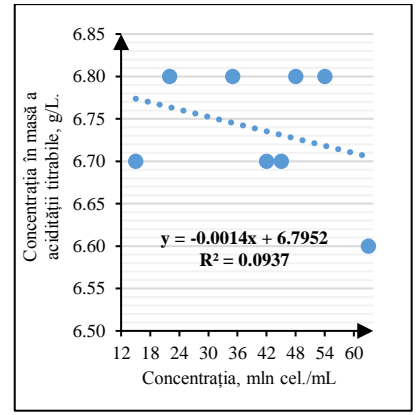
Datele obținute au fost utilizate pentru a determina coeficientul de corelare dintre indicii fizico-chimici și concentrația celulelor levuriene (fig. 3.16).



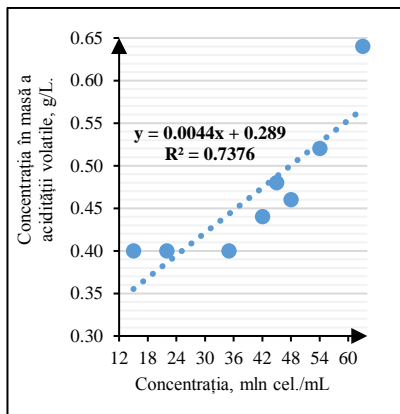
a)



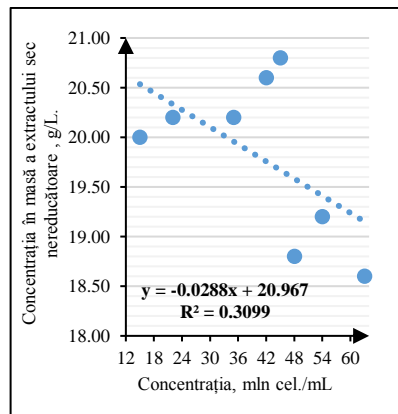
b)



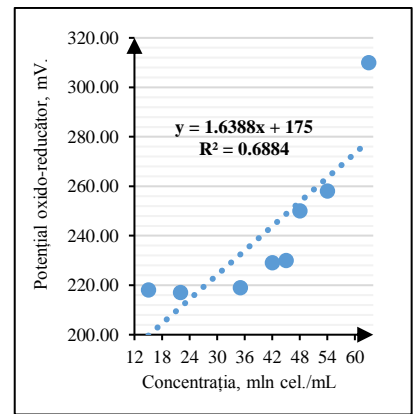
c)



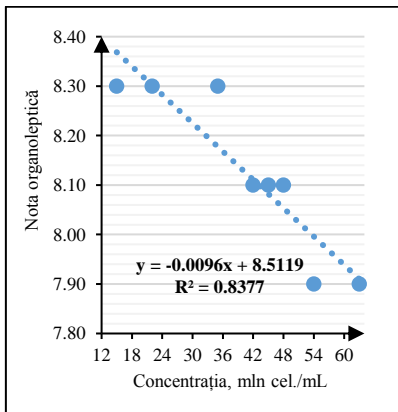
d)



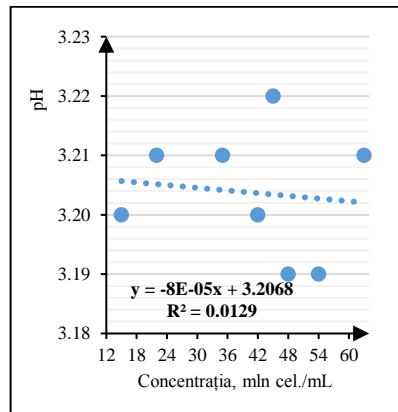
e)



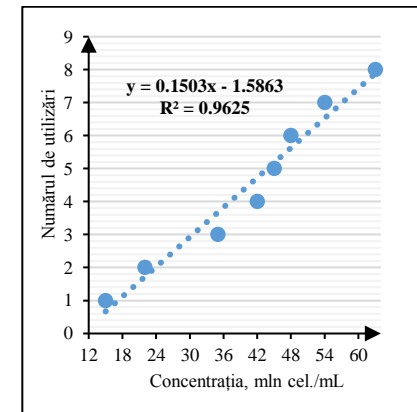
f)



g)



h)



i)

Fig. 3.16. Dependența dintre concentrația celulelor levuriene și:  
 a) concentrația alcoolică, % vol.; b) concentrația în masă a zaharurilor, g/L;  
 c) concentrația în masă a acizilor titrabili, g/L; d) concentrația în masă a acizilor volatili, g/L;  
 e) concentrația în masă a extractului sec nereducător, g/L; f) potențialul oxido-reducător, mV; g)  
 nota organoleptică; h) pH; i) numărul de utilizări ale levurilor imobilizate.

Rezultatelor obținute (fig. 3.16) arată, că corelația dintre creșterea concentrației celulelor levuriene și indicii de calitate este următoarea: numărul de utilizări > nota organoleptică >

concentrația în masă a zaharurilor > concentrația în masă a acizilor volatili > potențialul oxido-reducător > concentrația alcoolică > concentrația în masă a extractului sec nereducător > concentrația în masă a acizilor titrabili > pH.

Din fig. 3.17 se observă că acumularea biomasei de levuri imobilizate nu este influențată de concentrația în masă a acidității titrabile și pH vinului obținut, deoarece coeficientul de corelare este mai mic ca 0,10, dar este esențial influențată nota organoleptică ( $R^2 = 0,8377$ ).

De aceea, s-a efectuat aprecierea organoleptică a vinurilor Chardonnay obținute cu levuri imobilizate în faza fermentării tumultoase, construind profilurile aromatice ale lor (fig. 3.17).

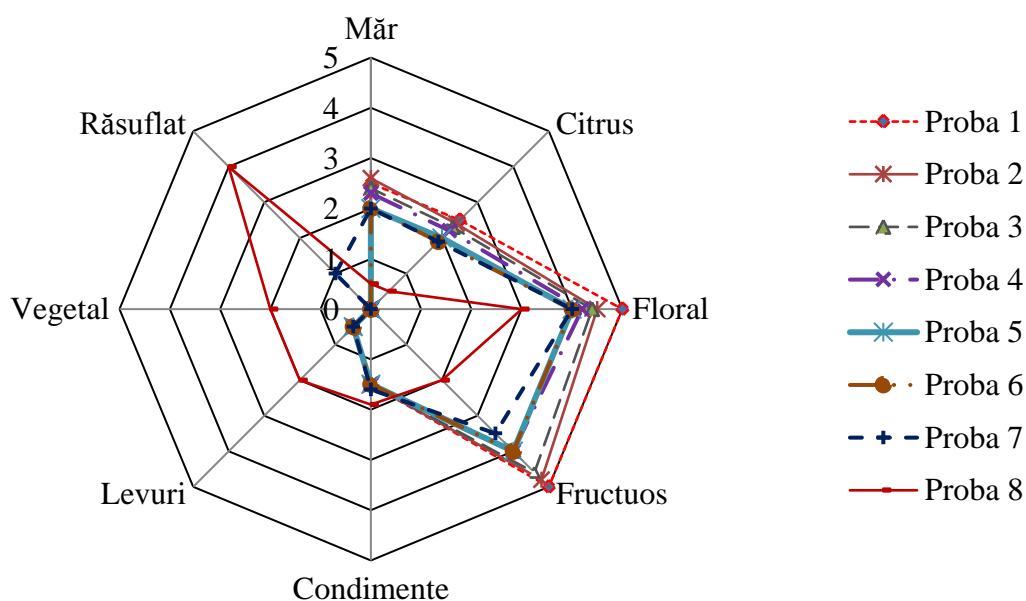


Fig. 3.17. Profilul senzorial al vinurilor materie prime albe seci obținute din soiul Chardonnay cu aplicarea procedurii de obținere a biomasei de levuri (a.r. 2012)

Profilul senzorial (fig. 3.17) obținut demonstrează faptul, că vinurile posedă o aromă florală, fructuoasă cu nuanțe de citrice și fructe albe (măr) cu excepția probei 7 și 8.

Proba 8 se evidențiază prin arome de levuri și vegetale, precum și răsuflat, iar cele florale, fructuoase, citrice și de măr sunt la un nivel scăzut în comparație cu celelalte probe.

În așa fel, rezultatele cercetărilor obținute indică, că profilul aromatic, nota organoleptică și concentrația în masă a zaharurilor, precum și concentrația în masă a acidității volatile sunt influențate esențial de numărul de utilizări ale levurilor imobilizate la fabricarea vinurilor albe seci. Astfel, se recomandă ca sacii cu levuri imobilizate să fie utilizați până la creșterea concentrației celulelor levuriene 40 mln cel./mL (Proba 3), deci 3 reutilizări a imobilizatorului.

### 3.3. Procesul de fermentație combinată a mustului la producerea vinurilor albe seci.

Cerințele consumatorilor față de calitatea vinurilor albe se află mereu în dinamică. La momentul actual, consumatorii preferă vinuri albe mai puțin alcoolice, cu gust răcoritor, multă fructozitate și cu arome de soi. Pentru a realiza astfel de vinuri trebuie de îmbunătățit schemele de producere a vinurilor albe și anume de dirijat procesul de fermentație alcoolică, de redus golul de fermentare și de monitorizat factorii ce influențează fermentația alcoolică a mustului.

În scopul extinderii domeniului de utilizare a biomasei de levuri la fabricarea vinurilor s-a cercetat regenerarea levuri uscate active pentru reutilizare și diminuarea cheltuielilor de procurare a levurilor uscate active la producerea vinurilor albe seci.

Pe parcursul a 5 ani (a.a. 2011 ÷ 2015) au fost fabricate vinuri materie primă albe seci din soiul de struguri Chardonnay recoltați de pe plantațiile fabricii de vin „JAVGURVIN” S.A. Pentru fermentarea alcoolică au fost utilizate diferite levuri: sălbatice din microflora locală, Oenoferm Freddo, levuri incluse în bile de alginat ProRestart și biomasa de levuri Oenoferm Freddo imobilizată într-un sac permeabil cu diametrul porilor de 0,6 μm. Concentrația alcoolică, a zaharurilor și a acidității titrabile este prezentată în tabelul 3.10 și figurile 3.18 și 3.19.

Tabelul 3.10. Concentrația alcoolică (% vol.) a vinurilor materie prime albe seci Chardonnay (a.r. 2011÷2015) la fermentația mustului cu diferite levuri

№	Sușa de levuri	Anii de roadă				
		2011	2012	2013	2014	2015
1.	<i>Proba 1</i> Microflora indigenă	12,4±0,2	11,2±0,2	12,5±0,2	13,5±0,2	12,6±0,2
2.	<i>Proba 2</i> Oenoferm Freddo	12,6±0,2	11,6±0,2	12,5±0,2	13,5±0,2	12,5±0,2
3.	<i>Proba 3</i> ProRestart	12,7±0,2	11,9±0,2	12,5±0,2	13,6±0,2	12,7±0,2
4.	<i>Proba 4</i> Biomasă de Oenoferm Freddo imobilizate în saci	12,2±0,2	11,1±0,2	12,3±0,2	13,4±0,2	12,4±0,2

Alcoolul etilic influențează semnificativ activitatea levurilor pe parcursul fermentației alcoolice pe măsură ce se acumulează în mediul de fermentare. Se cunoaște, că levurile apiculate nu suportă concentrații mari de alcool etilic, maxim 4 – 5 % vol. În timp ce levurile *Saccharomyces*

*ellipsoideus* rezistă pînă la 14 % vol. și *Saccharomyces oviformis* pînă la 18 % vol. Conținutul ridicat de alcool reduce capacitatea levurilor de asimilare a azotului, întârzie faza exponențială și prelungește faza staționară de fermentare. De asemenea, concentrația alcoolică reprezintă un indice de calitate al produsului finit.

Utilizând levuri imobilizate la fermentația mustului din soiul Chardonnay pe parcursul anilor 2011 ÷ 2015 s-a constatat, că vinul alb sec obținut prin utilizarea biomasei de levuri imobilizate în saci cu pereții permeabili se caracterizează printr-un conținut mai mic de alcool cu 1 % în comparație cu proba cu microfloră indigenă, cu 1,9 % față de proba 2 fermentată cu levuri uscate active și cu 3,05 % față de proba 3 fermentată cu levuri imobilizate în alginat. Conținutul mai redus de alcool etilic, se explică prin aceea că o parte de zaharuri sunt utilizate în calitate de nutriție și sursă de energie pentru levurile din imobilizator. Acest fapt se confirmă și prin concentrația în masă a zaharurilor, care este cuprinsă între 1,1 ÷ 2,2 g/L, ceea ce corespunde cerințelor stipulate în documentele normative de maxim 4,0 g/L, iar probele 3 și 4 produse cu levuri imobilizate au avut un grad de fermentare cu 26 % mai mare față de proba obținută cu levuri neimobilizate (fig. 3.18).

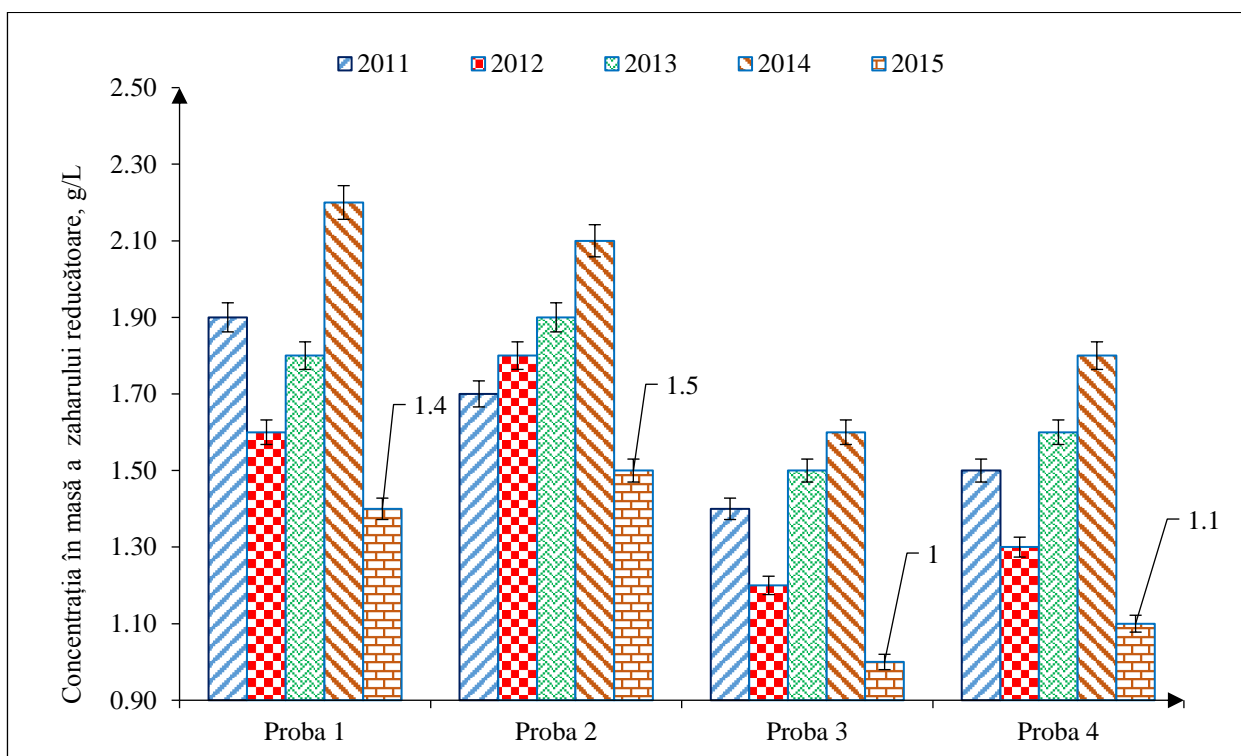


Fig. 3.18. Concentrația în masă a zaharurilor în vinurile materie primă albe seci Chardonnay (a.r. 2011 ÷ 2015) la fermentația mustului cu diferite levuri

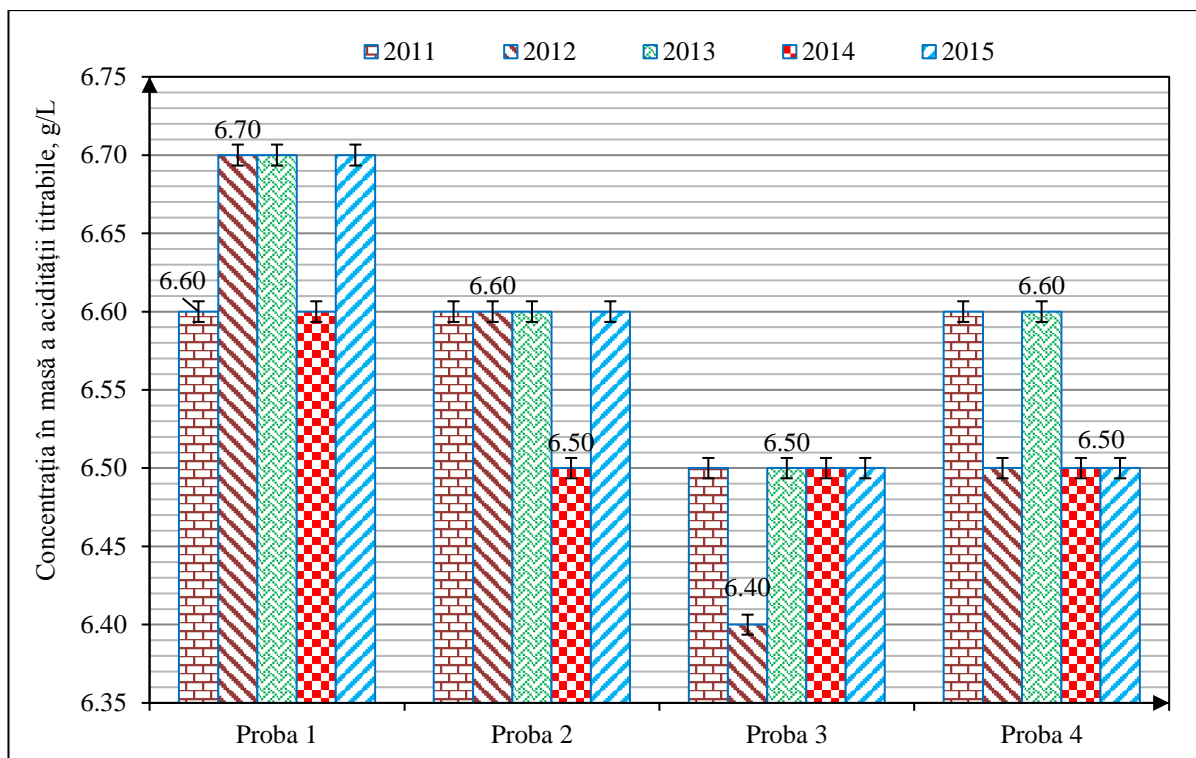


Fig. 3.19. Concentrația în masă a acizilor titrabili în vinurile materie primă naturale albe seci Chardonnay la fermentația mustului cu diferite levuri

Aciditatea titrabilă are un impact esențial asupra gustului vinurilor albe. Acizii organici conferă vinurilor prospețimea și fructozitatea cerută de către consumatori. Majoritatea acizilor titrabili provin din struguri, doar o cantitate mică se formează în urma fermentării alcoolice a mustului și altor procese ulterioare. De aceea, concentrația lor constituie un indice de calitate indispensabil pentru vinurile albe.

Activitatea levurilor nu este influențată de aciditatea mustului și ele nu influențează semnificativ conținutul de acizi titrabili în urma fermentației alcoolice. Conținutul în masă a acizilor titrabili prezentate în fig. 3.19 este cuprinsă între  $6,4 \div 6,7$  g/L.

Concentrația în masă a acizilor volatili (fig. 3.20) crește în timpul fermentației alcoolice, după care, continuă să sporească pe toată durata de păstrare a vinurilor. În probele experimentale concentrația în masă a acizilor volatili este de  $0,40 \div 0,60$  g/L (fig. 3.20). Doar în proba obținută cu microflora indigenă concentrația acizilor volatili se află la limita de sus (0,6 g/L).



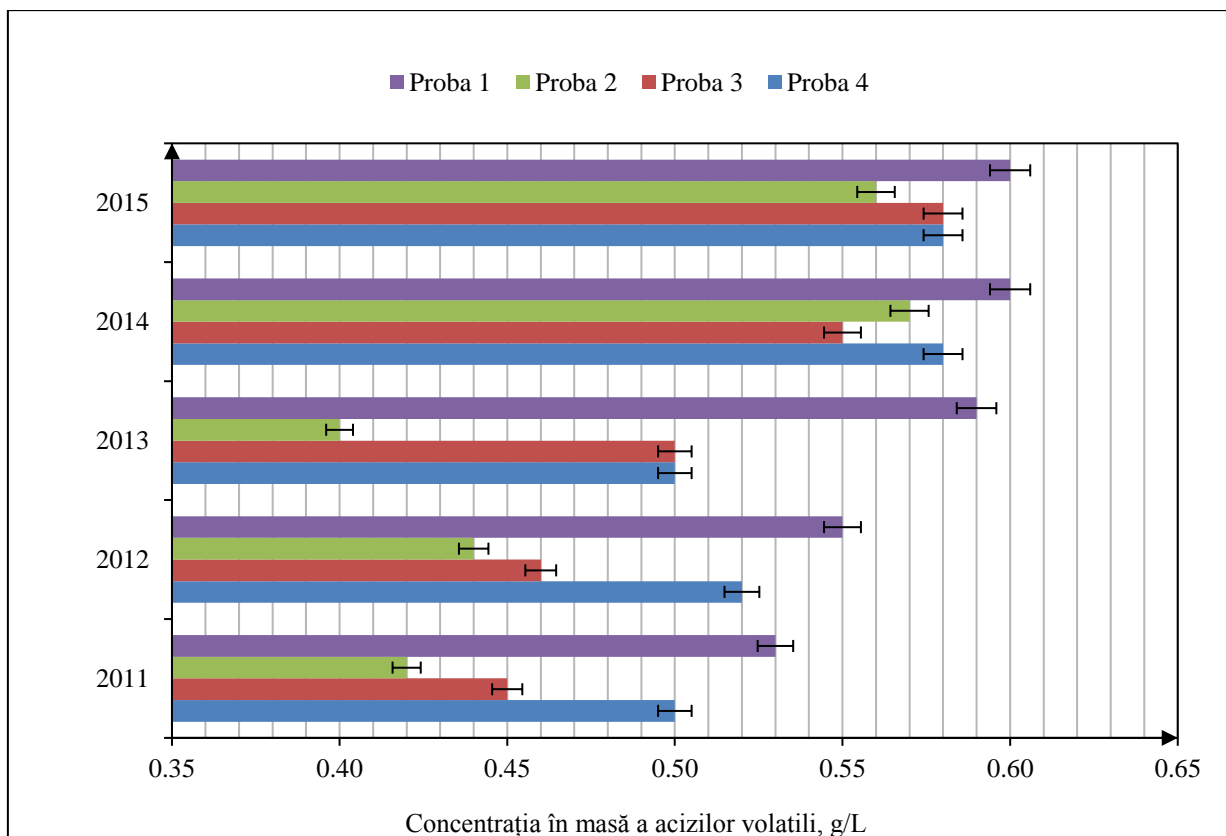


Fig. 3.20. Concentrația în masă a acidității volatile în vinurile materie primă albe seci Chardonnay (a.r. 2011 ÷ 2015) la fermentația mustului cu diferite levuri

A fost determinată concentrația unor substanțe volatile în vinurile experimentale în scopul cercetării influenței sușelor de levuri utilizate la fermentația alcoolică, iar rezultatele sunt prezentate în tabelul 3.11.

Tabelul 3.11. Concentrația în masă a substanțelor volatile în vinurile materie primă albe seci Chardonnay (a.r. 2015) la fermentația mustului cu diferite levuri

№	Denumirea substanței	Proba 1	Proba 2	Proba 3	Proba 4
<b>Concentrația în masă a:</b>					
1.	aldehidei acetice, mg/L	56 ± 0,2	26 ± 0,2	27 ± 0,2	26 ± 0,2
2.	acetatului de etil, mg/L	25,6 ± 0,2	16,6 ± 0,2	18,6 ± 0,2	16,7 ± 0,2
3.	alcoolului metilic, g/L	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01
4.	2-butanol, mg/L	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
5.	n-propanol, mg/L	8,6 ± 0,2	6,0 ± 0,1	7,6 ± 0,2	6,6 ± 0,2
6.	izobutanol, mg/L	28,6 ± 0,2	20,6 ± 0,2	22,6 ± 0,2	20,6 ± 0,2
7.	n-butanol, mg/L	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
8.	izopentanol, mg/L	186 ± 2	148 ± 2	166 ± 2	146 ± 2
9.	<b>Suma alcoolilor superiori, mg/L</b>	224,2 ± 0,2	175,6 ± 0,2	197,2 ± 0,2	174,2 ± 0,2

Conținutul substanțelor volatile în vinurile materie prime albe seci din soiul de struguri Chardonnay, anul roadei 2015 variază în dependență de levurile utilizate.

Concentrația în masă a aldehidei acetice în vinurile materie primă studiate variază în limita valorilor de la 26 până la 56 mg/L. Este cunoscut faptul, că levurile au o influență semnificativă asupra conținutului de aldehydă acetică. De exemplu, în cazul utilizării levurilor, imobilizate și înglobate în bile de alginat concentrația aldehidei acetice în vin este 26 mg/L (valoarea minimală), și respectiv 27 mg/L, iar în cazul utilizării fermentării cu microfloră indigenă concentrația aldehidei acetice în vin este 56 mg/L ceea ce constituie cu aproximativ cu 54 % mai mult în comparație cu celelalte probe de vin analizate.

