



UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI

**FERMENTAREA ALCOOLICĂ CU INOCULARE
SECVENȚIONALĂ A LEVURILOR NON-
SACCHAROMYCES ȘI SACCHAROMYCES**

Student:

PASCARENCO Daria

st. gr. TVPF-221

Coordonator:

SCUTARU Iurie

dr., conf. univ.

Chișinău, 2026

REZUMAT

Cuvinte-cheie: fermentație alcoolică, *Saccharomyces cerevisiae*, non-*Saccharomyces*, inoculare secvențională.

Lucrarea include parte teoretică și experimentală, dedicate studierii aplicării diferitelor culturi de levuri în tehnologia modernă a vinificației. În partea teoretică sunt analizate particularitățile microbiotei mustului de struguri, caracteristicile biologice și tehnologice ale drojdiilor *Saccharomyces* și non-*Saccharomyces*, precum și abordările contemporane privind controlul procesului de fermentație alcoolică prin utilizarea inoculării secvenționale a culturilor de levuri.

Partea experimentală a lucrării este consacrată cercetării vinurilor albe seci obținute din soiurile Chardonnay, Muscat Ottonel, Pinot Grigio și Sauvignon Blanc, utilizând scheme clasice și secvenționale de fermentație. În cadrul cercetării au fost studiate particularitățile dinamicii fermentației alcoolice, a fost realizată analiza comparativă a parametrilor fizico-chimici ai vinurilor obținute, inclusiv aciditatea, pH-ul, conținutul de zaharuri reziduale și alcool, precum și evaluarea organoleptică a calității probelor investigate.

Rezultatele obținute au demonstrat că inocularea secvențională a levurilor non-*Saccharomyces* și *Saccharomyces cerevisiae* asigură desfășurarea stabilă a procesului de fermentație alcoolică, cu fermentarea completă a zaharurilor. S-a constatat că inocularea secvențională influențează profilul acid al vinurilor și intensitatea proceselor metabolice, fapt confirmat prin modificările valorilor pH-ului și diferențele în concentrația alcoolică. Analiza comparativă a arătat că ambele scheme de fermentație permit obținerea unor vinuri albe seci de calitate.

Rezultatele obținute pot fi valorificate pentru perfecționarea schemelor tehnologice de producere a vinurilor albe seci și pentru alegerea strategiei optime de fermentație în funcție de particularitățile materiei prime și de caracteristicile dorite ale produsului finit. O direcție перспективă a cercetărilor viitoare o constituie studierea diferitelor tulpini de levuri non-*Saccharomyces* pentru același soi de struguri, precum și evaluarea influenței fermentației secvenționale asupra stabilității, rezistenței la oxidare și valorii biologice a vinurilor.

SUMMARY

Keywords: alcoholic fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, non-*Saccharomyces*, sequential inoculation.

The thesis includes theoretical and experimental sections dedicated to the study of the application of different yeast cultures in modern winemaking technology. The theoretical section examines the characteristics of grape must microbiota, the biological and technological properties of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts, as well as contemporary approaches to controlling the alcoholic fermentation process through the use of sequential yeast inoculation.

The experimental section of the thesis is devoted to the investigation of dry white wines produced from Chardonnay, Muscat Ottonel, Pinot Grigio, and Sauvignon Blanc grape varieties using both classical and sequential fermentation schemes. The study focused on the dynamics of alcoholic fermentation, comparative analysis of the physicochemical parameters of the obtained wines, including acidity, pH, residual sugar, and alcohol content, as well as the organoleptic evaluation of the quality of the investigated samples.

The obtained results demonstrated that sequential inoculation of non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces cerevisiae* yeasts ensures stable alcoholic fermentation with complete sugar consumption. It was established that sequential inoculation influences the acid profile of the wines and the intensity of metabolic processes, as confirmed by changes in pH values and differences in alcohol concentration. Comparative analysis showed that both fermentation schemes allow the production of high-quality dry white wines.