Un alt compus secundar important, care se formează după procesul de fermentare alcoolică este acetatul de etil, care direct influențează asupra proprietăților organoleptice a vinurilor obținute. Nivelul optim de acetat de etil în vinurile sănătoase, care se formează în timpul fermentației vinurilor poate fi până la 160 mg/dm<sup>3</sup>, însă, conținutul lui în probele obținute constituie de la 16,6 mg/L până la 25,6 mg/L.

Conținutul de alcoolul metilic este maxim de circa 0,02 g/L, ce dovedește că, levuri studiate nu influențează asupra concentrației alcoolului metilic în vinurile albe seci obținute.

Alcoolii superiori: n-butanolul și 2-butanolul se conțin în cantități mici, nesemnificative, astfel concluzionăm că, levurile studiate au avut o influență nesemnificativă asupra conținutului lor, el fiind mai mic de 0,5 mg/L. Variația concentrațiilor de n-propanol în vinurile albe seci se află în limita intervalului 6,0-8,6 mg/L.

Concentrația în masă a izo-butanolului în probele obținute variază în dependență de levurile utilizate constituie de la 20,6 până la 28,6 mg/L. Concentrațiile minimale de izobutanol au fost stabilite în cazul utilizării levurilor Oenoferm Freddo și biomasei lor imobilizate în saci, respectiv în proba 2 și 4.

Cantitatea izo-pentanolului în probele studiate reprezintă circa 60 % din suma tuturor alcoolilor superiori, iar cea mai mare concentrația de izopentanol a fost depistată în vinul obținut cu microflora indigenă în valoare de 186 mg/L.

În urma fermentării alcoolice se formează glicerolul, care participă la formarea gustului vinului și îi atribuie o senzație dulce și moale. Conform datelor obținute din figura 3.21, conținutul de glicerol variază în limita 5,3- 6,2 g/L, iar cele mai mici valori ale glicerolului au fost determinate în vinurile materie primă albe seci Chardonnay obținute cu utilizarea biomasei de levuri imobilizate Oenoferm Freddo (5,3 g/L).

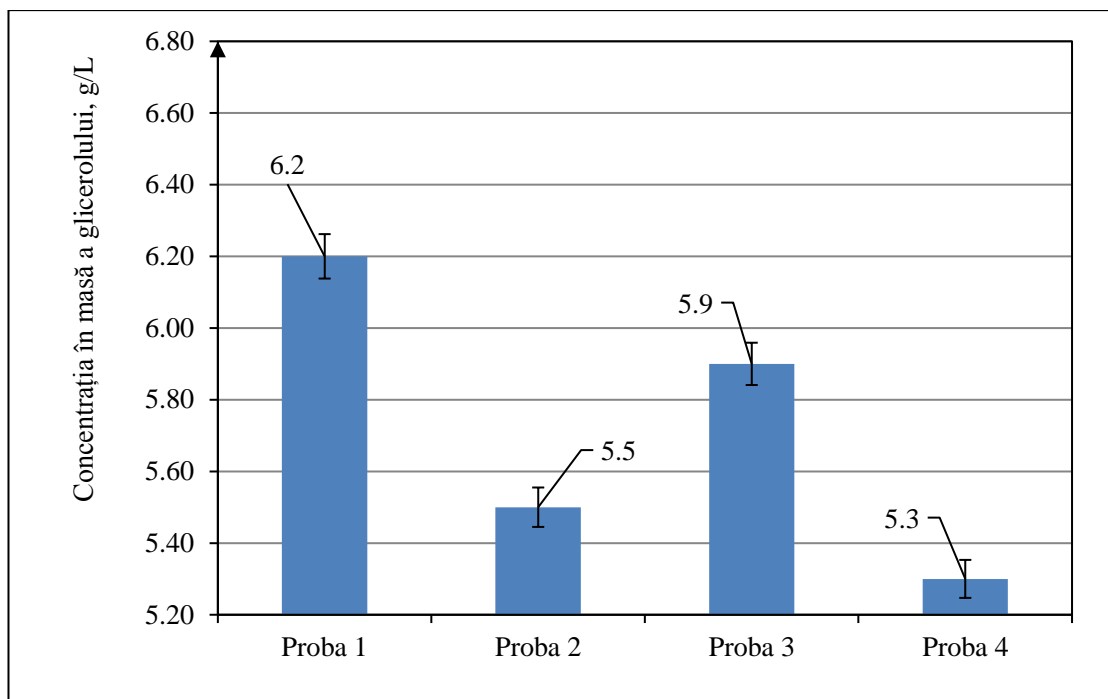
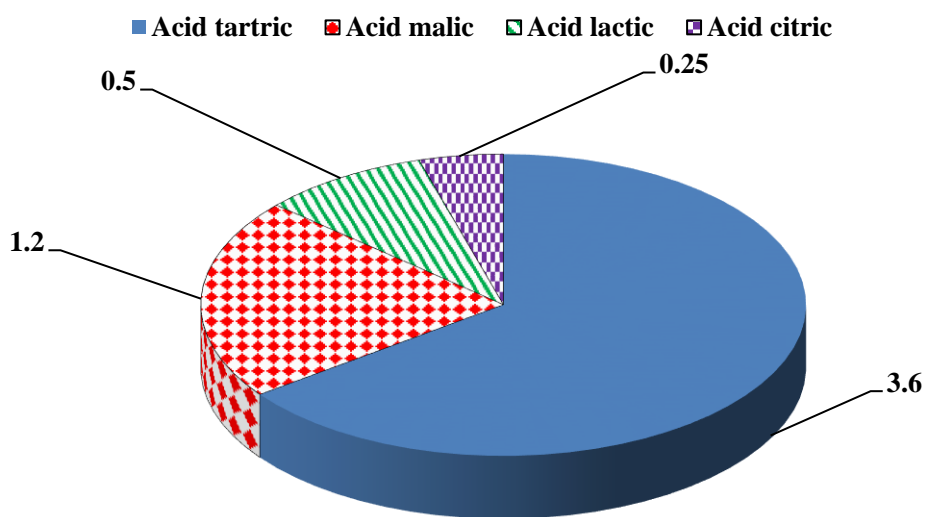


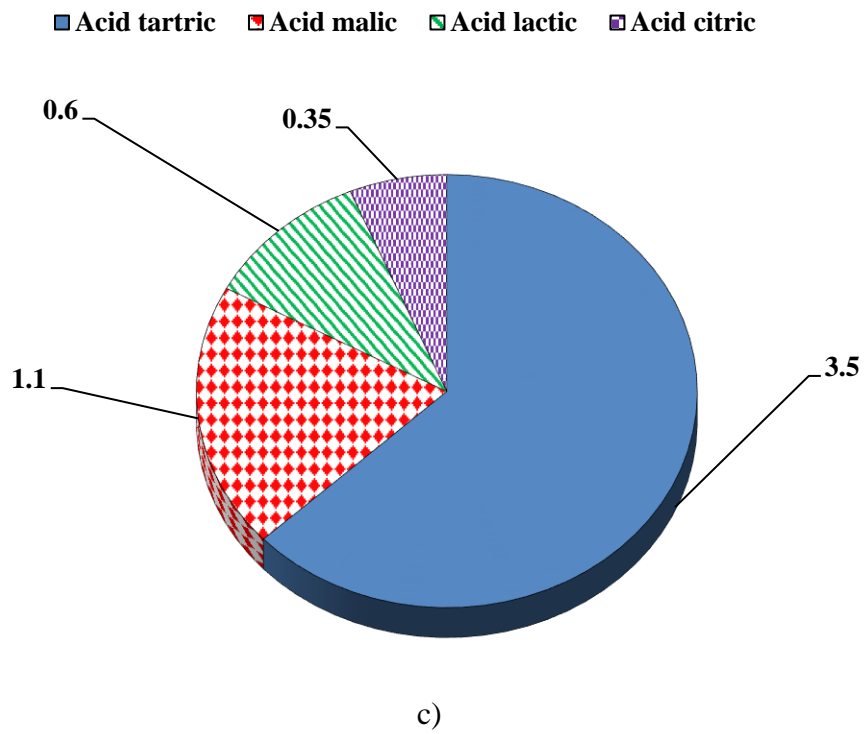
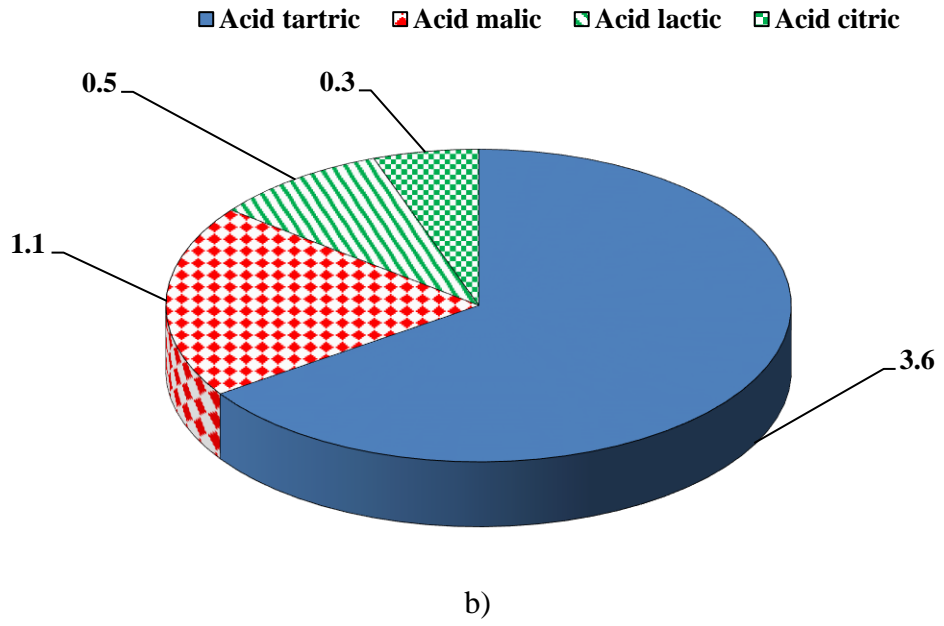
Fig. 3.21. Concentrația în masă a glicerolului în vinurile materie primă Chardonnay (a.r. 2015) la fermentația mustului cu diferite levuri

Aciditatea titrabilă a vinurilor este alcătuită din 50 de acizi care se găsesc sub formă liberă sau de săruri acide, cu excepția acidului carbonic ( $H_2CO_3$ ) și a acidului sulfuros ( $H_2SO_3$ ).

Raportul procentual de acizi organici în vinurile obținute diferă de la an la an, deoarece cantitatea lor este influențată de mai mulți factori, în special de condițiile climaterice ale anului de roadă și de gradul de maturitate a strugurilor (fig. 3.22).



a)



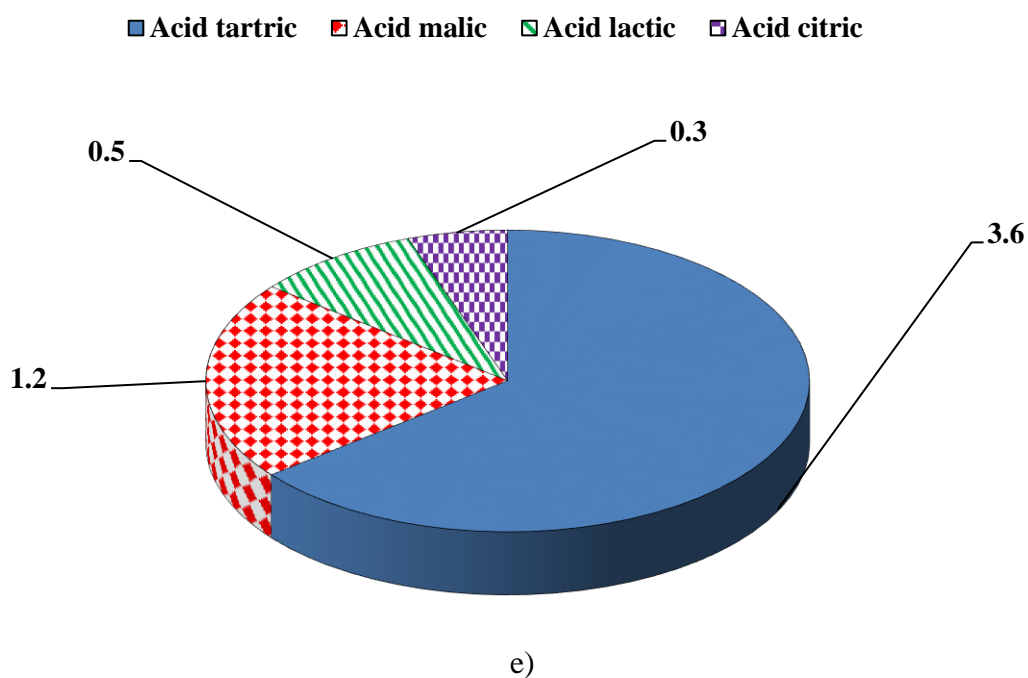
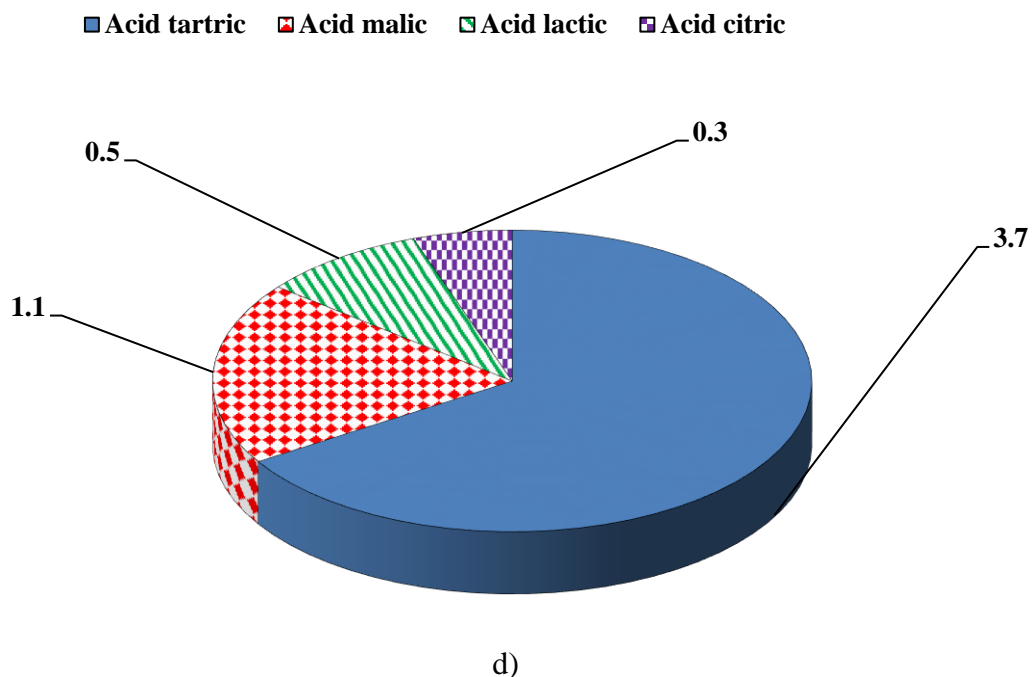


Fig. 3.22. Conținutul acizilor organici (g/L) din vinul materie primă alb sec Chardonnay obținut prin aplicarea procedurii de regenerare a levurilor uscate active Oenoferm Freddo immobilizate, a. r.: a) 2015, b) 2014; c) 2013; d) 2012; e) 2011.

Raportul procentual al concentrației în masă a acizilor organici (fig. 3.22) din vinul materie primă alb sec Chardonnay fermentat cu levuri uscate active Oenoferm Freddo immobilizate, anul roadei 2015 constituie 65 % acid tartric, 22 % acid malic, 9 % acid lactic și 4 % acid citric. Din datele prezentate, se observă că, anul roadei influențează semnificativ asupra componenței acizilor organici din vinurile albe seci obținute. Cea mai mică cantitate de acid tartric s-a obținut în anul

2013, iar cea mai mare cantitate în anul 2012. În ceea ce privește cantitatea de acid lactic este aceeași pentru toți anii de recoltă, cu excepția anului 2013. Din toți anii de recoltă se deosebește anul 2013 unde s-au obținut cele mai mari conținuturi ale acizilor organici.

Calitatea vinurilor, în primul rând este apreciată prin evaluarea senzorială. Testarea calității vinurilor este necesară pentru stabilirea efectelor unor sușe de levuri utilizate la fermentarea alcoolică a mustului. Profilul senzorial radial ale vinurilor albe seci Chardonnay fermentate cu diferite levuri sunt prezentate în fig. 3.23.

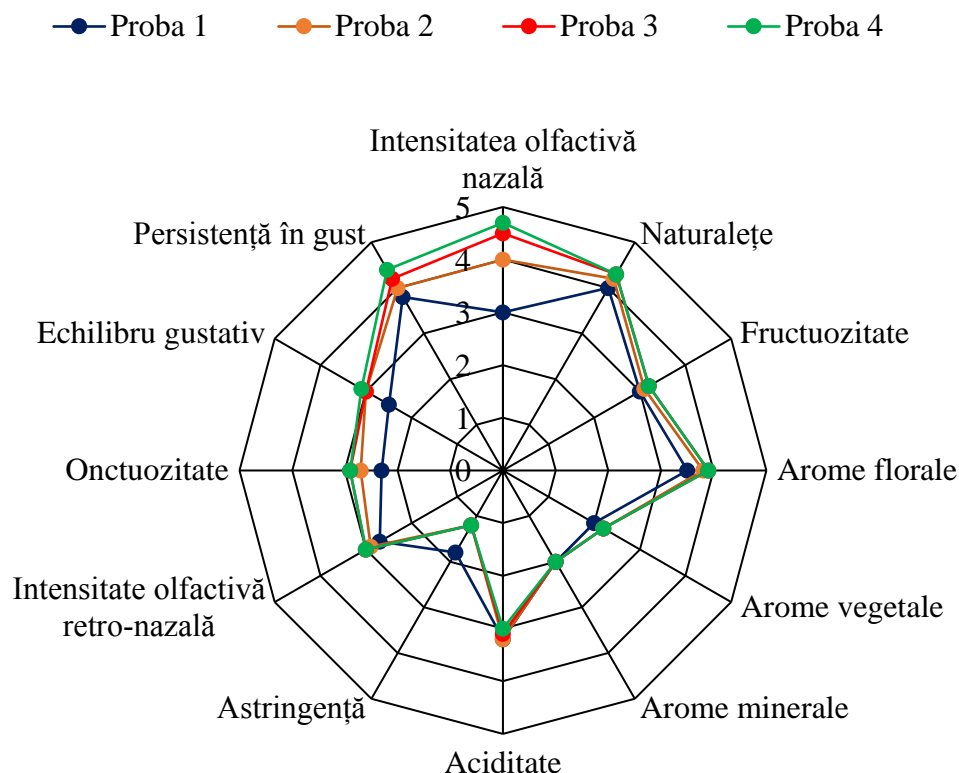


Fig. 3.23. Profilul senzorial al vinurilor materie primă Chardonnay (a.r. 2015) la fermentația mustului cu diferite levuri

Conform profilului senzorial din fig. 3.23 vinurile albe seci obținute cu diferite levuri se evidențiază printr-o aromă intensă, florală, iar aromele vegetale sunt cuprinse între 1,8 ÷ 2,2 puncte corespunzătoare calității satisfăcătoare.

Utilizând levurile imobilizate putem obține vinuri cu alcoolitate mai mică decât în cazul levurilor neimobilizate, pe când aciditatea titrabilă, volatila și concentrația în masă a glicerolului nu se deosebesc esențial. După profilul senzorial vinurile obținute prin procedeul propus se situează la același nivel cu vinurile obținute cu levuri uscate active libere și se caracterizează prin aromă intensă, cu caractere florale și de fructe.

### **3.4. Procesul de fermentație combinată a mustului la producerea vinurilor albe din struguri supracopți.**

#### **3.4.1. Analiza comparativă a fermentației combinate a mustului cu utilizarea diferitor sușe de levuri la producerea vinurilor albe din struguri supracopți.**

Vinurile obținute din struguri supracopți se produc în cantități foarte mici și din soiuri de struguri cu însușiri specifice.

Vinurile din struguri supracopți cu concentrații mari de glucide, au o presiune osmotică care influențează activitatea levurilor. Administrarea levurilor uscate activate din specia *Saccharomyces ellipsoideus* pentru fermentarea mustului trebuie să fie între 7 și 10 mln cel./ml pentru a înfrânge concurența microorganismelor nedorite. Specia *Saccharomyces oviformis* are o capacitate alcooligenă ridicată și care poate reduce esențial concentrația zahărului în vin după fermentare.

Principalul procedeu tehnologic la fabricarea acestui tip de vin este sistarea fermentației alcoolice. Prin acest procedeu se asigură menținerea în vin a conținutului de glucide nefermentate. Pentru sistarea fermentației se recurge la unul din procedee: sulfitare (50 – 60 mg/L SO<sub>2</sub> liber), însoțită de bentonizare (1 g/L) sau șoc termic (min. 10 °C) urmat de centrifugare și filtrare prin plăci sau membrane cu sulfitare (20 – 35 mg/L), urmată de aplicarea unei filtrări aluvionare și prin plăci sterilizante. Procedeele date prezintă o serie de dezavantaje, precum riscul refermentării și infectării cu microorganisme sălbatice.

Problema se soluționează prin aceea că, procedeu de fermentație combinată a mustului la producerea vinurilor albe din struguri supracopți include obținerea mustului din struguri supracopți, sulfizarea mustului (50 – 60 mg/L), deburbarea mustului prin filtrarea cu strat aluvionar, includerea sacilor cu levuri imobilizate (levuri uscate activate EZFerm 44 izolate într-un sac confecționat din membrane permeabile cu diametrul porilor 0,60 μm), fermentația mustului la temperatura de 16 ± 2°C, sistarea fermentării alcoolice prin evacuarea sacilor cu levuri imobilizate, răcirea vinului materie primă obținut până la 5 °C cu o filtrare ulterioară, apoi sulfizarea până la 200 mg/L SO<sub>2</sub> total și menținerea la 5 ÷ 6 °C. În așa fel are loc fermentarea combinată pe microflora indigenă rezistentă la presiunea osmotică în mediul mustului și levurile uscate activate din imobilizator (sușa EZFerm). Înlăturarea sacilor cu levuri imobilizate simplifică procesul de sistare a fermentației alcoolice.

Fermentarea alcoolică a mustului din soiul Traminer s-a realizat cu diferite levuri pentru a demonstra eficacitatea procedurii propus, și anume, de obținere a vinurilor din struguri supracopți prin aplicarea fermentării combinate cu levuri uscate active imobilizate. Astfel, s-au realizat

următoarele experimente: în trei probe de must a câte 5 L fiecare, s-a declanșat fermentația alcoolică cu microfloră indigenă, levuri uscate active de tip EZFerm44, levuri immobilizate în alginat de tip ProDessert BA-11 și levuri uscate active de tip EZFerm 44 immobilizate în saci confecționați din membrane permeabile cu diametrul porilor 0,60 μm în doze de 0,4 g/L, la temperatura de 12, 16, 20 °C cu monitorizarea zilnică, iar după fermentație vinul a fost decantat de pe levurile, răcit, filtrat, sulfitat până la 200 mg/L SO<sub>2</sub> total și menținut la 5 ÷ 6 °C. Concentrația inițială în masă a zaharurilor în mustul de struguri din soiul Traminer (a.r. 2014) a fost 320 g/L și concentrația în masă a acizilor titrabili 5,5 g/L.

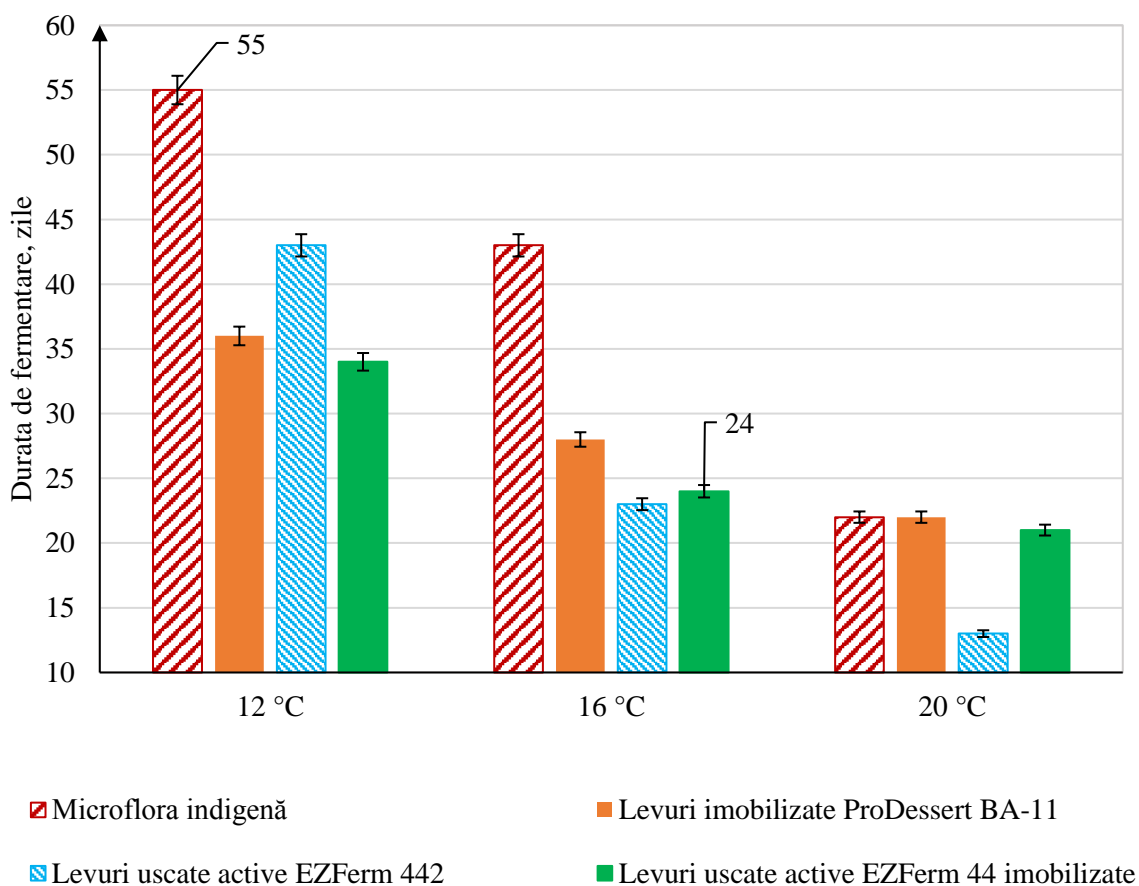


Fig. 3.24. Durata de fermentare alcoolică a mustului din soiul Traminer (a.r. 2014) fermentat la diferite temperaturi și cu diverse levuri

Conform datelor prezentate în fig. 3.24, durata de fermentare a mustului este diferită în dependență de temperatură și sușa de levuri utilizate. La temperatura de 20 °C, durata fermentației alcoolice este de 13 ÷ 22 zile, pe când la temperatura de 16 °C este între 23 ÷ 43 zile și la 12 °C între 34 ÷ 55 zile. Deci, temperatura influențează semnificativ asupra fermentației alcoolice cu levuri neimobilizate sau immobilizate, astfel s-a constatat, că la temperatura de 20 °C s-a fermentat de 2,6 ori mai rapid în comparație cu temperatura 12 °C. Microflora indigenă, de asemenea, a influențat durata fermentării alcoolice fiind inhibată la temperatura de 12 °C în comparație cu



temperatura 20 °C. Dinamica fermentației alcoolice cu microfloră indigenă la diferite temperaturi este prezentată în fig. 3.25

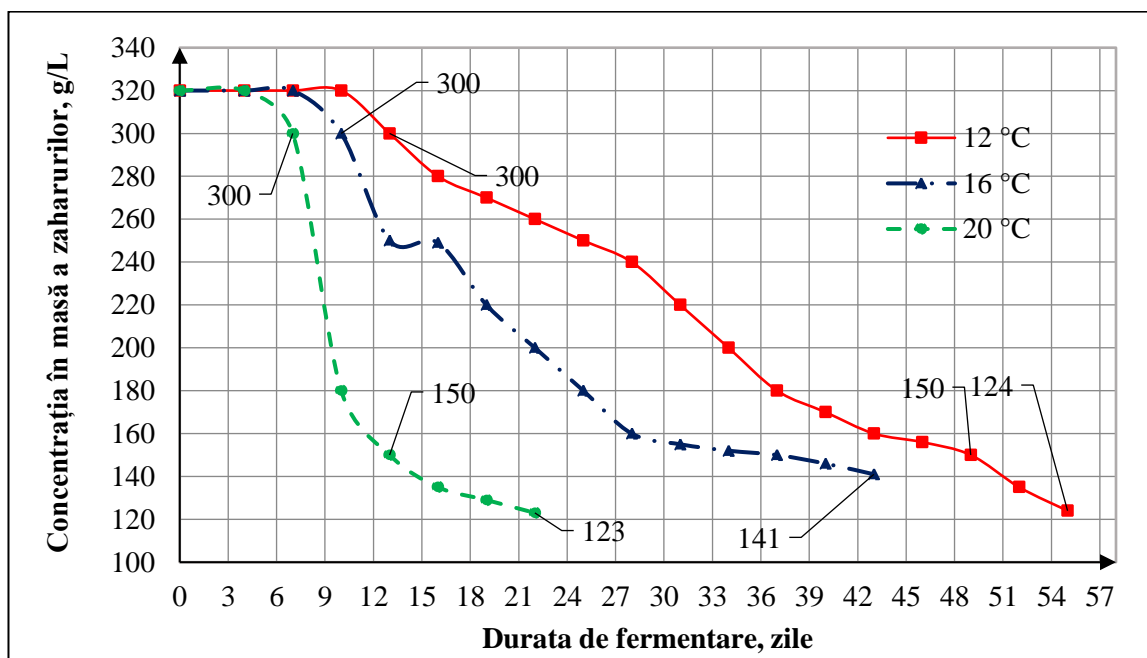


Fig. 3.25. Dinamica fermentării alcoolice a mustului din soiul Traminer (a.r. 2014) cu microflora indigenă la diferite temperaturi

Din fig. 3.25 rezultă că, durata de fermentația alcoolică cu microfloră indigenă a constituit 56 de zile la temperatura de 12°C după care s-a stopat fermentarea. Microflora indigenă a fost mai activă la temperaturile de 16, 20 °C. La temperatura de 16 °C levurile au declanșat fermentația tumultoasă la a 9-a zi, iar la temperatura de 20 °C în a 5-a zi și fermentația a durat respectiv 41 și 20 de zile. Fermentația mustului s-a stopat la o concentrație a zaharurilor de 141 g/L la  $t= 16^{\circ}\text{C}$  și, respectiv, 123 g/L la  $t= 20^{\circ}\text{C}$ .

În urma analizei rezultatelor obținute (fig. 3.26) la fermentația alcoolică a mustului cu levuri uscate active demonstrează că, fermentația s-a realizat mai rapid în comparație cu microflora indigenă (fig. 3.25) ceea ce relevă importanța utilizării în vinificație a levurilor uscate active pentru obținerea diferitor categorii de vinuri.

Rezultatele obținute cu utilizarea sușei EZFerm 44 sunt prezentate în fig. 3.26. La temperatura de 12 °C fermentația alcoolică tumultoasă a început în a 10-a zi, pentru temperatura de 16°C la a 7-a zi, iar la 20 °C la a 3-a zi.

În figurile 3.27 și 3.28 este prezentată dinamica de fermentare a mustului cu levuri imobilizate: sușele ProDessert BA-11 și EZFerm 44.

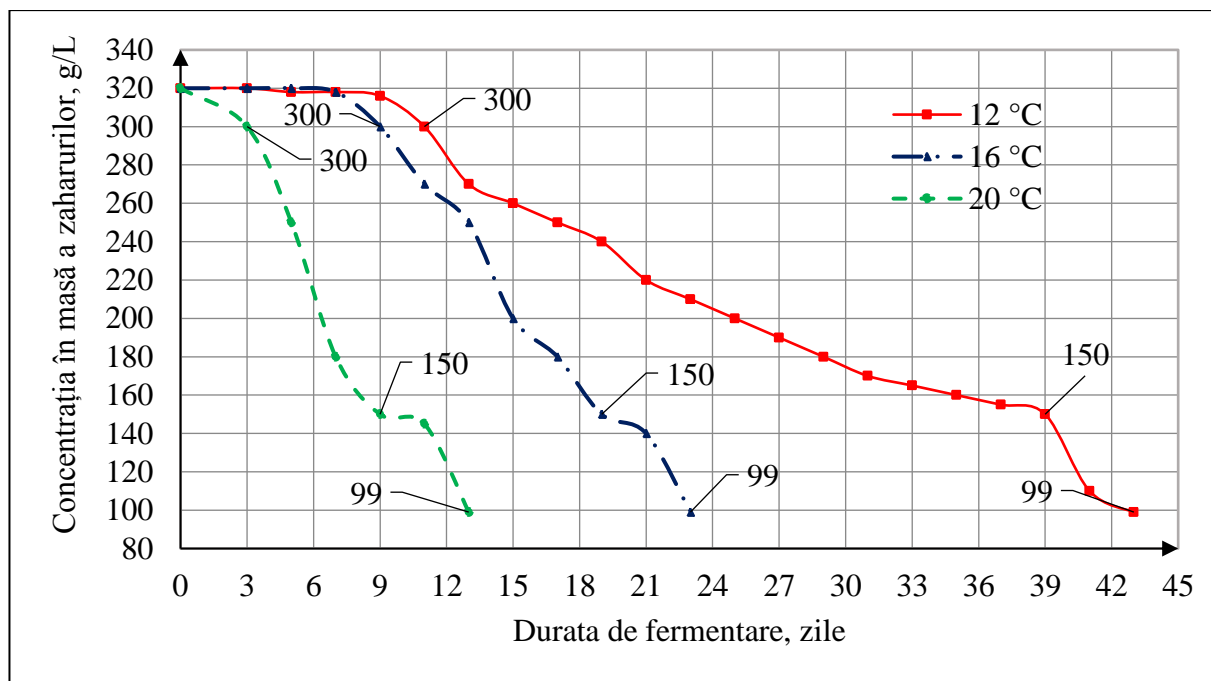


Fig. 3.26. Dinamica fermentării alcoolice a mustului din soiul Traminer (a.r. 2014) cu levuri uscate active EZFerm 44 la diferite temperaturi

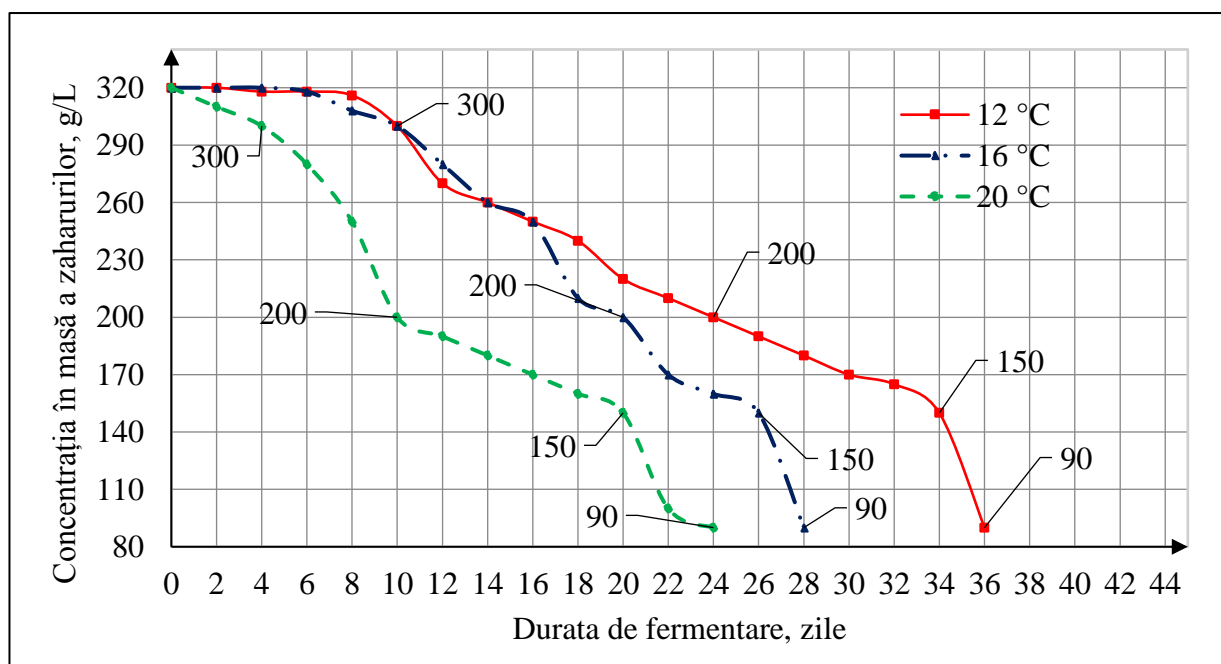


Fig. 3.27. Dinamica fermentării alcoolice a mustului din soiul Traminer (a.r. 2014) cu levuri imobilizate în alginat ProDessert BA-11 la diferite temperaturi

Utilitatea și importanța levurilor imobilizate la fermentația alcoolică este explicată prin: sistarea fermentării alcoolice la nivelul de zahăr rezidual după necesitate, care corespunde categoriei de vin dulce (de cel puțin 45 g/dm<sup>3</sup>). Datorită pungii permeabile în care sunt introduse capsulele de ProDessert BA-11 ori sacilor confecționați din membrane permeabile cu diametrul porilor 0,60 μm cu levuri uscate active EZFerm 44, care pot fi extrase din vin după necesitate, iar

dozele excesive de dioxid de sulf pot fi reduse de la 300 mg/L până la 200 mg/L, deoarece în mediul vinului materie primă obținut sunt mai puține levuri ce ar conduce la refermentare.

După analiza datelor prezentate în figura 3.27 și 3.28 se observă că a avut loc o fermentație alcoolică cu o durată mai scurtă pentru levurile immobilizate în alginat ProDessert BA-11 și levurilor uscate active EZFerm 44 în comparație cu microflora indigenă.

Declanșarea fermentării tumultoase la temperatura de 12 °C s-a început cu ziua a 12-a pentru levurile EZFerm 44 immobilizate și a durat 34 de zile, iar pentru levurile ProDessert s-a început cu ziua a 9-a zi și a durat 36 de zile consecutiv.

Pentru temperatura de 16 °C declanșarea fermentației tumultoase a avut loc în a 8-a și a 9-a zi, iar pentru 20 °C fermentarea tumultoasă s-a declanșat în primele 3 zile, iar procesul de fermentație a durat de 24 de zile pentru levurile EZFerm 44 immobilizate și levurile immobilizate ProDessert.

Comparând levurile utilizate în funcție de temperatura de fermentare menționăm că, la temperatura de 12 °C levurile EZFerm 44 immobilizate, fermentează cel mai rapid în comparație cu celelalte sușe de levuri, deși sunt izolate într-o membrană cu diametrul porilor 0,60 μm, a cărei porozitate permite schimburile nutritive între levurile și mediul de fermentație (fig.3.28).

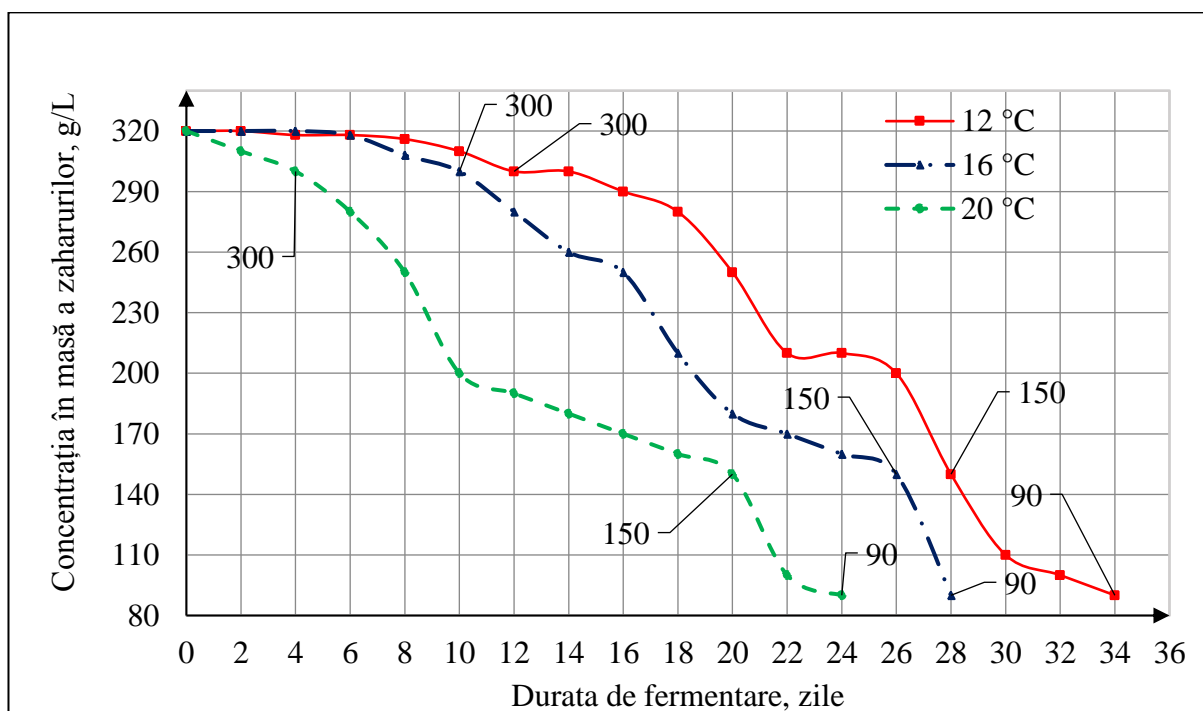


Fig. 3.28. Dinamica fermentării alcoolice a mustului din soiul Traminer (a.r. 2014) cu levuri EZFerm 44 immobilizate la diferite temperaturi

Menționăm că levurile EZFerm 44 immobilizate au fermentat mai rapid, durata fiind doar 34 de zile, deoarece ele sunt activate anterior și se adaptează ușor în mediul de fermentare alcoolică. Aceste levuri sunt destinate pentru obținerea vinurilor cu zahăr rezidual. Aceasta se referă și la

fermentația cu levurile imobilizate de tip ProDessert, însă fermentația durează cu 2 zile mai mult, ceea ce nu este atât de însemnat.

Activitatea înaltă de fermentare alcoolică a levurilor uscate active și durată de fermentare este determinată de forma structurală a acestora. Levurile uscate active nefiind imobilizate se răspândesc în volumul de must și au un contact mai mare cu faza lichidă în comparație cu levurile imobilizate, temperatura fiind doar un factor ce stimulează această activitate.

Durata de fermentare alcoolică la temperatura de 20 °C a levurilor uscate active EZFerm 44 imobilizate este mai îndelungată în comparație cu levurile uscate active EZFerm 44 libere, constituind 24 de zile, acest fapt fiind determinat de imobilizarea lor.

Durata de fermentare depinde nu doar de temperatura de fermentare, dar și de levurile cercetate. Utilizarea levurilor imobilizate s-a remarcat printr-o activitate înaltă la declanșarea și realizarea fermentației alcoolice atât la temperatura de 16°C cât și la temperatura de 20°C. Acest fapt are argumentare prin diferența de presiune osmotică în must și interiorul sacului cu levuri imobilizate. Utilizarea levurilor imobilizate, de asemenea, a facilitat procesul de sistare a fermentării alcoolice la o anumită concentrație de alcool și zaharuri, prin eliminarea imobilizatorului din mustul care fermentează.

#### **3.4.2. Analiza fizico-chimică și organoleptică a vinurilor albe din struguri supracopți obținute cu utilizarea diferitor levuri.**

Studiile realizate au demonstrat că, sușele de levuri au un impact mare asupra complexului chimic a vinurilor [44]. Valoarea indicilor fizico-chimici a vinurilor obținute este ca un indicator pentru caracterizarea levurilor utilizate pentru fabricarea lor.

Calitatea vinurilor produse se apreciază prin valoarea indicilor fizico-chimici și organoleptici, care sunt stipulați în documentele normative din domeniu și trebuie să corespundă acestor cerințe. În tabelele 3.12 și 3.13 sunt respectiv prezentați indicii fizico-chimici și organoleptici ai vinurilor albe din struguri supracopți obținute la diferite temperaturi și cu diferite sușe de levuri imobilizate și neimobilizate.

Majoritatea levurilor sălbatice aparțin speciei *Kloeckera apiculata* și în comparație cu *Saccharomyces ellipsoideus* formează o aciditate volatilă mai majorată (de la 0,56 până la 0,85 g/dm<sup>3</sup>), astfel obținând o tărie alcoolică mai mică.

Conținutul mare în zaharuri nefermentate se datorează faptului că, microflora indigenă are putere mai slabă de fermentație, oprindu-se la concentrația de 124,2 g/L zaharuri pentru proba fermentată la  $t = 12$  °C, iar pentru proba fermentată la temperatura de 20 °C s-a obținut o

concentrație în masă a zaharurilor de 123,2 g/L. Acest fapt are un impact și asupra concentrației alcoolice.

Tabelul 3.12. Caracteristica fizico-chimică a vinurilor din struguri supracopți soiul Traminer alb (a.r. 2014) fermentate la diferite temperaturi și sușe de levuri

Sușa de levuri	Temperatura de fermentare, °C	Durata de fermentare, zile	Indicii fizico-chimici					
			Concentrația alcoolică, % vol.	Concentrația în masă a:				pH
				zaharurilor, g/L	acizilor volatili, g/L	acizilor titrabili, g/L	SO <sub>2</sub> total, mg/L	
Microflora indigenă	12	55	11,8±0,1	124,2±0,2	0,85±0,08	5,1±0,1	136±4	3,4±0,1
	16	43	10,7±0,1	141,0±0,2	0,61±0,08	5,2±0,1	140±4	3,4±0,1
	20	22	11,8±0,1	123,2±0,2	0,56±0,08	5,1±0,1	144±4	3,4±0,1
Levuri uscate active: EZFerm 44	12	43	13,3±0,1	99,2±0,2	0,33±0,08	5,2 ±0,1	130±4	3,3±0,1
	16	23	13,3±0,1	99,4±0,2	0,40±0,08	5,3 ±0,1	134±4	3,3±0,1
	20	13	13,2±0,1	99,0±0,2	0,46±0,08	5,1±0,1	130±4	3,4±0,1
Levuri imobilizate: ProDessert BA-11	12	36	13,8±0,1	90,0±0,2	0,28±0,08	5,1±0,1	136±4	3,3±0,1
	16	28	13,8±0,1	90,0±0,2	0,37±0,08	5,2 ±0,1	140±4	3,3±0,1
	20	22	13,6±0,1	90,0±0,2	0,43±0,08	5,1±0,1	136±4	3,3±0,1
Levuri imobilizate: EZFerm 44	12	34	14,0±0,1	90,0±0,2	0,22±0,08	5,2±0,1	130±4	3,3±0,1
	16	24	13,8±0,1	90,0±0,2	0,36±0,08	5,2 ±0,1	134±4	3,4±0,1
	20	21	13,7±0,1	90,0±0,2	0,40±0,08	5,2±0,1	138±4	3,4±0,1

Tabelul 3.13. Caracteristica organoleptică a vinurilor albe din struguri supracopți soiul Traminer alb (a.r. 2014) fermentate la diferite temperaturi și sușe de levuri

Sușa de levuri	Temperatura de fermentare, °C	Caracteristica organoleptică a vinurilor				Notă organoleptică, puncte
		Limpiditatea	Culoarea	Aroma	Gustul	
Microflora indigenă	12	Limpede, fără nuanțe străine.	Pai cu nuanțe slab aurii.	Simplă, cu nuanțe de H <sub>2</sub> S.	Simplu, fără nuanțe străine.	7,7
	16	Limpede, fără nuanțe străine.	Pai cu nuanțe slab aurii.	Plăcută cu ușoare nuanțe de fructe.	Simplu curat, specific vinului tânăr.	7,8
	20	Limpede, fără nuanțe străine.	Pai cu nuanțe slab aurii.	Plăcută, cu nuanțe ușoare de levuri.	Simplu, curat, plat.	7,6
Levuri uscate active: EZFerm 44	12	Limpede, strălucitor, fără	Pai cu nuanțe slab aurii.	Simplă, cu nuanțe ușoare de levuri.	Simplu, curat.	7,7
	16	Limpede, fără nuanțe străine.	Pai cu nuanțe slab aurii.	Curată, florală de trandafir, caracteristic	Caracteristic tipului de vin, cu nuanțe slabe de	8,0
	20	Limpede.	Pai cu nuanțe slab aurii.	Curată, cu ușoare nuanțe de fructe.	Caracteristic tipului de vin, plat.	7,8
Levuri imobilizate: ProDessert BA-11	12	Limpede, fără nuanțe străine.	Auriu deschis.	Curată, cu nuanțe ușor florale de trandafir.	Plin, caracteristic tipului de vin.	8,0
	16	Limpede, cristalin, fără nuanțe străine.	Auriu deschis.	Florală de trandafir intensă.	Plin, catifelat.	8,1
	20	Limpede, fără nuanțe străine.	Auriu deschis.	Fructuos, caracteristic soiului.	Plin, rond.	7,9
Levuri imobilizate: EZFerm 44	12	Limpede, strălucitor, fără nuanțe străine.	Pai cu nuanțe slab aurii.	Curată, cu nuanțe ușoare florale de trandafir.	Plin, caracteristic tipului de vin.	8,1
	16	Limpede, strălucitor, fără	Pai deschis.	Aromă florală de trandafir, curată.	Rond, plin.	8,1
	20	Limpede, fără nuanțe străine.	Pai deschis.	Arome de fructe.	Plin, catifelat.	7,9

Rezultatele analizei organoleptice reflectate în tabelul 3.13 au demonstrat, că vinurile obținute cu microflora indigenă se caracterizează prin aromă simplă la proba fermentată la temperatura de 12 °C și nuanțe ușoare de levurile la  $t = 20$  °C. Proba fermentată la  $t = 16$  °C avea aromă cu nuanțe ușoare de fructe, iar gustul simplu, specific vinului tânăr.

Fermentația alcoolică a mustului din soiul Traminer cu levuri uscate active EZFerm 44 a fost sistată la concentrațiile de zahăr de 99,2 g/L zaharuri pentru proba fermentată la  $t = 12$  °C; 99,4 g/L pentru proba fermentată la  $t = 16$  °C, iar pentru proba fermentată la temperatura de 20 °C s-a obținut o concentrație în masă a zaharurilor de 99,0 g/L. Conținutul de alcool este 13,3 % vol. la  $t = 12$  °C, 13,3 % vol. pentru proba fermentată la  $t = 16$  °C și 13,2 % vol. pentru proba fermentată la temperatura de 20 °C.

La utilizarea levurilor imobilizate fermentația s-a sistat la concentrațiile de zahăr de 90 g/L pentru toate probele. Concentrația alcoolică este 13,6 % vol. la  $t = 12$  °C fermentată cu levuri imobilizate ProDessert BA 11 și respectiv 14,0 % vol. la  $t = 12$  °C fermentată cu levuri imobilizate EZFerm 44. Levurile imobilizate comparativ cu cele neimobilizate fermentează mustul mai lin și nu se înregistrează creșterea bruscă a temperaturii și a degajării de CO<sub>2</sub>.

În baza cercetărilor efectuate pentru producerea vinurilor din struguri supracopți se recomandă de a efectua procesul de fermentare alcoolică la temperatura de 16 °C cu levuri imobilizate, iar mustul de struguri obținut fiind preventiv filtrat, apoi includerea sacilor cu levuri imobilizate (levuri uscate active EZFerm 44 izolate într-un sac confecționat din membrane permeabile cu diametrul porilor 0,60 μm), sistarea fermentării alcoolice prin eliminarea sacilor cu levuri imobilizate, răcirea vinului materie primă obținut până la 5 °C și o filtrare ulterioară, apoi stabilizarea vinului materie primă obținut se efectuează prin sulfitare maxim până la 200 mg/L SO<sub>2</sub> total și menținut la 5 ÷ 6 °C.

La concentrații ridicate de glucide, multiplicarea levurilor în mustul filtrat va fi lentă pe când în saci cu levuri imobilizate mai rapidă datorită diferenței presiunii osmotice.

### **3.5. Concluzii la capitolul 3.**

În urma analizei dependențelor dintre factorii fizico-chimici și creșterea biomasei de levuri imobilizate conform tehnicii propuse, impactul este astfel: dozarea de oxigen (O<sub>2</sub>) > temperatura de fermentare (T, °C) > concentrația inițială în zaharuri (Z<sub>0</sub>) > suprafața imobilizatorului (S<sub>i</sub>).

În baza rezultatelor obținute referitoare la influența factorilor fizico-chimici asupra acumulării biomasei de levuri prin tehnica propusă se recomandă de desfășurat procesul de fermentație combinată a mustului la temperatura de  $15 \pm 1$  °C, concentrația în masă a zaharurilor inițială a mustului  $195 \pm 5$  g/L și dozarea de oxigen  $6 \pm 2$  mg O<sub>2</sub>/L·min.

## **4. ELABORAREA REGIMURILOR TEHNOLOGICE DE PRODUCERE ALE VINURILOR MATERIE PRIMĂ CU CONȚINUT CORECTAT DE ALCOOL**

**4.1. Procesul de fermentație combinată a mustului la producerea vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool.**

**4.1.1. Analiza comparativă a fermentației combinate a mustului cu utilizarea diferitor sușe de levuri la producerea vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool.**

La momentul actual în lume există o tendință de a micșora conținutul excesiv de alcool în vinuri de la 13,5 ÷ 14,5 % până la nivele mai moderate (11,5 ÷ 12,5 %), ce ar avea beneficii asupra organismului uman [119, 120].

De asemenea savanții studiază diferite specii de levuri, care ar micșora producția de alcool în urma fermentării alcoolice, care este un proces natural ce nu necesită intervenția în compoziția chimică a vinului [125, 130, 139].

În urma cercetărilor efectuate anterior, s-a observat o capacitate a levurilor imobilizate de a consuma oxigenul și glucidele în timpul fermentației aerobe, iar pe de altă parte de transformare a glucidelor în alcool etilic și creșterea biomasei sale.

Utilizarea tehnicii de imobilizare a levurilor uscate active prin păstrarea lor în spatele unei bariere, și anume a unei membrane filtrante cu diametrul porilor 0,60 μm permite multiplicarea levurilor uscate active cu pătrunderea substanțelor nutritive micro - și macromoleculare, precum și a glucidelor pentru formarea alcoolilor, dar nu și trecerea levurilor sau altor microorganisme după barieră. Astfel, în bioreactor se formează o fermentație combinată, aerobă în interiorul imobilizatorului și anaerobă în exteriorul lui.

Conform cercetărilor expuse în 3.1.4, s-a determinat, că dozarea oxigenului de 4 mg/L·min și 6 mg/L·min la temperatura de 20 °C se poate de obținut aceeași biomasă de levuri ca și în cazul fermentării anaerobe, dar într-un timp mai redus cu 30 ore, iar conform Reglementării tehnice nr. 356 din 11.06.2015 concentrația alcoolică poate fi redusă cu maximum 20 %, iar concentrația alcoolică dobândită a produsului finit trebuie să fie min. 9 % vol.

În scopul obținerii vinului cu conținut corectat de alcool prin aplicarea fermentației alcoolice combinate cu levuri imobilizate în comparație cu alte sușe de levuri s-au efectat următoarele experimente: în 5 L de must, s-a declanșat fermentația alcoolică cu microflora indigenă, cu levuri uscate active de tip EZFerm 44, cu levuri imobilizate în alginat de tip ProDessert BA-11, cu levuri imobilizate (levuri uscate active EZFerm 44 izolate într-un sac confecționat din membrane



permeabile cu diametrul porilor 0,60  $\mu\text{m}$ ), în doze de 0,4 g/L la temperatura de 20 °C și dozarea oxigenului de 6 mg/L·min. Mustul de struguri din soiul Chardonnay (a.r. 2013) pentru probele cu levuri uscate active și levuri imobilizate a fost filtrat prin filtru cu cătuș pentru must MESH2500 înainte de fermentare, iar concentrația în masă a zaharurilor a fost 210 g/L, aciditatea titrabilă fiind 7,2 g/L, pH = 3,1 și valoarea potențialului redox 212 mV.

Dinamica fermentării alcoolice a mustului Chardonnay (a.r. 2013) cu diferite levuri este prezentată în fig. 4.1.

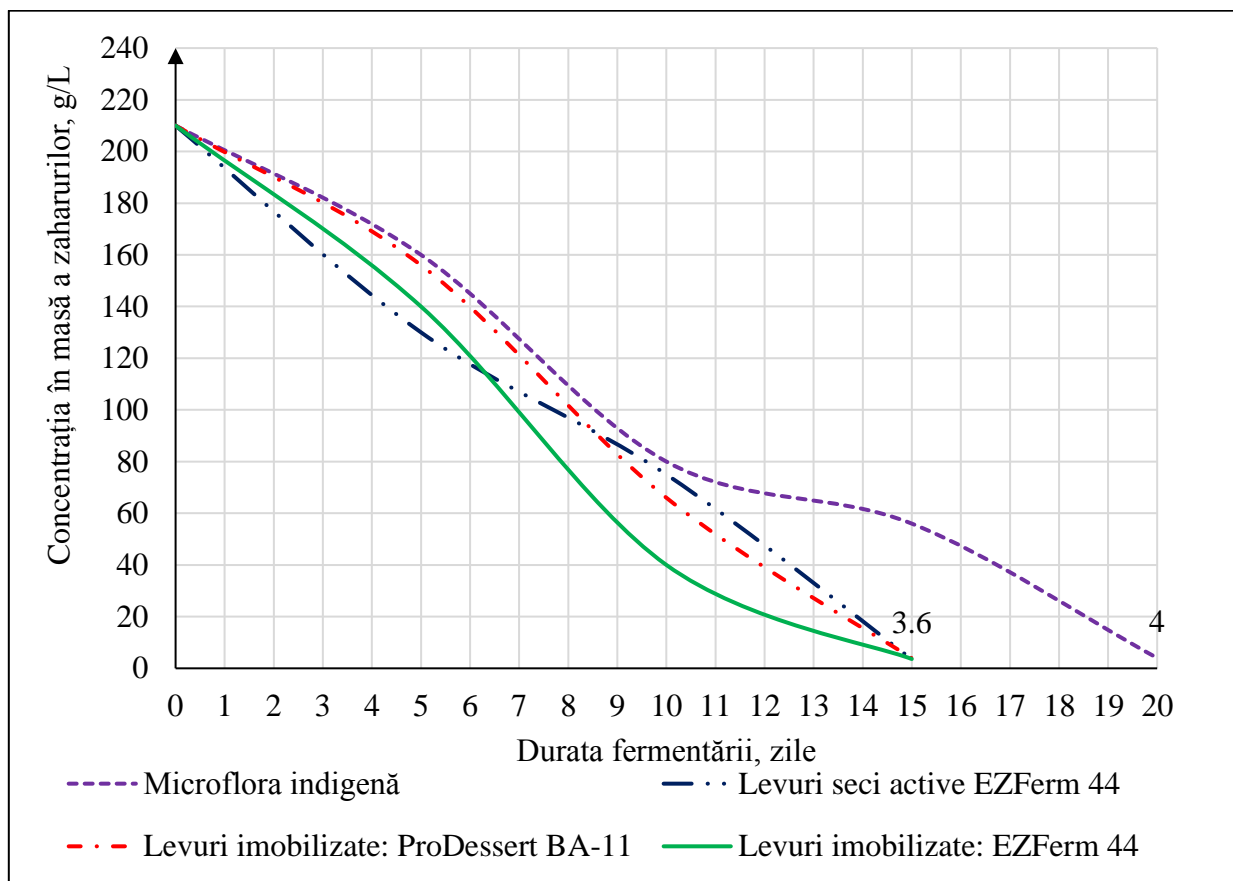


Fig. 4.1. Dinamica fermentării alcoolice a mustului din soiul Chardonnay (a.r. 2013) cu diferite sușe de levuri la fabricarea vinurilor albe cu conținut corectat de alcool.

Conform rezultatelor obținute (fig. 4.1), cea mai lungă durată de fermentare este la probele cu microflora indigenă, care a durat 20 de zile, iar pentru celelalte probe 15 zile. Concentrația în masă a zaharurilor variază între 3,5 ÷ 4,0 g/L, ceea ce corespunde cerințelor pentru vinurile albe seci.

Pe parcursul fermentării alcoolice se acumulează o biomasă mare de levuri. Din aceste considerente s-a determinat evoluția numărului de celule levuriene (fig. 3.30). Concentrația maximă de celule levuriene s-a acumulat după 15 zile de fermentare pentru mostra cu levuri imobilizate în spatele unei bariere în valoare de  $3,20 \cdot 10^8$  mln celule/cm<sup>3</sup>. Același număr de celule se obține în toate probele experimentale după 20 zile de fermentare, cu excepția probei fermentate cu microflora indigenă unde se acumulează doar  $3 \cdot 10^8$  mln celule.

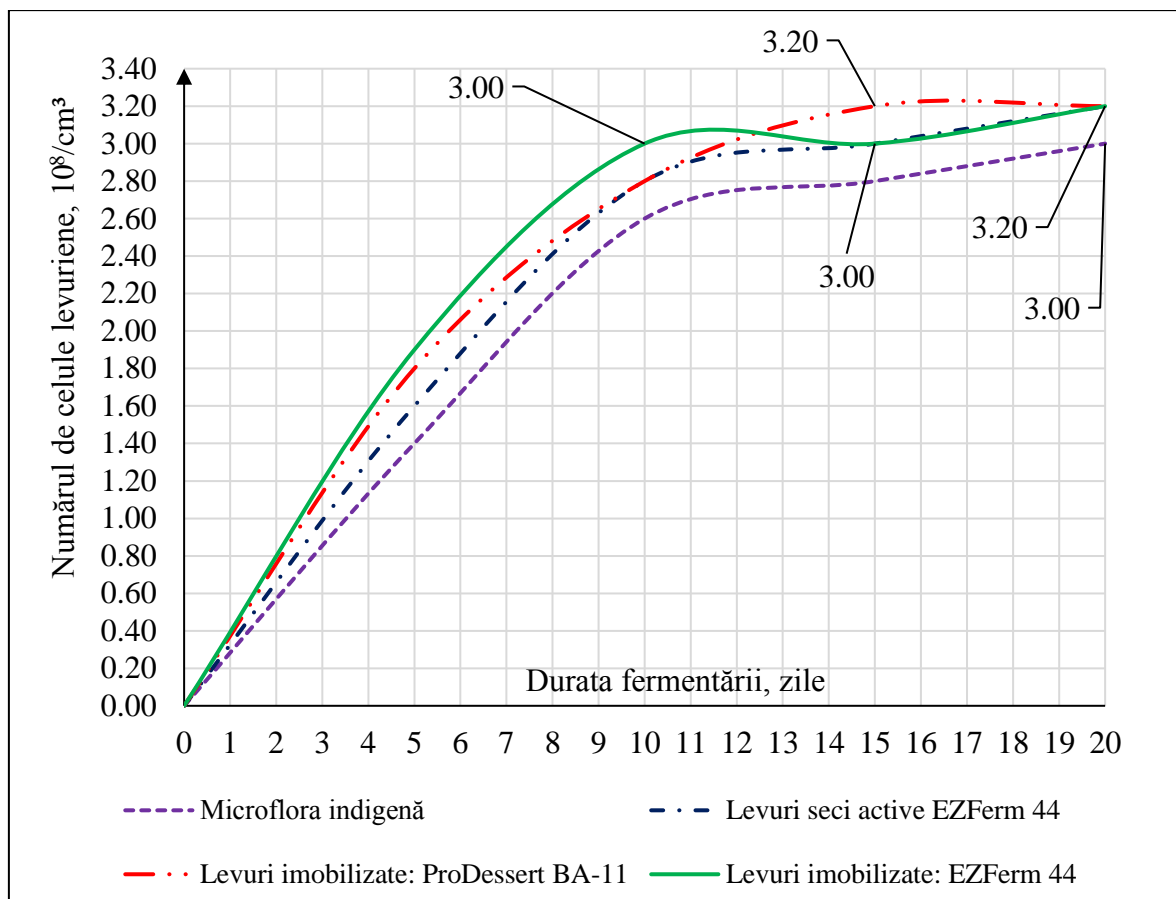


Fig. 4.2. Evoluția numărului de celule levuriene la fermentația mustului din soiul Chardonnay (a.r. 2013) la fermentația mustului cu diferite levuri pentru fabricarea vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool.

Dacă comparăm datele din fig. 4.1 și fig. 4.2 se observă, că în timp ce concentrația în masă a zaharurilor scade crește numărul de celule levuriene, această evoluție fiind practic dependentă una de alta.

Păstrarea vinurilor cu conținut corectat de alcool s-a realizat prin sulfitearea până la 160 mg/L SO<sub>2</sub> și menținerea la temperatura de 10 ÷ 12 °C.

#### 4.1.2. Analiza fizico-chimică și organoleptică a vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool obținute la fermentația mustului cu diferite levuri.

Conform experimentelor efectuate sușele de levuri influențează asupra complexului fizico-chimic a vinurilor. Vinurile albe cu conținut corectat de alcool produse cu diferite sușe de levuri au obținut următorii indici fizico-chimici (tabelul 4.1).

Rezultatele prezentate în tabelul 4.1 ne dă posibilitatea de a face concluzia, că concentrația alcoolică cea mai joasă poate fi obținută cu levuri imobilizate EZFerm 44 în valoare de 7,68 % vol. Celelalte probe prezintă valori mai mari de 10 % vol. Concentrația în masă a acizilor volatili 0,90 g/L a probei obținute cu levuri sălbatice, care este semnificativ de înaltă comparativ cu alte probe.

La elaborarea tezei a fost studiată influența fermentației combinate cu levuri imobilizate în comparație cu levurile neimobilizate asupra transformării unor compuși chimici, care participă la formarea gustului și aromei vinurilor, inclusiv a indicilor fizico-chimici (tab. 4.1), aminelor biogene (tab. 4.2), alcoolilor superiori (fig. 4.3 ÷ 4.6), a azotului aminic (fig. 4.7) și acizilor organici (fig. 4.8).

Tabelul 4.1. Caracteristica fizico-chimică a probelor experimentale de vinuri din soiul Chardonnay (a.r. 2013) la fermentația mustului cu diferite levuri

Tipul de levuri	Indicii fizico-chimici					pH
	Concentrația alcoolică, % vol.	Concentrația în masă a:				
		zaharurilor, g/L	acizilor volatili, g/L	acizilor titrabili, g/L	SO <sub>2</sub> total, mg/L	
Microflora indigenă	11,5±0,1	3,2±0,20	<b>0,90±0,08</b>	6,1±0,1	118±4	3,5±0,1
Levuri uscate active: EZFerm 44	11,3±0,1	3,2±0,20	0,53±0,08	6,4±0,1	119±4	3,1±0,1
Levuri imobilizate: ProDessert BA-11	10,8±0,1	3,9±0,20	0,48±0,08	6,3±0,1	116±4	3,2±0,1
Levuri imobilizate: EZFerm 44	<b>7,7±0,1</b>	3,8±0,20	0,40±0,08	6,4±0,1	116±4	3,1±0,1

Fiindcă la baza obținerii vinurilor cu conținut corectat de alcool este un proces biologic, legat cu activitatea levurilor a fost necesar de a determina conținutul de amine biogene, care este limitat de documentele normative. Rezultatele analizelor sunt prezentate în tabelul 4.2.

Tabelul 4.2. Conținutul de amine biogene în probele de vinuri din soiul Chardonnay (a.r. 2013) cu conținut corectat de alcool la fermentația mustului cu diferite levuri

Amine biogene (mg/L)	Microflora indigenă	Levuri uscate active EZFerm 44	Levuri imobilizate: ProDessert BA-11	Levuri imobilizate: EZFerm 44
Putrescina	0,41 ± 0,19	0,41 ± 0,06	0,40 ± 0,04	0,39 ± 0,08
Cadaverina	0,42 ± 0,05	0,35 ± 0,05	0,40 ± 0,05	0,34 ± 0,05
2-feniletilamina	2,64 ± 0,18	2,37 ± 0,15	2,30 ± 0,18	2,33 ± 0,15
Spermidina	0,65 ± 0,09	0,61 ± 0,09	0,53 ± 0,09	0,58 ± 0,11
Triptamina	1,89 ± 0,17	1,74 ± 0,10	1,69 ± 0,17	1,63 ± 0,12
Serotonina	0,18 ± 0,05	0,15 ± 0,04	0,16 ± 0,05	0,13 ± 0,05
Tiramina	0,23 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,25 ± 0,02	0,20 ± 0,02
Histamina	3,29 ± 0,06	3,25 ± 0,09	3,26 ± 0,06	3,21 ± 0,06
<b>Suma aminelor biogene</b>	<b>9,71</b>	<b>9,07</b>	<b>8,99</b>	<b>8,81</b>

Conform rezultatelor prezentate în tabelul 4.2 se observă, că metoda de fermentare alcoolică nu influențează semnificativ conținutul de amine biogene în vinurile obținute. Concentrația

aminelor biogene este între 8,81 mg/L și 9,71 mg/L ceea ce nu depășește norma maximă de 10 mg/L. Probele de vinuri obținute cu utilizarea levurilor imobilizate au un conținut mai mic de amine biogene cu aproximativ 9 %, iar cea mai mare concentrație o prezintă histamina. După histamina, următoarea amină biogenă este 2-feniletilamina, urmat de triptamina. Concentrația putrescinei nu este semnificativă de la o probă la alta, fiind între 0,39 ÷ 0,41 mg/L. Astfel, putem confirma faptul, că utilizarea levurilor imobilizate la producerea vinurilor nu duce la mărirea concentrației aminelor biogene în produsul finit.

Formarea alcoolilor superiori are loc în timpul fermentației alcoolice a mustului prin metabolizarea glucidelor de către levuri sau prin dezaminarea și decarboxilarea acizilor aminici. Ei au un rol important la formarea aromei și buchetului vinului. De aceea, este foarte important de determinat compoziția compușilor volatili în probele obținute a cărui conținut este reprezentat în graficele figurelor 4.3 ÷ 4.6.

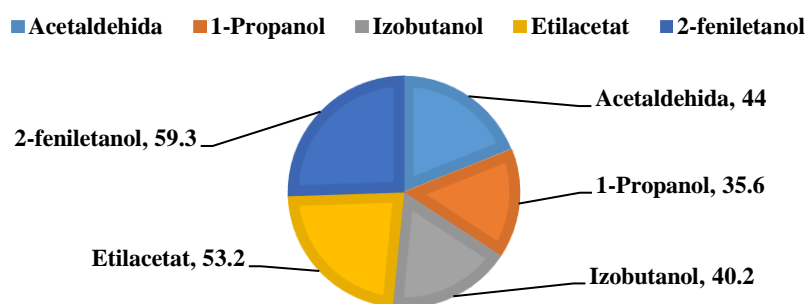


Fig. 4.3. Conținutul de compuși volatili (mg/L) în probele experimentale de vinuri din soiul Chardonnay (a.r. 2013) cu conținut corectat de alcool obținut cu microfloră indigenă

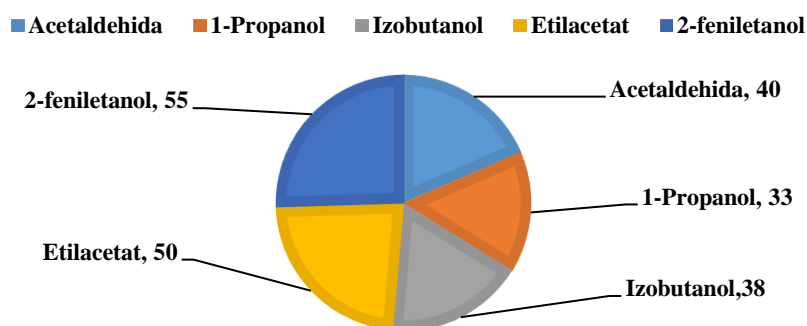


Fig. 4.4. Conținutul de compuși volatili (mg/L) în probele experimentale de vinuri din soiul Chardonnay (a.r. 2013) cu conținut corectat de alcool obținut cu levuri uscate active EZFerm 44

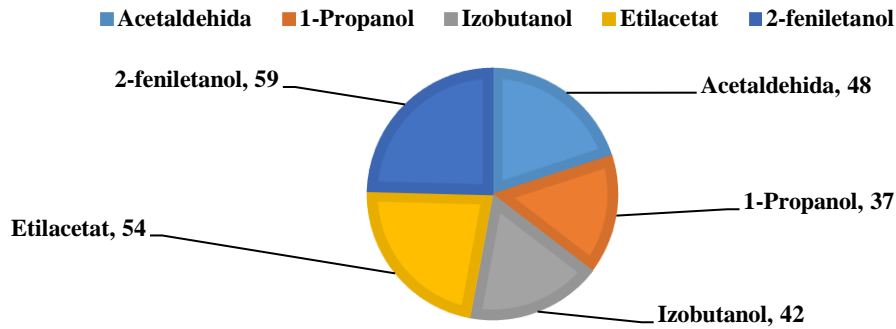


Fig. 4.5. Conținutul de compuși volatili (mg/L) în probele experimentale de vinuri din soiul Chardonnay (a.r. 2013) cu conținut corectat de alcool obținut cu levuri imobilizate ProDessert BA-11

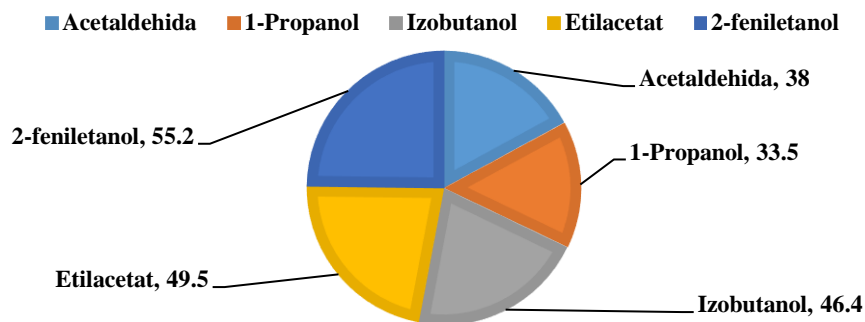


Fig. 4.6. Conținutul de compuși volatili (mg/L) în probele experimentale de vinuri din soiul Chardonnay (a.r. 2013) cu conținut corectat de alcool obținut cu levuri imobilizate EZFerm 44

Ponderea compușilor volatili (fig. 4.6) în probele experimentale din soiul Chardonnay (a.r. 2013) cu conținut corectat de alcool obținut cu diferite levuri este următoare: 2-feniletanol:  $23 \div 26 \%$ , acetaldehida:  $19 \div 20 \%$ , 1-propanol:  $15 \div 16 \%$ , izobutanol:  $17 \div 18 \%$ , iar etilacetatul:  $23 \%$  care nu se deosebește de la o probă la alta. Concentrația compușilor volatili nu variază semnificativ la probele de vin obținute cu levuri neimobilizate ( $216 \text{ mg/L}$ ) și cele imobilizate ( $222,6 \text{ mg/L}$ ), deci procedeul de imobilizare nu afectează activitatea levurilor în ceea ce privește producerea alcoolilor superiori în timpul fermentației alcoolice.

Compușii azotați din vin au o pondere însemnată în compoziția vinului și pun probleme tehnologice de condiționare și stabilizare a vinurilor. Azotul aminic reprezintă sursa de hrană pentru levuri în timpul fermentației alcoolice, participă la formarea extractului vinului și contribuie la valoarea nutritivă a vinului. De aceea, este foarte important de determinat cantitatea lui în produsul obținut, date reflectate în fig. 4.7.

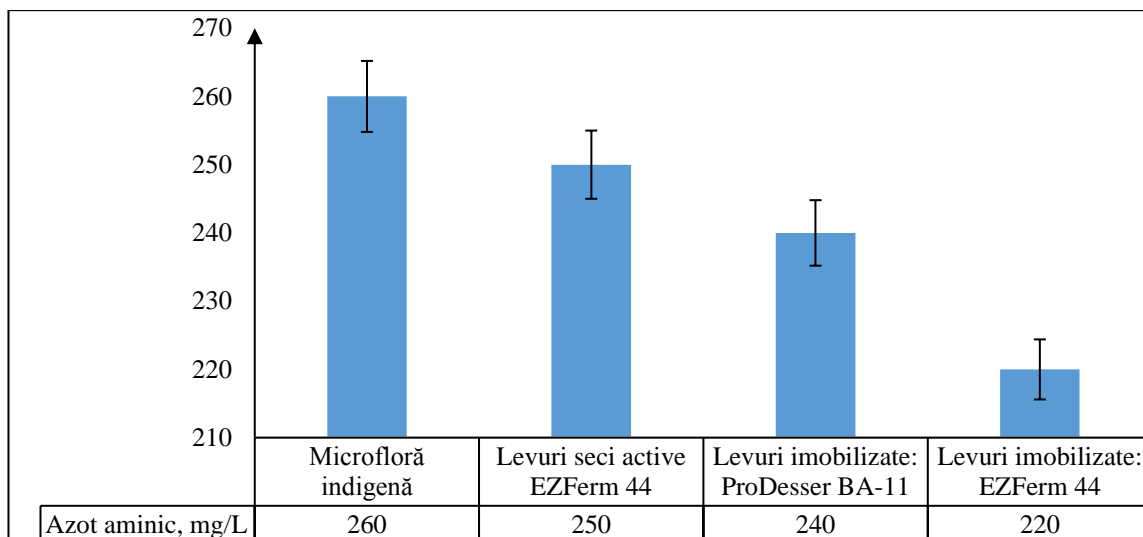


Fig. 4.7. Variația conținutul de azot aminic în probele experimentale de vinuri din soiul Chardonnay (a.r. 2013) cu conținut corectat de alcool obținut la fermentația mustului cu diferite levuri

Conținutul de azot aminic (fig. 4.7) este în limita admisibilă, iar probele obținute cu levuri imobilizate au un conținut mai scăzut cu 7,6 % și, respectiv, 15,3 % de azot aminic.

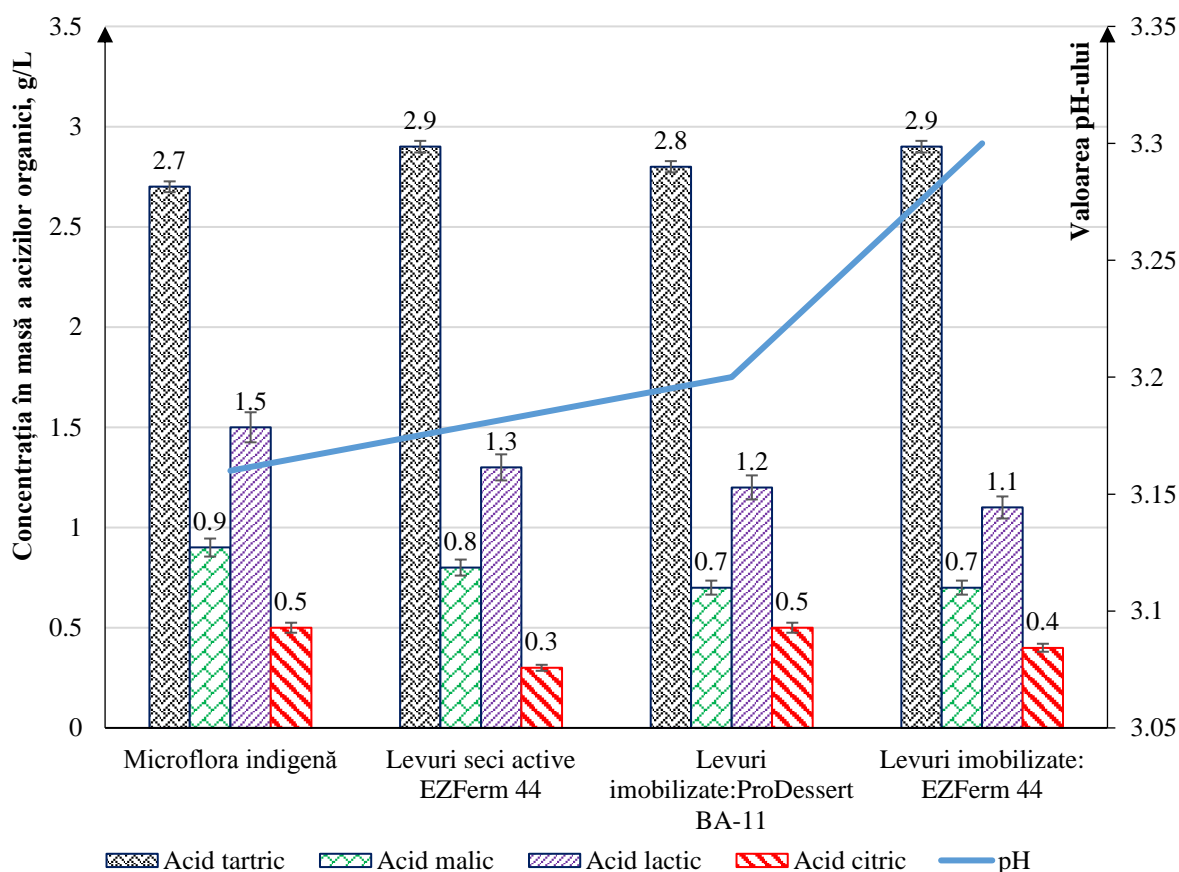


Fig. 4.8. Variația conținutul de acizi organici și a pH-ului în probele experimentale de vinuri din soiul Chardonnay (a.r. 2013) cu conținut corectat de alcool obținut la fermentația mustului cu diferite levuri

Variația conținutul de acizi organici este într-o interdependență cu valoarea pH-ului, cu cât cantitatea acizilor organici este mai mare cu atât valoarea pH-ului este mai mică ceea ce invocă un mediu acid mai mare. În sumă, valoarea acizilor organici au valori apropiate, fiind cuprinse între 5,1 ÷ 5,6 g/L, astfel obținându-se probe echilibrate în gust cu ușoară prospețime creată de prezența acizilor organici (fig. 4.9).

În scopul determinării influenței sușelor de levuri asupra calităților organoleptice a vinurilor obținute a fost efectuată analiza senzorială. Profilul senzorial radial din fig. 3.37 arată, că probele obținute cu levuri imobilizate se află în cadranul cu arome cum ar fi: măr, citrus, floral, fructuos și condimente, iar probele obținute cu levuri neimobilizate sunt aproape de cadranul cu defecte, cum ar fi: răsuflat, vegetal și levuri.

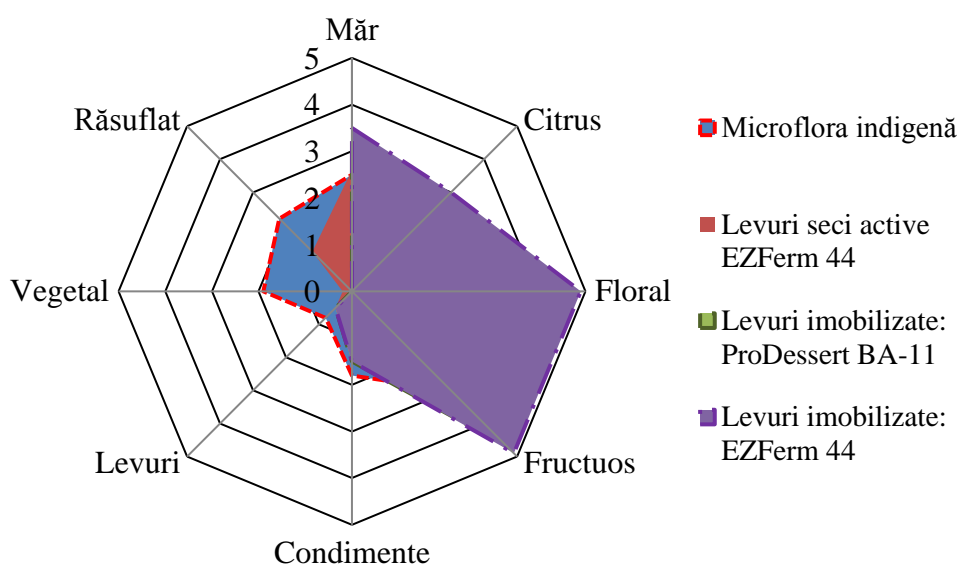


Fig. 4.9. Profilul senzorial al probelor experimentale de vinuri cu conținut corectat de alcool din soiul Chardonnay la fermentația mustului cu diferite levuri (a.r. 2013)

În baza rezultatelor obținute se recomandă pentru producerea vinurilor albe cu conținut corectat de alcool de efectuat fermentația alcoolică cu administrarea levurilor imobilizate (levuri uscate active EZFerm 44 izolate într-un sac confecționat din membrane permeabile cu diametrul porilor 0,60 μm), în doza de 0,4 g/L la temperatura de 20 °C și dozarea oxigenului de 6 mg/L·min, iar mustul de struguri să fie filtrat înainte de fermentare. După fermentația alcoolică vinul este sulfitat în doze de până la 160 mg/L și menținut la temperatura de 5 ÷ 6 °C.

#### **4.2. Elaborarea tehnologiei de producere a vinurilor albe cu conținut corectat de alcool prin fermentație combinată.**

Rezultatele obținute în cercetările efectuate la producerea vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool au demonstrat că, prin aerarea mustului în procesul de fermentație alcoolică o parte de glucide sunt transformate prin fermentația aerobă în CO<sub>2</sub> și apă, reducând tăria alcoolică a vinului obținut.

Totodată este cunoscut că, levurile speciei *Saccharomyces oviformis* sunt mai active în comparație cu *Saccharomyces ellipsoideus* în transformarea glucidelor în CO<sub>2</sub> și apă [44].

Încercările de a combina fermentația alcoolică a mustului cu levurile *Saccharomyces oviformis* și levurile *Saccharomyces ellipsoideus* imobilizate în pungi sau tuburi au apărut unele dificultăți legate cu volumele mari ale imobilizatoarelor.

Din aceste considerente s-au propus două scheme tehnologice de fabricare a vinurilor albe seci cu conținut corectat în alcool care sunt prezentate în fig. 4.10 și fig. 4.11.

Particularitățile schemei tehnologice nr. 1 (fig. 4.10) sunt:

- recoltarea strugurilor la o concentrație în masă a zaharurilor de 200 g/L;
- transportarea strugurilor în bene metalice sau containere din plastic la cramă maxim până la 4 ore păstrând integritatea boabelor;
- desciorchinarea – zdrobirea strugurilor cu sulfitearea mustuielii în doze de 50 ÷ 75 mg/L și evacuarea ciorchinilor;
- separarea mustului ravac și presarea boștinei cu evacuarea tescovinei în prese;
- asamblarea mustului ravac cu prima fracție până la randamentul 60 ÷ 65 dal/t;
- deburbarea mustului la temperatura 12 ÷ 14 °C timp de 12 – 24 ore cu dozare de bentonită (doza stabilită în rezultatul testelor de laborator);
- fermentația aerobă până la 40 g/L din conținutul inițial de zahăr cu sușe de levuri *Saccharomyces oviformis* (doza 0,4 g/L) imobilizate conform tehnicii propuse, la temperatura 20 °C cu dozarea de oxigen 6 mg/L·min cu ajutorul echipamentului DosiOx QX2;
- evacuarea sacilor de levuri imobilizate din mediul de fermentare;
- fermentația anaerobă cu sușe de levuri *Saccharomyces ellipsoideus* (doza 0,4 g/L) la temperatura 14 ÷ 16 °C;



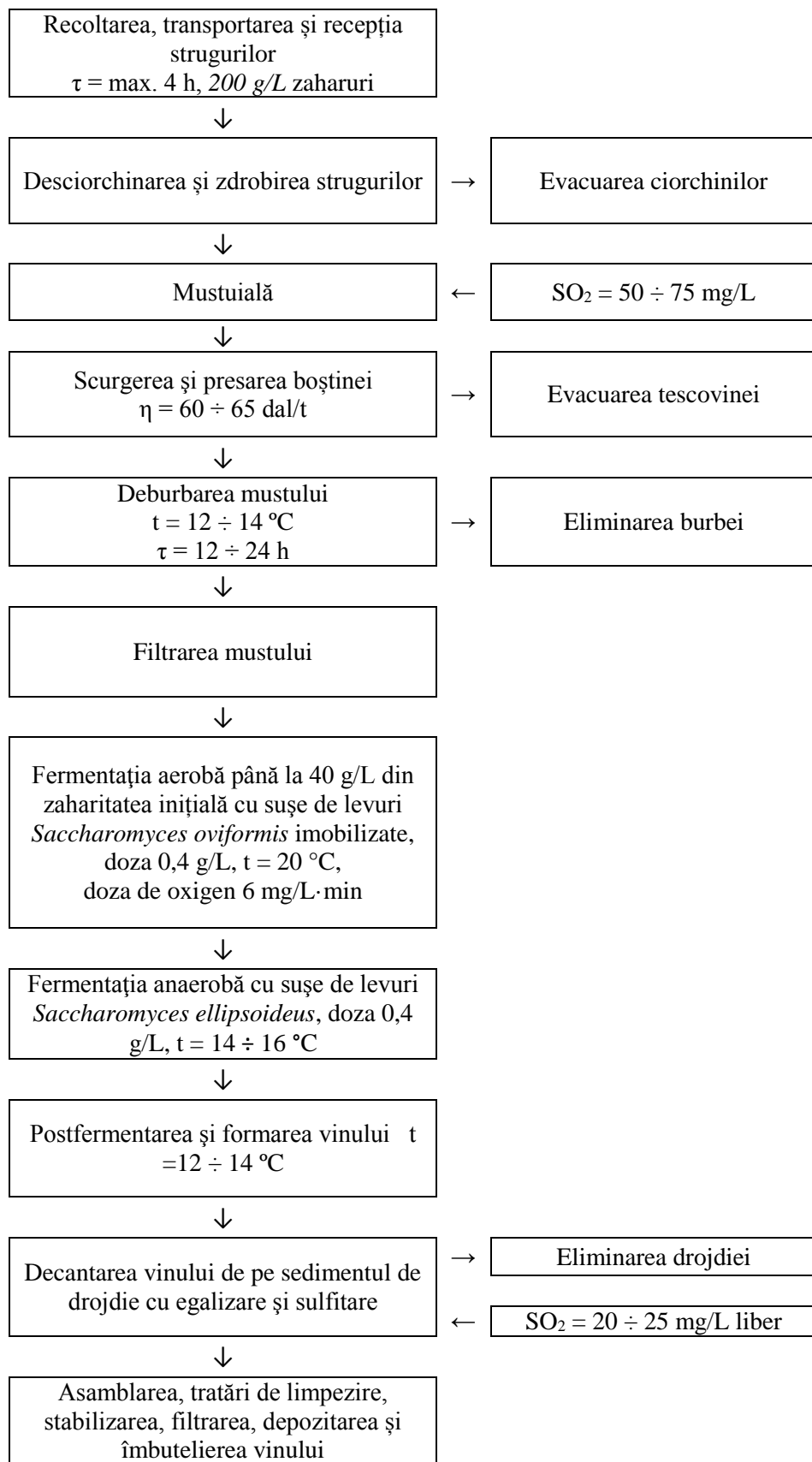


Fig. 4.10. Schema tehnologică nr. 1 de producere a vinurilor cu conținut corectat de alcool prin fermentația combinată

- postfermentarea și formarea vinului la temperatura 12 ÷ 14 °C;
- tragerea vinului de pe sedimentul de drojdie cu sulfitare 20 ÷ 25 mg/L de SO<sub>2</sub>;
- depozitarea vinului în rezervoare din inox la temperatura 10 ÷ 12 °C. Pe parcursul depozitării de menținut concentrația în masă a anhidridei sulfuroase 100 ÷ 120 mg/L SO<sub>2</sub> total în vin;
- asamblarea și tratarea complexă a vinului în scopul stabilizării față de tulburări cu menținerea pe clei timp de 10 ÷ 12 zile la temperatura de 15 °C;
- tragerea de pe clei cu filtrare;
- tratarea vinului cu frig la temperatura – 4 ÷ - 5 °C, menținerea la aceeași temperatură min. 3 zile cu filtrarea ulterioară la temperatura de răcire;
- repausul vinului: 10 zile la temperatura 15 °C și sulfizarea vinului în doze de 100 ÷ 120 mg/L SO<sub>2</sub> total;
- îmbutelierea sterilă la rece cu filtrarea vinului prin filtre cu membrane diametrul porilor 0,45 μm.

Particularitățile tehnologice schemei tehnologice nr. 2 (fig. 4.11) se bazează pe efectuarea fermentației alcoolice a unei părți de must cu utilizarea sușelor de levuri din specia *Saccharomyces oviformis* în condiții anaerobe și fermentația a altei părți de must în condiții aerobe în bioreactor, după care prima parte este asamblată cu a doua parte.

Prin folosirea schemei tehnologice nr. 2 s-a urmărit corecția conținutului de alcool cu maxim 20 % de la concentrația alcoolică totală a vinului alb sec Sauvignon blanc produs prin tehnologia tradițională.

Pentru a păstra aromele de soi ale vinului alb sec Sauvignon blanc fermentat în condițiile aerobe se propune de a fabrica partenerul doi de cupaj dintr-un soi neutru de struguri Aligote. Cupajarea vinurilor obținute s-a efectuat conform datelor prezentate în tabelul 4.3.

Tabelul 4.3. Concentrația alcoolului etilic în probele experimentale de vinuri cu conținut corectat de alcool

<b>Soiurile de struguri</b>	<b>Concentrația în masă a zăharului în mustul inițial, g/L</b>	<b>Volumul mustului, dal</b>	<b>Concentrația alcoolică teoretică, % vol.</b>	<b>Concentrația alcoolică reală, % vol.</b>	<b>Concentrația alcoolică a cupajului, % vol.</b>
<i>Proba I</i> Sauvignon Aligote	200	800	12,0	11,8	10,8
	182	200	10,9	6,0	
<i>Proba II</i> Sauvignon Aligote	200	700	12,0	11,8	10,2
	182	300	10,9	6,0	

Schema tehnologică nr. 2 elaborată a fost implementată în producere la fabrica de vinuri „JAVGURVIN” S.A., deoarece vinul obținut s-a manifestat prin caracteristici organoleptice mai superioare față de vinul obținut după schema tehnologică nr. 1. Indicii fizico-chimici și organoleptici ai vinurilor obținute după schema tehnologică nr. 2 sunt prezentați în tabelul 4.4.

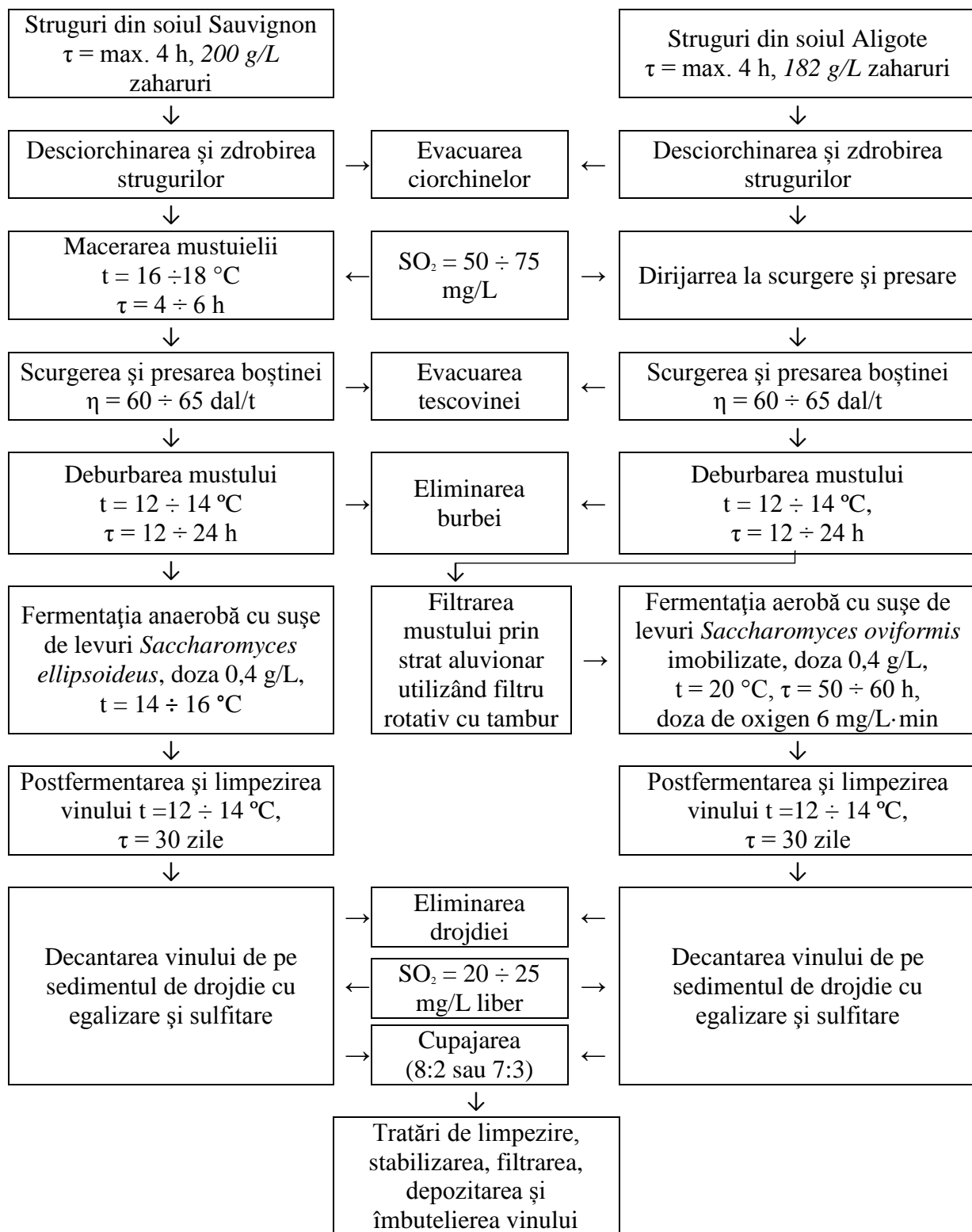


Fig. 4.11. Schema tehnologică nr. 2 de producere a vinurilor cu conținut corectat de alcool prin fermentația combinată

Tabelul 4.4. Indicii fizico-chimici a probelor experimentale cu conținut corectat de alcool (după 3 luni)

№	Probele	Indicii fizico-chimici							Nota organoleptică
		Concentrația alcoolică, % vol.	Concentrația în masă a:					pH	
			zaharurilor reducătoare, g/L	acizilor titrabili, g/L	acizilor volatili, g/L	anhidridei sulfuroase totale, mg/L	extractului sec nereducător, g/L		
1.	<i>Sauvignon</i>	11,8 ± 0,1	3,0 ± 0,5	6,70 ± 0,13	0,600 ± 0,003	113 ± 10	18,7 ± 0,1	3,2 ± 0,1	8,4
2.	<i>Aligote</i>	5,9 ± 0,1	2,6 ± 0,5	7,30 ± 0,13	0,700 ± 0,003	120 ± 10	18,1 ± 0,1	3,1 ± 0,1	8,0
3.	<i>Cupaj 1 (8:2)</i>	10,6 ± 0,1	2,9 ± 0,5	6,80 ± 0,10	0,650 ± 0,003	115 ± 10	18,6 ± 0,1	3,1 ± 0,1	8,0
4.	<i>Cupaj 2 (7:3)</i>	10,0 ± 0,1	2,8 ± 0,5	6,90 ± 0,10	0,670 ± 0,003	116 ± 10	18,5 ± 0,1	3,1 ± 0,1	8,0
5.	<i>Cupaj 3 (9:1)</i>	11,2 ± 0,1	3,0 ± 0,5	6,80 ± 0,10	0,600 ± 0,003	114 ± 10	18,6 ± 0,1	3,2 ± 0,1	7,9
6.	<i>Cupaj 4 (6:4)</i>	9,4 ± 0,1	2,8 ± 0,5	6,90 ± 0,10	0,600 ± 0,003	116 ± 10	18,5 ± 0,1	3,2 ± 0,1	7,9
7.	<i>Cupaj 5 (5:5)</i>	8,9 ± 0,1	2,8 ± 0,5	7,00 ± 0,10	0,700 ± 0,003	117 ± 10	18,4 ± 0,1	3,2 ± 0,1	7,9

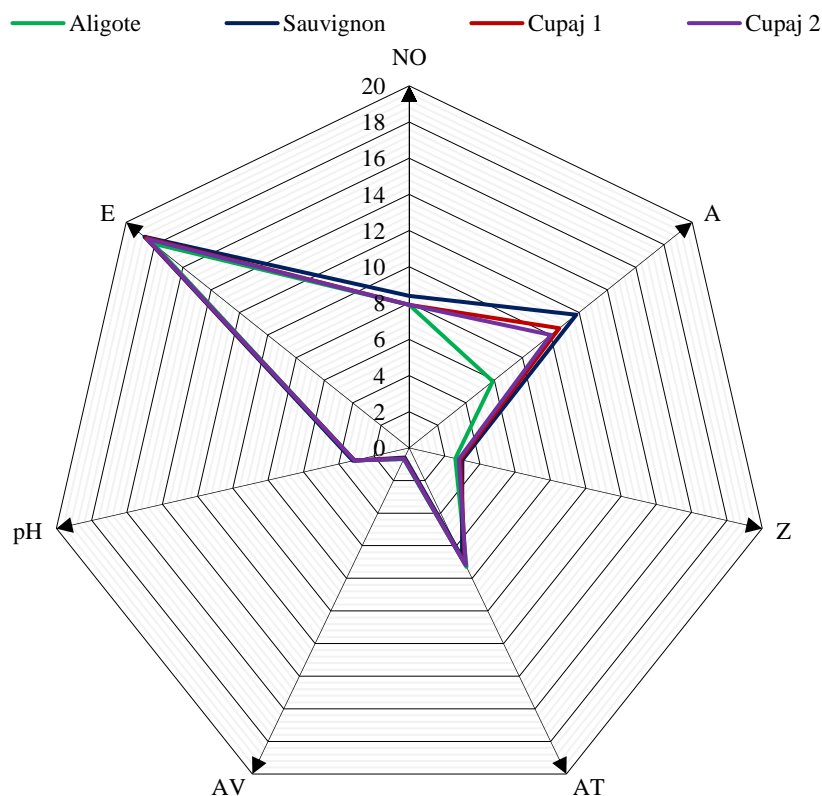


Fig. 4.12. Caracteristica probelor experimentale de vinuri cu conținut corectat de alcool obținut prin aplicarea schemei nr. 2

**\*Notă:** A - concentrația alcoolică, % vol.; Z - concentrația în masă a zaharurilor, g/L; AT - concentrația în masă a acidității titrabile, g/L; AV - concentrația în masă a acidității volatile, g/L; NO – nota organoleptică; E – concentrația în masă a extractului sec nereducător, g/L.

Diagrama radar din fig. 4.3 argumentează faptul, că cupajele obținute în comparație cu probele de control diferă doar prin tăria alcoolică, iar ceilalți indici de calitate nu se deosebesc esențial și corespund cerințelor stipulate în sursa [48].

Analiza organoleptică a arătat diferența dintre vinul din soiul Sauvignon (control), care după aromă este mai superioară decât proba 1 și proba 2. Totodată s-a constatat că, după calitate probele experimentale corespund cerințelor pentru vinurile albe seci, ceea ce se confirmă prin rezultatele reflectate în fig. 4.12.

Pentru fabricarea vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool se recomandă de efectuat cupajarea unui vin obținut din soi de struguri neutru fermentat în condiții aerobe cu un vin din soi aromat fermentat în condiții anaerobe, raportul optimal fiind 8:2 sau 7:3.

### 4.3. Compararea tehnologiilor de obținere a vinurilor cu conținut corectat de alcool.

Pe parcursul efectuării cercetărilor în domeniul producerii vinurilor albe prin fermentația combinată cu levuri imobilizate prin metoda păstrării în spatele unei bariere semipermeabile s-a constatat, că la dozarea oxigenului în imobilizator se pot obține vinuri cu conținut corectat de alcool, date confirmate în compartimentul 3.2 al tezei de doctorat.

În scopul demonstrării veridicității tehnologiei elaborate de fabricare a vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool în cadrul studiilor efectuate s-a decis să se compare cu tehnologia de dealcoolizare în vid [34].

Pentru comparație a fost utilizat mustul de struguri din soiul Sauvignon în cantitate de 5 L, iar fermentația alcoolică a fost efectuată la temperatura  $14 \div 16$  °C, utilizând sușa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* EZFerm 44. Vinul obținut a fost supus evaporării în vid la roto-evaporatorul de laborator la temperatura de  $30 \pm 1$  °C, presiunea 4 – 6 kPa până la concentrația alcoolică 9,6 % vol.

Aceiași cantitate de must din soiul Sauvignon a fost supus fermentației combinate conform schemei tehnologice nr. 2.

Indicii fizico-chimici și organoleptici a probelor experimentale sunt prezentate în tabelul 4.5.

Vinurile albe seci cu conținut corectat de alcool au fost supuse analizei senzoriale.

Rezultatele experimentale nu au arătat diferențe majore în caracteristicile organoleptice ale probelor experimentale. Ambele vinuri s-au manifestat printr-o culoare galbenă deschisă cu nuațe verzui, aromă de soi cu nuanțe de coacăză neagră, iasomie, gust fructuos cu multă fructozitate și prospețime.

Astfel, putem conchide, că tehnologia propusă corespunde cerințelor stipulate în domentele normative și nu se diferă de tehnologia de dealcoolizare în vid [33], deoarece concentrația în masă a extractului sec nereducător diferă doar prin 0,53 %, având aceeași nota organoleptică 7,9 și concentrație în masă a acidității volatile în valoare de 0,6 g/L.

Tabelul 4.5. Indicii fizico-chimici și organoleptici ai vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool obținute după tehnologiile comparate

Proba	Indicii fizico-chimici							Nota organoleptică
	Concentrația alcoolică, % vol.	Concentrația în masă a zaharurilor reducătoare, g/L	Concentrația în masă a acizilor titrabili, g/L	Concentrația în masă a acizilor volatili, g/L	pH	Concentrația în masă a anhidridei sulfuroase totale mg/L	Concentrația în masă a extractului sec nereducător, g/L	
Proba 1*	9,6 ± 0,1	2,8 ± 0,5	7,2 ± 0,1	0,60 ± 0,03	3,1 ± 0,1	116 ± 1	18,5 ± 0,1	7,9
Proba 2**	9,6 ± 0,1	2,8 ± 0,5	7,3 ± 0,1	0,60 ± 0,03	3,1 ± 0,1	115 ± 1	18,6 ± 0,1	7,9

**Notă:** \* - tehnologia prin aplicarea fermentației combinate; \*\* - tehnologia de dealcoolizare în vid.

■ Tehnologia prin aplicarea fermentației combinate    ■ Tehnologia de dealcoolizare în vid

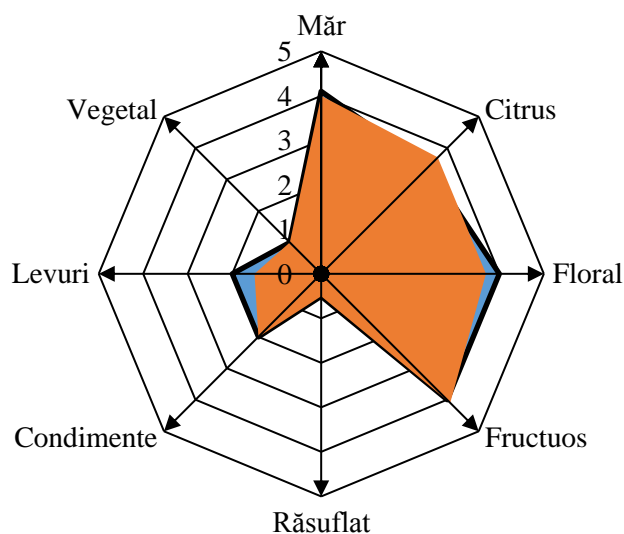


Fig. 4.13. Profilul senzorial al vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool obținute prin fermentație combinată și dealcoolizare în vid

Profilul senzorial prezentat în fig. 4.13 demonstrează faptul, că vinurile obținute prin fermentație combinată și dealcoolizare în vid sunt asemănătoare senzorial, dar se deosebesc prin nuanțe florale și de levuri mai pronunțate la vinul prin tehnologia propusă și nuanțe de citrice și fructe la dealcoolizare în vid.

#### 4.4. Concluzii la capitolul 4.

Rezultatele obținute în acest capitol au demonstrat că, prin aerarea mustului în procesul de fermentație alcoolică o parte de glucide sunt transformate prin fermentația aerobă în CO<sub>2</sub> și apă reducând tăria alcoolică a vinului obținut.

Din aceste considerente tehnologia de producere a vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool prin fermentația alcoolică combinată se bazează pe efectuarea fermentației alcoolice a unei părți de must cu utilizarea sușelor de levuri din specia *Saccharomyces cerevisiae* în condiții optimale pentru producerea vinurilor albe de calitate și fermentația aerobă în bioreactor a altei părți de must, după care partea întâia este cupajată cu partea a doua.

Cele mai bune rezultate s-au obținut în cupajele a cărui raport a fost de la 8:2 și 7:3. Aceste cupaje s-au caracterizat prin concentrația alcoolică 9,6 % vol., fiind redusă cu maxim 20 % de la concentrația alcoolică (11,8 % vol.) dobândită prin fermentația aerobă.

La compararea diferitor metode de corectare a gradului de alcool s-a demonstrat veridicitatea tehnologiei de producere a vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool în conformitate cu tehnica propusă de către autor.



## CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

### CONCLUZII

1. Metoda de imobilizare a levurilor selecționate active în spatele unei bariere formate din membrane filtrante permeabile cu diametrul porilor 0,60  $\mu\text{m}$ , confecționate sub formă tubulară, dreptunghiulară sau sac (pungă) permite utilizarea lor în procesele de fermentație combinată a mustului pentru obținerea diferitor tipuri de vinuri.
2. Vinul materie primă obținut cu utilizarea levurilor imobilizate, conform procedului propus, conține un sediment de drojdie mai mic și se filtrează mai ușor comparativ cu vinul materie primă obținut prin metoda tradițională.
3. Utilizarea recipientului de fermentare a mustului în calitate de bioreactor pentru cultivarea levurilor, permite de a obține un randament înalt de biomasă, care constituie  $1:10 \div 1:15$  de la cantitatea levurilor inițial imobilizate.
4. Cercetarea impactului factorilor fizico-chimici asupra acumulării biomasei de levuri imobilizate a stabilit următoarea corelație: dozarea de oxigen ( $\text{O}_2$ ) > temperatura de fermentație ( $T, ^\circ\text{C}$ ) > concentrația inițială în zaharuri ( $Z_0$ ) > suprafața imobilizatorului ( $S_i$ ).
5. Pentru prima dată a fost utilizat procedeu de fermentație combinată a mustului anaerobă și aerobă pentru obținerea vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool prin cupajarea unui vin obținut din soi aromat de struguri (Sauvignon), fabricat prin fermentație anaerobă, cu un vin din soi neutru de struguri (Aligote), fabricat prin fermentație aerobă, în raport de 7:3 sau 8:2 [57].
6. Utilizarea levurilor imobilizate prin procedeu propus la fermentația mustului din struguri supracopți, permite sistarea procesului de fermentație la concentrații în masă a zaharurilor necesare și obținerea vinurilor cu caracteristici organoleptice înalte, evidențiindu-se prin arome florale fine și de fructe [22].
7. Pentru prima dată utilizând levurile uscate active imobilizate la fermentația combinată a mustului au fost produse la fabrica de vin „JAVGURVIN” S.A. loturi de vin materie primă a câte 1500 dal.
8. Calculul eficienței economice a demonstrat, că reutilizarea levurilor imobilizate în faza fermentației tumultoase este o metodă care permite obținerea unui efect economic de 1500 lei la 1000 dal de vinuri materie primă.

## RECOMANDĂRI

1. Pentru producerea vinurilor albe seci [21] se recomandă de a efectua fermentația alcoolică cu administrarea levurilor imobilizate în doză de 0,4 g/L la temperatura de 15 °C, iar mustul de struguri să fie preventiv filtrat. După fermentația alcoolică este necesar de sulfitat vinul până la 120 mg/L SO<sub>2</sub> și de menținut la temperatura de 10 ÷ 12 °C.
2. Pentru producerea vinurilor din struguri supracopți [22] se recomandă de a efectua procesul de fermentație alcoolică la temperatura de 16 °C cu levuri imobilizate în doză de 0,4 g/L mustul de struguri fiind preventiv filtrat. Sistarea fermentației alcoolice să se efectueze prin evacuarea sacilor cu levuri imobilizate din mediul de fermentație a mustului, răcirea vinului materie primă de efectuat până la 5 °C cu o filtrare ulterioară, iar sulfitatea până la 200 mg/L SO<sub>2</sub> total și menținut la temperatura de 5 ÷ 6 °C.
3. Pentru producerea vinurilor albe seci cu conținut corectat de alcool [57] se recomandă de efectuat fermentația alcoolică a mustului cu administrarea levurilor imobilizate în doză de 0,4 g/L la temperatura de 20 °C și dozarea oxigenului în doză de 6 mg/L·min, iar mustul de struguri să fie preventiv filtrat.
4. După acumularea levurilor în cantitate de 40 ÷ 60 mln de celule/mL în imobilizator, levurile imobilizate se recomandă a fi supuse dializei în apă distilată timp de 24 h cu schimbarea apei de 3 ori și păstrarea ulterioară a lor la 0 ÷ 2 °C cu administrarea lizozimei până la un gram la hectolitru până la următoarea campanie vinicolă.

## BIBLIOGRAFIE

1. Antoce O. Oenologie. Chimie și analiză senzorială. Ed. universitară, Craiova, 2007, 808 p.
2. Arhip V., Sclifos A., **Scutaru A.** Analiza structurii fizico-chimice a strugurilor la soiurile pentru strugurii de vin omologați în Republica Moldova. Chișinău: UTM, 2012, - 40 p.
3. Balanuță A., Rusu E., Dragan V. Vinificația secundară. Chișinău: Tip. AȘM, 2016, - 360 p.
4. Balanuță A., Crudu S., Sandu Iu., **Nazaria A.** Ghid metodic pentru lucrările de laborator „Biotehnologii alimentare”. Chișinău: UTM, 2016, - 36 p.
5. Bogdan, A., Țogoe, I., Câmpeanu, G., Ivana, S., Enache, T., Băraităreanu, S., Iudith, I., Popescu, A. Microbiologia alimentelor. Vol.I. Editura Asclepius, București, 2011.-294 p.
6. Clemansa T. Microbiologie alimentară. București: Agir, 2004. - 296 p.
7. Cotea V. D., Zănoagă C., Cotea V. V. Tratat de Oenochimie. Volumul I și II București: Editura Academiei Române, 2009. - 684 p.
8. Cotea V. V., Cotea V. D. Tehnologii de producere a vinurilor. București: Editura Academiei Române, 2006. - 465 p.
9. Croitoru C. Tratat de știință și inginerie oenologică. Produse de elaborare și maturare a vinurilor. București: Editura AGIR, 2009. 1047 p.
10. Diaur G., Obadă L., Golenco L., Kirova A., Mîndru A. Procedee tehnologice îndreptate spre diminuarea oxidabilității vinurilor albe. Materialele Conferinței Internaționale Științifico-Practice. ”In Wine-2006”, Chișinău, 2006, p.59-60.
11. Dumanov V. Compoziția chimică a vinurilor albe obținute din soiurile noi de selecție autohtonă Viorica și Legenda.”Pomicultura, Viticultura și Vinificația”, 2012, nr.6, p.16-17.
12. Dumanov V., Rusu E., Obadă L. Însușirile biologice ale vinurilor albe din soiuri noi de selecție moldovenească și conținutul lor în cationi. Viticultura și Vinificația în Moldova, 2012, nr.4, p.16-17; nr.5, p. 8.
13. Gaina B. Biotehnologii ecologice viti-vinicole. Chișinău: AȘM, 2007. - 264 p.
14. Gaina B. Sarcini prioritare în cercetare/dezvoltare din complexul viti-vinicol al Moldovei, Conferința științifico – practică cu participare internațională, ”Vinul în mileniul III – probleme actuale în vinificație”, Chișinău 2011, p. 25 - 28.
15. Gaina B., Bejan V., Prida A., Puech J.L. Uvologie și oenologie. Ch., Tip. AȘM, 2006. - 443 p.
16. Gaina B., Lafon-Lafourcade S., Dubos. B. Bazele biotehnologice de obținere a mustului și vinului ecologic. Biotehnologii ecologice viti-vinicole. – Chișinău, 2007, p. 19-86.
17. Gaina B. Biotehnologii recente vitivinicole. Akademos, nr. 4 (31), 2013, p. 88-89.

18. Gheorghită M. ș.a. Studiu privind potențialul antocianic al strugurilor și vinurilor din podgoriile Severinului – Mehedinți, Univ. din Craiova, 2006. p. 555 – 558.
19. Musteață G., Zgardan D. Biochimie. Chișinău: UTM, 2015. – 361 p.
20. Musteață G., Gherciu L., Taran N., Antohi M., Soldatenco E., Adajuc V. Studiul influenței sușelor de levuri asupra caracteristicilor fizico-chimici și indicii specifici a vinurilor roze. În: Realizări inovative în domeniul viti-vinicol. Ed. Specială a Conf. Intern. Consacrate m.c. AȘM Petru Ungureanu, 2008, p. 181-185.
21. **Nazaria A.** Producerea vinurilor albe seci prin aplicarea procedurii de regenerare a levurilor selecționate a mustului de struguri. În: Meridian Ingineresc Nr.1/2016, p. 33-38.
22. **Nazaria A.** Balanuță A.; Crudu S. Analiza comparativă a fermentării alcoolice a mustului de struguri cu utilizarea diferitor tipuri de levuri la producerea vinurilor din struguri supracopți. În: Pomicultura, Viticultura și Vinificația, Nr.3/2017. p. 35-37. ISSN 1857-3142.
23. Obadă L., Rusu E., Golenco L., Craveț N., Dumanov V. Studiu privind optimizarea tehnologiei de prelucrare a strugurilor din soiuri albe noi de selecție moldovenească. Universitatea Agrară de Stat din Moldova. Lucrări științifice. Volumul 24 (2): Horticultură, Viticultură și Vinificație, Silvicultură și Grădini Publice, Chișinău, 2010, p. 124-128.
24. Olari T., Cogîlniceanu I. Soiuri noi de viță de vie omologate în Republica Moldova. Culegere de Lucrări Științifice către jubileul de 95 de ani al INVV, Chișinău, 2005, p.24-26.
25. Olari T., Cogîlniceanu I. Soiuri noi de viță de vie omologate în Republica Moldova. Culegere de Lucrări Științifice către jubileul de 95 de ani al INVV, Chișinău, 2005, p.24-26.
26. Rusu E. Oenologia moldavă. Realitatea și perspectivele. Ch.: Tipografia AȘM, 2006.- 268 p.
27. Rusu E., Obadă L. Optimizarea tehnologiei de producere a vinurilor albe de calitate. Mater. Conferinței Internaționale Științifico-Practice. ”In Wine-2006”, Chișinău, 2006, p.54-55.
28. Rusu E. Vinificația primară. Chișinău, Ed. ”Continental Grup” SRL, 2011. - 496 p.
29. Scorbanov E., Taran N., Comanici V., Bogdevici O. Determinarea naturaleții vinurilor de struguri din soiuri aromate. Viticultura și Vinificația în Moldova, nr.3, 2008, p. 23-24.
30. **Scutaru A.** Studiul procesului de fermentație alcoolică cu utilizarea levurilor imobilizate. În: Meridian Ingineresc Nr.1/2014, p. 102-107. ISSN 1683-853X.
31. Sîrghi C., Vrîncean M., Sturza R. Analiza comparativă a profilului aromei vinului Muscat obținut prin tehnologia clasică și criomacerare. Revista Viticultura și Vinificația în Moldova, 2011, nr. 1 p. 15-17, nr. 2, p. 16-17.
32. Sturza R. Principii moderne de analiză a alimentelor. Chișinău: UTM, 2006. - 310 p.
33. Taran N., Stoleicova S., Adajuc V., Soldatenco O., Morari B., Taran M., Influența duratei procesului de dealcoolizare asupra indicilor fizico-chimici a vinurilor albe seci. In: Materialele

- Simpozionului Științific Internațional „Agricultura Modernă – Realizări și Perspective”, Chișinău (Republica Moldova), UASM, vol. 36 (1), 2013, p. 433-436.
34. Taran N., Stoleicova S., Soldatenco E. Procedeu de obținere a vinurilor naturale. Hotărâre pozitivă, AGEPI, Nr: 8266 din 17.11.2015.
  35. Taran N. șPremize reale de substituie a importului de levuri pentru industria vinicola nationala. Viticultura si Vinificatia în Moldova. 2007, Nr. 4(10), 19 p.
  36. Taran N., Antohi M., Soldatenco E., Adajuc V. Levuri active autohtone de colectie. Perspective de implementare si producere. Realizari inovative în domeniul viti-vinicol: Ed. Speciala a conf. intern. consacrate m.c. ASM Petru Ungureanu, 2008, 174-178 p.
  37. Taran N., Soldatenco E., Rusu E. Reguli generale privind fabricarea productiei vinicole Tipografia Universitatii Agrare de Stat, Chisinau, 2010. – 440 p.
  38. Taran N., Soldatenco E., Antohi M. Perfectionarea regimurilor tehnologice la fabricarea levurilor active uscate autohtone. Buletin informativ, nr.47, INEI , Chisinau, 2002, p.1-3.
  39. Taran N., Antohi M. Rolul și importanța aminelor biogene în securitatea alimentară a vinurilor. Pomicultura, Viticultura și Vinificația. Chișinău, 2013, 4 (46) p. 18-19. ISSN 1857-3142
  40. Taran N., Soldatenco E., Adajuc V., Antohi M. Studiul influenței unor sușe de levuri destinate producerii vinurilor spumante. Viticultura și vinificația în Moldova 2009, nr. 4-5, p. 24-25.
  41. Taran N., Soldatenco E., Antohi M. Selecționarea și studierea sușelor de levuri destinate producerii vinurilor spumante naturale. Pomicultura, Viticultura și Vinificația în Moldova, nr. 4, p. 16-19, 1998.
  42. Taran N., Soldatenco E., Antohi M., Feiger L. Studiul comparativ al influenței sușelor de levuri active uscate și a celor de colecția națională de microorganisme asupra calității vinurilor materie primă pentru spumante. Intellectus, nr. 1, 2004, p. 41-46.
  43. Țârdea C. Chimia și analiza vinului. Iași: Editura „Ion Ionescu de la Brad”, - 2007. 1398 p.
  44. Țârdea C. Tratat de vinificație. Iași: Editura „Ion Ionescu de la Brad”, 2010. - 766 p.
  45. Агеева Н.М., Шурыгин А.Я., Шурыгина Л.В. Виноградные вина и винные напитки высокой биологической ценности с применением натуральных антиоксидантов биосинтетической природы. В сб. «Разработки, формирующие современный уровень развития виноделия», Краснодар, 2011, с. 121-125.
  46. Думанов В.И., Русу Е.И., Марковский М.Г., Гугучкина Т.И., Агеева Н.М. Хромато-масс-спектрометрическое определение ароматобразующих компонентов вин с применением улучшенной твердофазной экстракции. В: Известия вузов. Пищевая технология, 2011, вып. 4, с. 112-113.

47. Дука, Г. Зачинатель новых научных направлений в энологии и биотехнологии: [акад. Гаина Б.]/Георге Дука // *Виноградарство и виноделие в Молдове*. – 2008. – № 3. – Р. 29.
48. Постановление Правительства об утверждении Технического регламента «Организация виноградно-винодельческого рынка». № 356 от 11 июня 2015. В *Monitorul Oficial al Republicii Moldova*, 19.06.2015, nr. 150-159.
49. Ткаченко О.Б., Тринкаль О.В. Химия ароматов вина. В: *Хімія харчових продуктів і матеріалів. Нові види сировини*, 2015, вып., 1(30), с. 42-50.
50. Унгурян П. Н. Основы виноделия Молдавии. Кишинев: Изд. «Картя молдовеняскэ», 1986, 295 стр.
51. Agasse A. et al. Sugar transport & sugar sensing in grape. In: *Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology*, Springer, 2009, vol. 2, p. 105-128.
52. Agouridis N. et al. Oenococcus oenicells immobilized on delignified cellulosic material for malo-lactic fermentation of wine. *Bioresour Technol* 2008: 99:9017–20.
53. Aguera E. et al. Partial removal of ethanol during fermentation to obtain reduced-alcohol wines. *Am J Enol Vitic* 2010, 61(1), p. 53–60.
54. Aldaco R., Diban N. Environmental sustainability assessment of an Innovative process for dealcoholization of wines. In: *Proceedings of the 9th International Conference of Life Cycle assessment in the Agri-Food Sector*, San-Francisco, 8-10 October, 2014, p. 21-30.
55. Balanuță A., **Scutaru A.**, Copăceanu S. Combined alcoholic fermentation of grape must. In: *Modern Technologies in the Food Industry*, 2012, p. 233-238.
56. Balanuță A., **Scutaru A.** Production of natural low alcohol white Chardonnay by using immobilized yeast. In: *Modern Technologies in the Food Industry*, 2014, p. 148-153.
57. Balanuță A., Crudu S., **Nazaria A.**, Zgardan D. Elaboration of technology for producing white wines with low alcohol degree by combined fermentation. In: *Modern Technologies in the Food Industry*, 2016, p. 117-122.
58. Bankar S. B. Glucose oxidase —An overview. In: *Biotechnology Advances*, 2009, vol.27, p. 489–501.
59. Baroň M., Kumšta M. Comparison of North Italian and South Moravian wines on the base of their antioxidant activity, phenolic composition and sensory quality. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 2012: 60 (8), p. 9-18.
60. Bauer F. F., Rossouw D., Franken J. Finding novel carbon sinks in *S. Cerevisiae*. In: *1st International Symposium Alcohol level reduction in wine-Oenoviti International Network*. France, 2013, p. 38-46.

61. Beltran G. et al. Analysis of Yeast Populations During Alcohol Fermentation: A Six Year Follow-up Study. *Systematic and Applied Microbiology* 25.2, 2012, p. 287-293.
62. Belisario-S´anchez, YY. Et al. Dealcoholized wines by spinning cone column distillation: phenolic compounds and antioxidant activity measured by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method. *J Agric Food Chem* 57(15), 2009, p 6770–6778.
63. Bely M. et al. Non-conventional yeasts and alcohol levels reduction. In: 1st International Symposium Alcohol level reduction in wine-Oenoviti International Network, France, 2013, p. 33-37.
64. Biyela B. N., W. J. du Toit, B. Divol, D. F. Malherbe, P. van Rensburg, The production of reduced-alcoholic wines using Gluzyme Mono® 10.000 BG-treated grape juice. In: *South African Journal for Enology and Viticulture*, vol. 30 (2), 2009, p. 124-132.
65. Bordenave L. et al. Vines accumulating less sugars. In: 1st International Symposium Alcohol level reduction in wine-OENOVITI International Network. France, 2013, p.14-20.
66. Brányik T. et al. Continuous beer fermentation using immobilized yeast cell bioreactor systems. *Biotechnol Prog.*, vol. 21(3), May-Jun 2005, p. 653-663.
67. Brányik T. et al. Continuous immobilized yeast reactor system for complete beer fermentation using spent grains and corncobs as carrier materials. *J Ind Microbiol Biotechnol*, vol 33, 2006, p. 1010-1018.
68. Brányik T. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. In: *Journal of Food Engineering*, vol.108, 2012, p. 493–506.
69. Brody A.L. Extending shelf life with microoxygen technologies *Food Technology*, vol. 65(1), 2011, p. 79-81.
70. Cáceres-Mella A. et al. Effect of inert gas and prefermentative treatment with polyvinylpyrrolidone on the phenolic composition of Chilean Sauvignon blanc wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 93 (8), 2013, p. 1928-1934.
71. Cadière A. et al. Pilot-scale evaluation the enological traits of a novel, aromatic wine yeast strain obtained by adaptive evolution. In: *Food Microbiology*, vol. 32, 2012, p. 332–337.
72. Cadière A. et al. Evolutionary engineered *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains with increased in vivo flux through the pentose phosphate pathway. In: *Metabolic Engineering*, vol. 13, 2011, p. 263–271.
73. Cambon B. et al. Effects of GPD1 overexpression in *Saccharomyces cerevisiae* commercial wine yeast strains lacking ALD6 genes. *Appl Environ Microbiol*, vol. 72(7), 2006, p. 4688-4694.

74. Catarino M. et al. Alcohol removal from beer by reverse osmosis. *Sep Sci Technol*, vol. 42(13), 2007, p. 3011-3027.
75. Catarino M., Mendes A. Non-alcoholic beer - a new industrial process. In: *Separation and Purification Technology*, vol. 79(3), 2011, p. 342-351.
76. Catarino M., Mendes A. Dealcoholizing wine by membrane separation processes. In: *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 12(3), 2011, p. 330–337.
77. Chaves M, Zea L, Moyano L, Medina M. Changes in color and odorant compounds during oxidative aging of Pedro Ximenez sweet wines. *J Agric Food Chem*, vol. 55, 2007, p. 3592-3598.
78. Cordier H. et al. A metabolic and genomic study of engineered *Saccharomyces cerevisiae* strains for high glycerol production. *Metab Eng*, vol. 9(4), 2007, p. 364-378.
79. Coulter A. Reducing alcohol levels in wine. In: *The Australian Wine Research Institute*, 2013, p. 1-4.
80. Diban, N. et al. Ethanol and aroma compounds transfer study for partial dealcoholization of wine using membrane contactor. *J Membrane Sci*, vol. 311(1–2), 2008, p. 136-146.
81. Diban N. et al. Membrane dealcoholization of different wine varieties reducing aroma losses. Modeling and experimental validation. In: *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol.4, 2013, p.13-18.
82. Divies, C., & Cachon, R. Wine production by immobilised cell systems. In V. Nedovic, & R. Willaert (Eds.), *Applications of cell immobilisation biotechnology*, New York: Springer, 2005, p. 285-293.
83. Dulau L. et al. Patent WO 2002012473 A2 Preparation de micro-organismes acclimates immobilises, procede de production et application a la relance de fermentations arretees, 2002.
84. Ehsani M, Fernandez MR, Biosca JA, Julien A, Dequin S. Engineering of 2,3-butanediol dehydrogenase to reduce acetoin formation by glycerol-overproducing, low-alcohol *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol*, vol. 75(10), 2009, p. 3196-3205.
85. Furdíková K. & Malík F. Kolobeh sýry vovíne. *Chemické listy*, vol. 103, 2009, p. 154-158.
86. Gawel R, Sluyter SV, Waters EJ. The effects of ethanol and glycerol on the body and other sensory characteristics of Riesling wines. *Aust J Grape Wine Res*, vol. 13(1), 2007, p. 38–45.
87. Genisheva Z. et al. Malolactic fermentation of wines with immobilised lactic acid bacteria– Influence of concentration, type of support material and storage conditions. *Food Chem*, vol. 138, 2013, p. 1510-1514.
88. Genisheva Z., et al. Production of white wine by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on grape pomace. *Journal of the Institute of Brewing*, vol. 118, 2012, p. 163-173.



89. Genisheva Z., et al. Evaluating the potential of wine-making residues and corn cobs as support materials for cell immobilization for ethanol production. *Industrial Crops and Products*, vol. 34, 2011, p. 979-985.
90. Genisheva Z., Oliveira, J. M. Monoterpenic characterization of white cultivars from Vinhos Verdes Appellation of Origin (North Portugal). *Journal of the Institute of Brewing*, vol. 115, 2009, p. 308-317.
91. Genovese A. et al. Sensory properties and aroma compounds of sweet Fiano wine. *Food Chemistry*, vol. 103, 2007, p. 1228-1236.
92. Heux S, Cachon R, Dequin S. Cofactor engineering in *Saccharomyces cerevisiae*: expression of a H<sub>2</sub>O-forming NADH oxidase and impact on redox metabolism. *Metab Eng*, vol. 8(4), 2006, p. 303-314.
93. Heux S, Sablayrolles J-M, Cachon R, Dequin S. Engineering a *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast that exhibits reduced ethanol production during fermentation under controlled microoxygenation conditions. *Appl Environ Microbiol*, vol. 72(9), 2006, p. 5822-5828.
94. Hou J, Lages NF, Oldiges M, Vemuri GN. Metabolic impact of redox cofactor perturbations in *Saccharomyces cerevisiae*. *Metab Eng*, vol. 11(4-5), 2009, p. 253-261.
95. Housseny C. Thèse de doctorat en Génie des procédés et de l'environnement „Vinification continue avec levures immobilisées : analyse du système et conception du réacteur industriel” sous la direction de Patricia Taillandieret de Marion Alliet-Gaubert. Soutenue le 27-02-2012 à Toulouse, INPT
96. Jacobson J. L. *Introduction to wine laboratory practices and procedures*. , New York, N.Y. Springer, 2006.- 256 p.
97. Jackson R. S. *Wine Science. Principles and Applications*. San Diego, California: Academic Press, 2008.- 277 p.
98. Jackson R.S. Fermentation. In *Wine Science*, Jackson, R.S., Ed.; Academic Press: San Diego, CA, USA, vol. 3, 2008, p. 332-417.
99. Kandyli P. et al. Scale-up of extremely low temperature fermentations of grape must by wheat supported yeast cells. *Bioresource Technology*, vol. 101, 2010, p. 7484-7491.
100. Kandyli P, Mantzari A, Koutinas AA, Kookos IK. Modelling of low temperature wine-making, using immobilized cells. *Food Chem*, vol. 133, 2012, p. 1341-1348.
101. Kandyli P, Dimitrellou D, Koutinas AA. Winemaking by barley supported yeast cells. *Food Chem*, vol. 130, 2012, p. 425-431.
102. König H. , Frohlich J., Uden G. *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. In: Springer, 2009. - 522 p.

103. Koolman, J., Roehm, K. *Color Atlas of Biochemistry*. Second edition, revised and enlarged, Stuttgart, New-York, 2005.-476 p.
104. Kourkoutas Y. et al. Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. *Food Microbiology*, vol. 21, 2004, p. 377-397.
105. Kourkoutas Y. et al. Effect of fermentation conditions and immobilization supports on the wine making. *J. Food Eng.*, vol. 69, 2005, p. 115-123.
106. Labanda J, Vichi S, Llorens J, L'opez-Tamames E. Membrane separation technology for the reduction of alcoholic degree of a white model wine. *LWT Food Sci Technol*, vol. 42(8), 2009, p. 1390-1395.
107. Landaud S, Helinck S, Bonnarme P. Formation of volatile sulfur compounds and metabolism of methionine and other sulfur compounds in fermented food. In: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 77, 2008, p. 1191-1205.
108. Lechmere A. Consumers across three continents prefer lower alcohol wines. In: *Decanter Magazine UK*, 2012, p 5.
109. Leigh M. Production technologies for reduced alcoholic wines. In: *Journal of Food Science*, vol. 71(1), 2012, p. 25-41.
110. Liguori L. et al. Aglianico wine dealcoholization test. In: *20th European Symposium on Computer Aided Process Engineering – ESCAPE20*, 2010, p. 6.
111. Lisanti M.T. et al. Sensory study on partial dealcoholization of wine by osmotic distillation process, *Bulletin de l'OIV*, vol. 84, 2011, p. 95-105.
112. Lonvaud-Funel A. *Microbiologie du vin ; bases fondamentales et applications*. Editeur : Tec Et Doc, 2010. – 380 p.
113. Mallios P. et al. Low-temperature wine-making using yeast immobilized on pear pieces. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 84, 2004, p. 1615-1623.
114. Margaritis A, Kilonzo PM. Production of ethanol using immobilized cell bioreactor systems. In: Nedovic V, Willaert R, editors. *Applications of cell immobilisation biotechnology*. The Netherlands: Springer; 2005. p. 375–405.
115. Martynenko N.N. et al. Immobilization of Champagne Yeasts by Inclusion into Cryogels of Polyvinyl Alcohol: Means of Preventing Cell Release from the Carrier Matrix. *Appl. Bioch. & Microbiol.*, Vol. 40, No. 2, 2004, p. 158–164.
116. Martin-Alvarez, P.J. et al. Influence of technological practices on biogenic amine contents in red wine, *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 222, 2006, p. 420-424.
117. Mattivi F., et al. Un metodo innovativo di pressatura in pressione positiva sotto gas inerte. Documento tecnico. In: *L'enologo*, nr. 3, 2005, p. 77-92.

118. Meillon S. et al. Contribution of the Temporal Dominance of Sensations (TDS) method to the sensory description of subtle differences in partially dealcoholized red wines, *Food Quality and Preference*, vol. 20(7), 2009, p. 490-499.
119. Meillon S. et al. Preference and acceptability of partially dealcoholized white and red wines by consumers and professionals, *Am.J. Enol. Vitic.*, vol. 61(1), 2010, p. 42-52.
120. Meillon S., Urbano C., Schlich P. Impact of alcohol reduction on the sensory perception of wine and their acceptability by consumers. In: 1st International, Symposium Alcohol level reduction in wine – Oenoviti International Network, Bordeaux, 2013, p. 105-107.
121. Michlovský M. Oxid šiřičitý v enologii, Rakvice, Vinselekt Michlovský a.s, 2012.- 151 p.
122. Miličević B. et al. Influence of the immobilized yeast cells technology on the presence of biogenic amines in wine. *Hrana u zdravlju i bolesti, znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*, vol. 3(1), 2014, p. 1-5.
123. Moreno-Arribas M. V., Polo C. Wine Chemistry and Biochemistry. In: Hardcover, 2008.- 735 p.
124. Moreno J. A. et al. Aroma compounds as markers of the changes in sherry wines subjected to biological ageing. *Food Control*, vol. 16, 2005, p. 333-338.
125. Mueller S., Lockshin L., Louviere J. Alcohol in moderation: market potential for low alcohol wine before and after excise tax. In: 6th AWBR International Conference, Bordeaux, France, 2011, p. 1-20.
126. Nelson, D., Cox, M. Lehninger Principles of Biochemistry. Publisher: W. Freeman; 4th edition, 2004.- 1110 p.
127. Nerantzis E.T. et al. A New Tool for On line Monitoring of Alcoholic Fermentation. International Congress on Bioprocesses in Food Industries. 18 - 21 June 2006, Patras, Greece, p.193-194
128. Nerantzis E.T. et al. On line Monitoring of Wine Fermentation. European BioPerspectives 30 May – 1 June 2007. Cologne, Germany. 2007, p. 44.
129. Norm ISO 4120. (2004). Sensory analysis e Methodology e Triangle test.
130. Novello V., De Palma L. Viticultural strategy to reduce alcohol levels in wine. In: 1st International Symposium Alcohol level reduction in wine-Oenoviti International Network. France, 2013, p. 3-8.
131. OIV. Compendium of international methods of analysis. Printed in Paris (France), vol 1, 2016.- 504 p.
132. OIV. International code of oenological practices. Paris: International Organization of Vine and Wine OIV. 2012.- 286 p.

133. Oliveira, J. M., et al. 6-alcohols as varietal markers for assessment of wine origin. *Analytica Chimica Acta*, vol. 563, 2006, p. 300-309.
134. Oliveira J. M., et al. Volatile and glycosidically bound composition of Loureiro and Alvarinho wines. *Food Science and Technology International*, vol. 14, 2008, p. 341-353.
135. Ozturk B., Anli E. Different techniques for reducing alcohol levels in wine: A review. In: *BIO Web of Conferences*, vol. 3, 2014, p. 1-8.
136. Pilipovik MV, Riverol C. Assessing dealcoholization systems based on reverse osmosis. *J Food Eng*, vol. 69(4), 2005, p. 437-441.
137. Reddy LVA. Et al. Wine production by guava piece immobilized yeast from Indian cultivar grapes and its volatile composition. *Biotechnology*, vol. 5: 2006, p. 449-454.
138. Reddy L. et al. Wine production by novel yeast biocatalyst prepared by immobilization on watermelon (*Citrullus vulgaris*) rind pieces and characterization of volatile compounds. *Process Biochem*, vol. 43, 2008, p. 748–52.
139. Resolution OIV-OENO 394A-2012. Désalcoolisation des vin, 2012.- 2 p.
140. Ribereau-Gayon P., et al. Handbook of enology. The microbiology of wine and vinifications. Chichester: John Wiley & Sons, vol. 1 (2), 2006. - 497 p.
141. Ribereau-Gayon P., Y. Glories A., Maujean D. Dubourdieu. Handbook of Enology. Vol. 2, The Chemistry of Wine, Stabilization and Treatments, 2nd edition. England: John Wiley & Sons Ltd, 2006. - 451 p.
142. Robinson J. The Oxford Companion to Wine. Third Edition Oxford University Press 2006 p. 267-269.
143. Satit V. et al. Experimental study on dealcoholization of wine by osmotic distillation process, *Separation and Purification Technology*, vol. 66(2), 2009, p. 313–321.
144. Schmidtke L. M., Blackman J. W., Agboola S. O. Production technologies for reduced alcoholic wines. In: *Journal of Food Science*, vol.71 (1), 2012, p.25-41.
145. Sipsas V. et al. Comparative study of batch and continuous multi-stage fixed-bed tower (MFBT) bioreactor during wine-making using freeze-dried immobilized cells. *J Food Eng* vol. 90, 2009, p. 495–503.
146. Sandy O., et al. Influence of indigenous *Saccharomyces paradoxus* strains on Chardonnay wine fermentation aroma. In: *International Journal of Food Science and Technology*, №42, 2007, p. 95–101.
147. Sicheri G. *Chimica delle fermentazioni*, Hoepli, Milano, 2008. - 406 p.
148. SILVA S. et al. Utilisation de levures incluses pour le traitement des arrêts de fermentations. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 36, n°3, 2002, p. 161-168.

149. Skouroumounis G.K. et al. The influence of ascorbic acid on the composition, colour and flavour properties of a Riesling and a wooded Chardonnay wine during five years' storage. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, vol. 11(3), 2005, p. 355-368.
150. Strehaiano P., Centeno F. Les levures immobilisées: une réalité oenologique. *IFV Midi-Pyrénées - Rencontre Technique Micro-Organismes Et Gestion Thermique*. 2012, p. 26-28.
151. Stoleicova S., Comparative analysis of the techniques used to reduce alcohol level in wines. In: *Pomicultura, Viticultura și Vinificația*, nr. 2 [56], 2015, p.35-37. ISSN 1857-3142. (Categorie C).
152. Stoleicova S., Taran N., Soldatenco E., Elaboration of technologies for production of white and red wines with reduced alcoholic content. In: *Materialele Simpozionului Științific Internațional „Horticultura modernă– realizări și perspective”*, Chișinău (Republica Moldova), UASM, 2015, vol. 42 (2), p. 282-285. ISBN 978-9975-64-273-6
153. Stoll M. et al. Possibilities to reduce the velocity of berry maturation through various leaf area to fruit ratio modifications in *Vitis vinifera* Riesling. L. In: Wolpert JA, editor. *Proceedings 16th Intl. Giesco Symposium*. Davis, Calif.: Group of international Experts of vitivinicultural systems for CoOperation (GiESCO). 2009, p. 93–96.
154. Sumbly, KM. Et al. Microbial modulation of aromatic esters in wine: current knowledge and future prospects. *Food Chem*, vol. 121, 2010, p. 1–16.
155. Takács L, Vatai G, Korány K. Production of alcohol free wine by pervaporation. *J Food Eng*, vol. 78(1), 2007, p. 118-125.
156. Taran N., Stoleicova S., The influence of initial alcohol content in wine on dealcoholization process. In: *Proceedings of International Conference “Modern Technologies in the Food Industry”*, Chișinău (Republica Moldova), Ed.: Technica-Info, 2014, p. 319-322. ISBN 978-9975-80-840-8.
157. Taran N., Stoleicova S., Soldatenco O., Morari B., The influence of pressure on chemical and physical parameters of white and red wines obtained by dealcoholization method. In: *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 2014, vol. 20 (3), Timisoara (Romania), p. 215-219. ISSN-2069-0053.
158. Tataridis P., Nerantzis E. Ethanol Production via Solid State Fermentation of Grape Pomace: Combined Effect of Fermentation Parameters on Ethanol Yield. In: A. Bertrand. *Les Eaux De Vie Traditionnelles d' Origine Viticole*. Ed. Lavoisier. Paris, 2007, p. 195-200.
159. Tassoni A., Tango N., Ferri M. Comparison of biogenic amine and polyphenol profiles of grape berries and wines obtained following conventional, organic and biodynamic agricultural and oenological practices. *Food Chemistry* 2013: 139 (1-4). 405-413.

160. Tilloy V. et al. Microbiological strategies to reduce alcohol levels in wines. In: 1st International Symposium Alcohol level reduction in wine-Oenoviti International Network. France, 2013, p. 29-32.
161. Tilloy V. et al. Reduction of ethanol yield and improvement of glycerol formation by adaptive evolution of the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* under hyperosmotic conditions. In: *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 2014, vol. 80 (8), p. 2623–2632.
162. Thaipong K. et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis.*, vol. 19, 2006, p. 669-675.
163. Tosil E., Azzolini M., Guzzo F., Zapparoli G. Evidence of different fermentation behaviours of two indigenous strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces uvarum* isolated from Amarone wine. In: *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 107, Issue 1, July 2009, p. 210–218.
164. Tsakiris A., et al. Immobilization of yeast on dried raisin berries for use in dry white wine-making. *Food Chemistry*, vol. 87, 2004, p. 11-15.
165. Tsakiris A., et al. Red wine making by immobilized cells and influence on volatile composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, 2004, p. 1357-1363.
166. Ugliano M., Moio, L. Free and hydrolytically released volatile compounds of *Vitis vinifera* L. cv. Fiano grapes as odour-active constituents of Fiano wine. *Food Chemistry*, vol. 21, 2008, p. 79-85.
167. Varavuth S, Jiratananon R, Atchariyawut S. Experimental study on dealcoholization of wine by osmotic distillation process. *Sep Purif Technol*, vol. 66(2), 2009, p. 313–321.
168. Verbelen P, De Schutter D, Delvaux F, Verstrepen K, Delvaux FR. Immobilized yeast cell systems for continuous fermentation applications. *Biotechnol Lett*, vol. 28, 2006, p. 1515-1525.
169. Verstrepen, KJ., Pretorius, IS. The development of superior yeast strains for the food and beverage industry: challenges, opportunities and potential benefits. In: Querol A, Fleet G (eds) *The yeast handbook, yeasts in food and beverages*. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, vol. 8, 2006, p. 399–444.
170. Vila-Crespo J., et al. Strategies for the enhancement of malolactic fermentation in the new climate conditions. In Mendez-Vilas (Ed.), *Microbiology book series. Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology*, vol. 2, 2010, p. 920-929.

171. Vilela-Moura A., Schuller D., Mendes-Faia A., Corte-Real M. Reduction of volatile acidity of wines by selected yeast strains. In: Appl. Microbiol. Biotechnol., 2008, № 80, pp. 881–890.
172. Willaert RG. Cell immobilisation and its applications in biotechnology: current trends and future prospects. In: El-Mansi EMT, Bryce CFA (eds) Fermentation microbiology and biotechnology, 2nd edn. Taylor and Francis (in press), 2006. – 576 p.
173. Whiting J. Regulating winegrape sugar accumulation through leaf removal. Aust NZ Grapegrow Winemak, vol. 555, 2010, p. 18–20.
174. Wollan D. The right tools for the job: dealing with cool climate wine styles. In: Creasy GL, Steans GF, editors. Proceedings of the sixth international symposium for cool climate viticulture and oenology. Auckland: New Zealand Society for Viticulture and Oenology, 2006, p. 159-168.
175. Yu P, Pickering GJ. Ethanol difference thresholds in wine and the influence of mode of evaluation and wine style. Am J Enol Vitic, vol. 59(2), 2008, p.146-152.
176. Zhang S. et al. Influence of Pre-Fermentation Treatments on Wine Volatile and Sensory Profile of the New Disease Tolerant Cultivar Solaris. Molecules, vol. 20, 2015, 21609–21625.
177. Pika Weihenstephan™ FastOrange™ Yeast Agar <http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/MAN0009375.pdf> (vizitat 01.09.2013).
178. ПИКА Weihenstephan ТМ FastOrange ТМ В Agar – Агар для определения бактерий <http://studydoc.ru/doc/2294697/pika-weihenstephan-tm-fastorange-tm-b-agar-%E2%80%93-agar-dlya> (vizitat 01.09.2013).
179. Кисляков Сергей Математический анализ <https://www.lektorium.tv/course/26567> (vizitat 01.09.2012).
180. Vinuri albe moldovenești. <https://www.google.com/#q=vinuri+albe+moldovenesti> (vizitat 01.01.2012).
181. Microflora specifica industriei vinicole <http://www.creeaza.com/afaceri/agricultura/viticultura/MICROFLORA-SPECIFICA-INDUSTRIE156.php> vizitat 29.03.2017

# Anexe



**Anexa 1. Participare la conferință internațională  
Modern Technology in the Food Industry 2016**

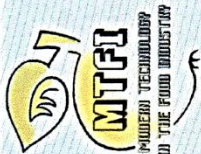


**Anexa 2. Participare la conferință internațională  
Modern Technology in the Food Industry 2014**





Republic of Moldova  
Ministry of Education  
Technical University of Moldova



## Participation Diploma

PhD student **Scutaru Aliona**

Technical University of Moldova, Chișinău, Moldova

for the special content and the high academic presentation of the communication at the Technical University of Moldova International Conference, first edition, 1<sup>th</sup>-3<sup>th</sup> of November 2012.

Theme: **MODERN TECHNOLOGIES IN THE FOOD INDUSTRY**

Chișinău

3<sup>th</sup> of November 2012

Rector of the Technical University of Moldova  
Acad., prof. Ion BOSTAN





<b>VI. REFERINȚA LA O CERERE ANTERIOARĂ</b> (nr. depozit, data depozit, țara/oficiul)					
<b>VII. (62) CEREREA</b> de brevet este <b>DIVIZIONARĂ</b> din cererea de brevet nr. _____ data _____					
<b>VIII. DECLARĂM</b> că <b>INVENTATORUL(II)</b> este (sunt): <input type="checkbox"/> același (aceiași) cu <b>SOLICITANTUL(ȚII)</b> <input checked="" type="checkbox"/> persoana(ele) menționată(e) mai jos					
(72) Numele și prenumele, cod țară conform normei ST.3 OMPI	Adresă completă, numărul de identificare de stat unic (IDNP)			Locul de muncă și funcția la data creării invenției	
BALANUTA Anatol, MD	str-la Studentilor 7/1, ap. 6, Chisinau, mun. Chisinau, Republica Moldova, 0952211544007			UTM, FTMIA, Catedra Enologie, sef catedra, dr., prof. univ.	
SCUTARU Aliona, MD	Ialpujeni, Cimislia, Republica Moldova, 2002040025168			UTM, FTMIA, Catedra Enologie, drd., ing. cat. I	
URSU Sorina, MD	str. Studentilor 7/2, ap. 314, Chisinau, mun. Chisinau, Republica Moldova, 2003023020745			UTM, FTMIA, Catedra Enologie, dr., lect. univ.	
<b>IX. DOCUMENTE DEPUSE LA AGEPI:</b>					
<input checked="" type="checkbox"/> în limba moldovenească <input type="checkbox"/> altă limbă	Nr. file	Nr. ex.	<b>se anexează:</b>	Nr. file	Nr. ex.
<input checked="" type="checkbox"/> - formular-tip de cerere <input checked="" type="checkbox"/> - descriere <input checked="" type="checkbox"/> - revendicări <input type="checkbox"/> - desene <input checked="" type="checkbox"/> - rezumat <input type="checkbox"/> - act de prioritate <input type="checkbox"/> - procură <input type="checkbox"/> - lista de secvențe de nucleotide și/sau aminoacizi, parte a descrierii: <input type="checkbox"/> - prezentată pe suport hârtie <input type="checkbox"/> - prezentată pe suport electronic <input type="checkbox"/> - act referitor la depozitul microorganismului/materialului <input type="checkbox"/> - copie/traducere a cererii anterioare de la rubrica VI	2 3 1 1	3 3 3 3	<input type="checkbox"/> - document referitor la plata taxelor <input checked="" type="checkbox"/> - act privind acordarea reducerii la plata taxelor <input type="checkbox"/> - declarație privind divulgarea invenției, conform art. 9 din Legea nr. 50/2008 <b>Alte documente:</b> <input checked="" type="checkbox"/> - traducerea materialelor cererii: <input type="checkbox"/> - descriere <input type="checkbox"/> - revendicări <input checked="" type="checkbox"/> - rezumat <input type="checkbox"/> - desene <input type="checkbox"/> - act de prioritate <input type="checkbox"/> - ..... <input type="checkbox"/> - .....	1	3 1
<b>X. Semnătura</b> solicitantului(lor)/reprezentantului (numele în clar):  <i>Ursu Sorina</i>  <i>Ursu</i>			<b>XI. Persoana</b> care a prezentat cererea, alta decât solicitantul/reprezentantul (nume complet, act de identitate):  Semnătura persoanei care a recepționat cererea la AGEPI (numele în clar): <b>AGEPI</b> <i>Sereș</i>		
Data:			<b>XII. Registratura AGEPI ieșire:</b> Nr. 5884 Data 2014.11.24.		



<b>VI. REFERINȚA LA O CERERE ANTERIOARĂ</b> (nr. depozit, data depozit, țara/oficiul)					
<b>VII. (62) CEREREA</b> de brevet este <b>DIVIZIONARĂ</b> din cererea de brevet nr. data					
<b>VIII. DECLAR(ĂM)</b> că <b>INVENTATORUL(II)</b> este (sunt): <input type="checkbox"/> același (aceiași) cu <b>SOLICITANTUL(ȚII)</b> <input checked="" type="checkbox"/> persoana(ele) menționată(e) mai jos					
(72) Numele și prenumele, cod țară conform normei ST.3 OMPI	Adresă completă, numărul de identificare de stat unic (IDNP)		Locul de muncă și funcția la data creării invenției		
<b>BALANUȚĂ Anatol, MD</b>	<b>str-la Studenților 7/2, Chișinău, mun. Chișinău, Republica Moldova, 0952211544007</b>		<b>UTM, FTMIA, Catedra Enologie, Șef catedră, dr., prof. univ.</b>		
<b>SCUTARU Aliona, MD</b>	<b>Ialpujeni, Cimișlia, Republica Moldova, 2002040025168</b>		<b>UTM, FTMIA, Catedra Enologie, drd., ing. cat. I</b>		
<b>URSU Sorina, MD</b>	<b>str. Studenților 7/2, MD-2064, Chișinău, mun. Chișinău, Republica Moldova, 2003023020745</b>				
<b>IX. DOCUMENTE DEPUSE LA AGEPI:</b>					
<input checked="" type="checkbox"/> în limba moldovenească <input type="checkbox"/> altă limbă	Nr. file	Nr. ex.	<b>se anexează:</b>	Nr. file	Nr. ex.
<input checked="" type="checkbox"/> - formular-tip de cerere <input checked="" type="checkbox"/> - descriere <input checked="" type="checkbox"/> - revendicări <input type="checkbox"/> - desene <input checked="" type="checkbox"/> - rezumat <input type="checkbox"/> - act de prioritate <input type="checkbox"/> - procură <input type="checkbox"/> - lista de secvențe de nucleotide și/sau aminoacizi, parte a descrierii: <input type="checkbox"/> - prezentată pe suport hârtie <input type="checkbox"/> - prezentată pe suport electronic <input type="checkbox"/> - act referitor la depozitul microorganismului/materialului <input type="checkbox"/> - copie/traducere a cererii anterioare de la rubrica VI	2 3 1 1	3 3 3 3	<input type="checkbox"/> - document referitor la plata taxelor <input checked="" type="checkbox"/> - act privind acordarea reducerii la plata taxelor <input type="checkbox"/> - declarație privind divulgarea invenției, conform art. 9 din Legea nr. 50/2008 <b>Alte documente:</b> <input checked="" type="checkbox"/> - traducerea materialelor cererii: <input type="checkbox"/> - descriere <input type="checkbox"/> - revendicări <input checked="" type="checkbox"/> - rezumat <input type="checkbox"/> - desene <input type="checkbox"/> - act de prioritate <input type="checkbox"/> - ..... <input type="checkbox"/> - .....	1	1
<b>X. Semnătura</b> solicitantului(lor)/reprezentantului (numele în clar):  <b>URSU Sorina</b>  <i>Ursu</i>  Data: <i>13.11.2014</i>	<b>XI. Persoana</b> care a prezentat cererea, alta decât solicitantul/reprezentantul (nume complet, act de identitate):  Semnătura persoanei care a recepționat cererea la AGEPI (numele în clar) <b>AGEPI</b> <i>Gecey</i>  <b>XII. Registratura AGEPI ieșire:</b> Nr. <b>5879</b> Data <b>2014 11 24</b>				

## Anexa 6. Acte de implementare a lotului experimental de vin alb sec produs cu levuri imobilizate conform tehnologiei propuse



### ACT DE IMPLEMENTARE a producerii lotului experimental de vin alb sec fermentat cu levuri imobilizate Oenoferm Freddo din soiul de struguri Chardonnay recoltați din satul Javgur, r-ul Cimișlia

Noi, subsemnații, membrii comisiei alcătuite din Directorul „JAVGURVIN” S. A. Scutaru Gheorghe, tehnologul principal Scutaru Vasile, dr., prof. univ. Balanuță Anatol, doctoranda Scutaru Aliona (UTM, catedra Enologie) am întocmit acest act în cauză pentru a demonstra precum, că în perioada 15.09.2014 + 25.10.2014 a fost fabricată o cantitate experimentală de vin alb sec din soiul de struguri Chardonnay în volum de 1500 dal. Vinul obținut are următorii indici fizico-chimici:

- Concentrația alcoolului, % vol. –  $12,38 \pm 0,2$ ;
- Concentrația masică a zaharurilor reducătoare,  $g/dm^3 - 1,9 \pm 0,2$ ;
- Concentrația masică a acizilor titrabili,  $g/dm^3 - 6,5 \pm 0,1$ ;
- Concentrația masică a acizilor volatili,  $g/dm^3 - 0,58 \pm 0,08$ ;
- Concentrația în masă a dioxidului de sulf liber/total,  $mg/dm^3 - 20/140$ ;
- Concentrația în masă a glicerinei,  $mg/dm^3 - 3,3 \pm 0,1$ ;
- Concentrația în masă a aldehidei acetice,  $mg/dm^3 - 2,6 \pm 0,2$ ;
- Concentrația în masă a acetatului de etil,  $mg/dm^3 - 16,7 \pm 0,2$ ;
- Concentrația în masă a alcoolului metilic,  $g/dm^3 - 0,01 \pm 0,01$ ;
- Concentrația în masă a 2-butanol,  $mg/dm^3 - < 0,5$ ;
- Concentrația în masă n-propanol,  $mg/dm^3 - 6,6 \pm 0,2$ ;
- Concentrația în masă izobutanol,  $mg/dm^3 - 20,6 \pm 0,2$ ;
- Concentrația în masă n-butanol,  $mg/dm^3 - < 0,5$ ;
- Concentrația în masă izopentanol,  $mg/dm^3 - 146 \pm 2$ ;
- Concentrația în masă a acidului tartric,  $g/dm^3 - 3,6$ ;
- Concentrația în masă a acidului malic,  $g/dm^3 - 1,2$ ;
- Concentrația în masă a acidului lactic,  $g/dm^3 - 0,5$ ;
- Concentrația în masă a acidului citric,  $g/dm^3 - 0,25$ ;

Nota organoleptică – 8,1.

Vinul alb sec obținut se caracterizează prin: culoare galben - verzuie, aromă de citrice, plin în gust, proapăt, tipic soiului. Confirmată de comisia de degustare a firmei „JAVGURVIN” S.A. și a catedrei „Enologie”. Lotul experimental de vin alb sec produs la „JAVGURVIN” S.A. confirmă preconișările așteptate.

*Semnăturile membrilor comisiei:*

Scutaru Gh. - Director S.A. „JAVGURVIN”

Scutaru V. - Tehnolog principal S.A. „JAVGURVIN”

Balanuță A. – Șef catedră Enologie, UTM

Scutaru A. – Șef laborator S.A. „JAVGURVIN”



## Anexa 7. Acte de implementare a lotului experimental de vin alb sec cu conținut corectat de alcool produs cu levuri immobilizate conform tehnologiei propuse



### ACT DE IMPLEMENTARE a producerii lotului experimental de vin alb sec cu conținut corectat de alcool fermentat cu levuri immobilizate EZFerm 44 din soiurile de struguri Sauvignon și Aligote recoltați din satul Javgur, r-ul Cimișlia

Noi, subsemnații, membrii comisiei alcătuite din Directorul „JAVGURVIN” S. A. Scutaru Gheorghe, tehnologul principal Scutaru Vasile, dr., prof. univ. Balanuță Anatol, doctoranda Scutaru Aliona (UTM, catedra Enologie) am întocmit acest act în cauză pentru a demonstra precum, că în perioada 10.09.2014 ÷ 20.10.2014 a fost fabricată o cantitate experimentală de vin alb sec cu conținut corectat de alcool în volum de 1500 dal. Vinul obținut are următorii indici fizico-chimici:

- Concentrația alcoolului, % vol. –  $9,55 \pm 0,1$ ;
- Concentrația masică a zaharurilor reducătoare,  $g/dm^3 - 2,8 \pm 0,5$ ;
- Concentrația masică a acizilor titrabili,  $g/dm^3 - 7,2 \pm 0,1$ ;
- Concentrația masică a acizilor volatili,  $g/dm^3 - 0,6 \pm 0,03$ ;
- Concentrația în masă a dioxidului de sulf total,  $mg/dm^3 - 116$ ;
- pH-ul –  $3,1 \pm 0,1$ ;
- Concentrația în masă a extractului sec nereducător,  $g/dm^3 - 18,5 \pm 0,1$ ;
- Concentrația în masă a acetatului de etil,  $mg/dm^3 - 17,7 \pm 0,2$ ;
- Concentrația în masă a alcoolului metilic,  $g/dm^3 - 0,01 \pm 0,01$ ;
- Concentrația în masă a 2-butanol,  $mg/dm^3 - < 0,5$ ;
- Concentrația în masă n-propanol,  $mg/dm^3 - 6,9 \pm 0,2$ ;
- Concentrația în masă izobutanol,  $mg/dm^3 - 22,4 \pm 0,2$ ;
- Concentrația în masă n-butanol,  $mg/dm^3 - < 0,5$ ;
- Concentrația în masă izopentanol,  $mg/dm^3 - 160 \pm 2$ ;
- Concentrația în masă a acidului tartric,  $g/dm^3 - 4,6$ ;
- Concentrația în masă a acidului malic,  $g/dm^3 - 1,6$ ;
- Concentrația în masă a acidului lactic,  $g/dm^3 - 0,7$ ;
- Concentrația în masă a acidului citric,  $g/dm^3 - 0,2$ ;

Nota organoleptică – 7,9.

Vinul alb sec cu conținut corectat de alcool obținut se caracterizează prin: culoare galben - verzuie, aromă de coacăză, fructe albe, gust proapăt cu aciditate ridicată. Confirmată de comisia de degustare a firmei S. A. „JAVGURVIN” și a catedrei „Enologie”.

Lotul experimental de vin alb sec cu conținut corectat de alcool produs la „JAVGURVIN” S.A. confirmă preconizările așteptate.

Semnăturile membrilor comisiei:

Scutaru Gh. - Director S.A. „JAVGURVIN”

Scutaru V. - Tehnolog principal S.A. „JAVGURVIN”

Balanuță A. – Șef catedră Enologie, UTM

Scutaru A. – Șef laborator S.A. „JAVGURVIN”

## Anexa 8. Acte de implementare a lotului experimental de vin alb din struguri supracopți produs cu levuri immobilizate conform tehnologiei propuse



### ACT DE IMPLEMENTARE a producerii lotului experimental de vin alb din struguri copți în exces fermentat cu levuri immobilizate EZFerm 44 din soiul de struguri Traminer recoltați din satul Javgur, r-ul Cimișlia

Noi, subsemnații, membrii comisiei alcătuite din Directorul „JAVGURVIN” S. A. Scutaru Gheorghe, tehnologul principal Scutaru Vasile, dr., prof. univ. Balanuță Anatol, doctoranda Scutaru Aliona (UTM, catedra Enologie) am întocmit acest act în cauză pentru a demonstra precum, că în perioada 25.09.2014 ÷ 30.10.2014 a fost fabricată o cantitate experimentală de vin alb din struguri copți în exces în volum de 1500 dal. Vinul obținut are următorii indici fizico-chimici:

- Concentrația alcoolului, % vol. –  $13,80 \pm 0,06$ ;
- Concentrația masică a zaharurilor reducătoare,  $g/dm^3 - 90,0 \pm 0,2$ ;
- Concentrația masică a acizilor titrabili,  $g/dm^3 - 5,2 \pm 0,1$ ;
- Concentrația masică a acizilor volatili,  $g/dm^3 - 0,36 \pm 0,08$ ;
- Concentrația în masă a dioxidului de sulf total,  $mg/dm^3 - 134$ ;
- pH-ul –  $3,2 \pm 0,1$ ;
- Concentrația în masă a aldehidei acetice,  $mg/dm^3 - 2,2 \pm 0,2$ ;
- Concentrația în masă a acetatului de etil,  $mg/dm^3 - 15,4 \pm 0,2$ ;
- Concentrația în masă a alcoolului metilic,  $g/dm^3 - 0,02 \pm 0,01$ ;
- Concentrația în masă a 2-butanol,  $mg/dm^3 - < 0,5$ ;
- Concentrația în masă n-propanol,  $mg/dm^3 - 6,4 \pm 0,2$ ;
- Concentrația în masă izobutanol,  $mg/dm^3 - 18,8 \pm 0,2$ ;
- Concentrația în masă n-butanol,  $mg/dm^3 - < 0,5$ ;
- Concentrația în masă izopentanol,  $mg/dm^3 - 133 \pm 2$ ;
- Concentrația în masă a acidului tartric,  $g/dm^3 - 3,4$ ;
- Concentrația în masă a acidului malic,  $g/dm^3 - 0,9$ ;
- Concentrația în masă a acidului lactic,  $g/dm^3 - 0,9$ ;
- Concentrația în masă a acidului citric,  $g/dm^3 - 0,5$ ;
- Nota organoleptică – 8,0.

Vinul alb din struguri copți în exces obținut se caracterizează prin: culoare pai deschis, aromă florală, curată și gust rond, plin. Confirmată de comisia de degustare a firmei S. A. „JAVGURVIN” și a catedrei „Enologie”. Lotul experimental de vin alb din struguri copți în exces produs la „JAVGURVIN” S.A. confirmă preconizările așteptate.

Semnăturile membrilor comisiei:

Scutaru Gh. - Director S.A. „JAVGURVIN”

Scutaru V. - Tehnolog principal S.A. „JAVGURVIN”

Balanuță A. – Șef catedră Enologie, UTM

Scutaru A. – Șef laborator S.A. „JAVGURVIN”

## Anexa 9. Act de prelevare a probelor.



### ACT DE PRELEVARE

a probelor de vin materie primă destinat producerii vinurilor albe obținute în sezonul de vinificație a. 2014 la S.A. „JAVGURVIN”

Comisia în componența:

Scutaru Gh. - Director S.A. „JAVGURVIN”  
 Scutaru V. - Tehnolog principal S.A. „JAVGURVIN”  
 Balanuță A. – Șef catedră Enologie, UTM  
 Scutaru A. – Șef laborator S.A. „JAVGURVIN”

a efectuat prelevarea probei, obținut în sezonul de vinificație a. 2014.

Prelevarea probelor de vinuri materie primă destinate producerii vinului albe seci, din struguri copti în exces și cu conținut corectat de alcool a fost efectuat pentru a determina influența fermentației combinate realizate cu levuri seci uscate active imobilizate în saci cu pereții permeabili cu diametrul porilor 0,60 μm asupra indicilor fizico-chimici și organoleptici.

Reeșind din sarcinile date, au fost prelevate, conform SM GOST R 51144:2011, următoarele mostre de vinuri materie primă, obținut în sezonul de vinificație a. 2014:

Nr. ord.	Denumirea vinului	Nr. rezervor	Susa de levuri	Indicii fizico-chimici				
				Concentrația alcoolică, % vol.	Concentrația în masă a:			
					zaharurilor reducătoare, g/dm <sup>3</sup>	acizilor titrabili, g/dm <sup>3</sup>	acizilor volatili, g/dm <sup>3</sup>	dioxidului de sulf total, mg/dm <sup>3</sup>
1	Vin alb sec	12	Oenoferm Freddo	12,38 ± 0,20	1,9 ± 0,2	6,5 ± 0,1	0,58 ± 0,08	140 ± 1
2	Vin alb sec cu conținut corectat de alcool	20	EZFerm 44	9,55 ± 0,10	2,8 ± 0,5	7,2 ± 0,1	0,6 ± 0,03	116 ± 1
3	Vin alb din struguri copti în exces	15	EZFerm 44	13,80 ± 0,06	90 ± 0,2	5,2 ± 0,1	0,36 ± 0,08	134 ± 1

În probele experimentale prelevate se preconizează determinarea indicilor fizico-chimici și organoleptici la Întreprinderea de Stat „Centrul Național de Verificare a Calității Producției Alcoolice”.

Semnăturile membrilor comisiei:

Scutaru Gh. - Director S.A. „JAVGURVIN”

Scutaru V. - Tehnolog principal S.A. „JAVGURVIN”

Balanuță A. – Șef catedră Enologie, UTM

Scutaru A. – Șef laborator S.A. „JAVGURVIN”

## Anexa 10. Calculul eficienței economice anuale al implementării tehnologiei propuse.



### RAPORT

cu privire la efectul economic al cercetării finalizate

În baza implementării cercetărilor refritoare la producerea vinurilor albe seci cu levuri uscate active Oenoferm Freddo libere în și imobilizate obținute în sezonul de vinificație a. 2014 la S.A. „JAVGURVIN” a fost calculat efectul economic la introducerea tehnologiei noi de producere a vinurilor albe seci prin fermentație combinată cu levuri imobilizate. A fost obținute două loturi de vinuri albe seci din soiul Chardonnay anul roadei 2014 prin metoda existentă și propusă. Indicii economici sunt următorii:

Denumirea indicilor	Unitatea de măsură	Schema tehnologică:		Notă
		existentă (V <sub>1</sub> )	propusă (V <sub>2</sub> )	
Vânzări nete	mii lei	230,76	211,41	conform datelor întreprinderii
Costul vânzărilor, inclusiv:	mii lei	164,83	162,63	---//---//---
- Cheltuieli de materiale directe	mii lei	114,56	112,65	---//---//---
- Cheltuieli legate de remunerarea muncii	mii lei	26,68	26,68	---//---//---
- Contribuții la asigurări sociale	mii lei	6,40	6,40	---//---//---
- Cheltuieli de producție indirecte	mii lei	17,18	16,90	---//---//---
Cheltuieli ale perioadei, inclusiv:	mii lei	62,63	61,80	---//---//---
- Cheltuieli comerciale	mii lei	29,67	29,27	---//---//---
- Cheltuieli generale și administrative	mii lei	19,78	19,52	---//---//---
- Alte cheltuieli operaționale	mii lei	13,19	13,01	---//---//---
Profit brut	mii lei	65,93	48,79	---//---//---
Profit net	mii lei	58,02	42,93	---//---//---
Rentabilitatea producției	lei	714,29	769,23	---//---//---
Investiții capitale specifice	lei	25000		---//---//---
Prețul angro	lei	10,99	10,84	Calcul
Volumul producției fabricate	dal	1500	1500	---//---//---
Efectul economic	lei	2250		Calcul

Implementarea schemei tehnologice noi la producerea vinului alb sec asigură obținerea unui venit suplimentar de 2250 lei pentru 1500 dal comparativ cu tehnologia existentă în baza majorării costului și calității producției finite. Astfel, efectul economic la producerea vinului alb sec după schema tehnologică nouă a constituit 1500 lei pentru 1000 dal de vin.

Scutaru Gh. - Director S.A. „JAVGURVIN”

Scutaru T. – Contabil șef S.A. „JAVGURVIN”

## **DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII**

Subsemnata, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sînt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Nazaria Aliona

Semnătura

Data

**10 ianurie 2017**

## CURRICULUM VITAE



**Nume, prenume:** NAZARIA Aliona

**Data și locul nașterii:** 25.06.1986, MDA Ialpujeni, r-nul Cimișlia, Republica Moldova.

**Cetățenie:** MD

### **Studii:**

2005 – 2009 – **Studii superioare universitare de licență**, Diplomă cu titlul de inginer licențiat seria ALII nr. 000023394, Universitatea Tehnică a Moldovei, Facultatea Tehnologie și Management în Industria Alimentară, specialitatea: „Tehnologia vinurilor și a produselor obținute prin fermentare”.

2009 – 2011 - **Studii de masterat**, Diplomă cu titlul de master în Tehnologii de fabricare și prelucrare seria AMC nr. 000001804, Universitatea Tehnică a Moldovei, Facultatea Tehnologie și Management în Industria Alimentară, specialitate: „Managementul viti-vinicol”.

2011 - 2014 - **Studii de doctorat**, Universitatea Tehnică a Moldovei, Facultatea Tehnologie și Management în Industria Alimentară, *Doctor în științe tehnice*, specialitatea: „Tehnologia băuturilor alcoolice și nealcoolice.

### **Stagii:**

August-decembrie 2008 – practica tehnologică, California, SUA.

**Domenii de activitate științifică:** Oenologia. Tehnologia vinurilor albe naturale seci și din struguri supracopți. Fermentația combinată a musturilor.

### **Activitatea profesională:**

2007-2009 - **inginer - chimist**, “Javgurvin”. r-ul Cimișlia.

2009-prezent – **șef laborator**, “Javgurvin”. r-ul Cimișlia.

2011 – **asistent universitar**, Universitatea Tehnică a Moldovei, Facultatea de Tehnologie și Management în Industria Alimentară, catedra Enologie.

2011-2014 – **profesor de științe tehnologice**, CNVVC.

2010-prezent – **inginer cal. I**, Universitatea Tehnică a Moldovei, Facultatea de Tehnologie și Management în Industria Alimentară, catedra Enologie.

**Perfecționări și recalificări:**

- Recalificare, specialitatea Pedagogie profesională 2014;
- Perfecționare, Expert degustator 2010.

**Participări în proiecte naționale și internaționale:**

2013 – prezent: **Proiect investițional european finanțat de BEI** „Renovarea utilajului laboratoarelor de instruire pentru desfășurarea cursurilor practice cu profil vitivinicol”, Universitatea Tehnică a Moldovei, catedra Enologie.

2017-2018: Proiecte pentru tineri cercetători pentru anii 2017-2018, 16.80012.51.17A, 27.05.2016 „Markeri de individualizare ai vinului roșu din soiul de struguri autohtoni Rară Neagră”, Universitatea Tehnică a Moldovei.

**Participări la foruri științifice naționale și internaționale:**

Conferința tehnico-științifică a colaboratorilor, doctoranzilor și studenților. Chișinău: UTM (2011, 2012); Conferința internațională “Tehnologii Moderne în Industria Alimentară - 2012”, Chișinău, 2012; Conferința internațională “Tehnologii Moderne în Industria Alimentară - 2014”, Chișinău, 2014; Conferința științifică a studenților și masteranzilor – 2014, Chișinău, UASM și MAIA; Conferința științifică internațională a doctoranzilor „Tendințe contemporane ale dezvoltării științei: viziuni ale tinerilor cercetători”, Chișinău 2014.

**Lucrări științifice și științifico-metodice publicate:** 15, dintre care articole – 6 (3 monoautor), teze ale comunicărilor științifice – 4, materiale didactice – 1, cereri la brevet de invenție - 2.

**Cunoașterea limbilor:**

Limba maternă – română,

Limbi străine: rusă – B2, franceză – B1, engleză – B1.

**Date de contact:**

Aliona NAZARIA

str. Studenților 9/9, birou 5-107, MD 2045, Chișinău.

tel. +373 (22) 509-957, mob.: +37369985777 și e-mail: [nazaria.aliona@gmail.com](mailto:nazaria.aliona@gmail.com)