The obtained results may be applied to improve technological schemes for dry white wine production and to select the optimal fermentation strategy depending on the characteristics of the raw material and the desired properties of the final product. A promising direction for further research is the study of different non-*Saccharomyces* yeast strains for the same grape variety, as well as the evaluation of the effect of sequential fermentation on wine stability, oxidative resistance, and biological value

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 11

I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР 13

- 1.1. История и эволюция использования дрожжей в виноделии 13
- 1.2. Микробиота виноградной ягоды: дикие дрожжи и бактерии 16
- 1.3. Теоретические основы спиртового брожения с использованием дрожжей *Saccharomyces* и non-*Saccharomyces* 19
- 1.4. Основные виды и способы использования дрожжей в виноделии 22
- 1.5. Применение дрожжей non-*Saccharomyces* в технологии производства сухих вин 27

II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 30

- 2.1. Описание виноградных сортов. 30
- 2.2. Анализ полученного сырья 34
- 2.3. Препараты, использованных в процессе брожения 35
- 2.4. Методы анализа 35
- 2.5. Технологические схемы производства белых сухих виноматериалов 42

III. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ 48

- 3.1. Основные физико-химические параметры виноградного сусла 48
- 3.2. Содержание легкоусваиваемого азота в винограде 49
- 3.3. Динамика спиртового брожения 50
- 3.4. Основные физико-химические параметры белых сухих виноматериалов 59
- 3.5. Органолептический анализ 62

ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ 66

БИБЛИОГРАФИЯ 67

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность выбранной темы обусловлена современными тенденциями развития винодельческой отрасли, ориентированными на повышение качества продукции, совершенствование биотехнологических процессов и создание вин с уникальными органолептическими характеристиками, соответствующими требованиям международного рынка. В современных условиях конкурентоспособность винодельческой продукции определяется не только стабильностью технологического процесса, но и способностью формировать выразительный ароматический профиль, гармоничный вкус и высокую потребительскую ценность готового продукта.

Одним из важнейших этапов производства вина является процесс спиртового брожения, эффективность которого во многом зависит от физиологической активности дрожжей, их метаболических особенностей и условий проведения ферментации.

На протяжении длительного времени в виноделии основную роль играли дрожжи рода *Saccharomyces cerevisiae*, которые благодаря высокой ферментативной активности, устойчивости к этанолу и способности обеспечивать полное сбраживание сахаров считаются наиболее надежными микроорганизмами для контролируемого спиртового брожения. Однако их использование не всегда позволяет получить вина с высокой ароматической сложностью. В связи с этим в последние годы возрос интерес к дрожжам группы *non-Saccharomyces*, которые ранее считались нежелательной микрофлорой, но сегодня рассматриваются как перспективный инструмент современной энологии благодаря способности синтезировать ароматические соединения, органические кислоты и другие метаболиты, положительно влияющие на органолептические характеристики и качество вина.

В связи с этим особый интерес представляет технология последовательного внесения дрожжей, при которой на начальной стадии брожения используются культуры *non-Saccharomyces* для формирования сложного ароматического профиля, а затем вводятся дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, обеспечивающие стабильное завершение ферментационного процесса.

Таким образом, возникает научно-практическая необходимость исследования особенностей спиртового брожения виноградного сусла при последовательном использовании различных дрожжевых культур, а также оценки их влияния на кинетику ферментации и качество получаемых виноматериалов.

Объектом исследования является процесс спиртового брожения виноградного сусла при производстве белых сухих виноматериалов.

ЛИТЕРАТУРА

1. FUGELSANG K.C., EDWARDS C.G. *Wine Microbiology: Practical Applications and Procedures*. – New York: Springer, 2007.
2. BARATA A., MALFEITO-FERREIRA M., LOUREIRO V. The microbial ecology of wine grape berries // *International Journal of Food Microbiology*. – 2012.
3. VAUDANO E., GARCIA-MORUNO E., DI STEFANO R. *L'utilizzo dei lieviti non-Saccharomyces in fermentazione*. – 2014.
4. LIU D., ZHANG P., CHEN D., HOWELL K. From the Vineyard to the Winery: Microbial Ecology Drives Regional Distinctiveness of Wine // *Frontiers in Microbiology*. – 2019.
5. SWIEGERS J.H., BARTOWSKY E.J., HENSCHKE P.A., PRETORIUS I.S. Microbial modulation of wine aroma and flavour // *Australian Journal of Grape and Wine Research*. – 2005.
6. WANG C., YU J., ZHOU W., XU Y. Research Progress on the Application of Non-Saccharomyces During Wine Fermentation // *Scientia Agricultura Sinica*. – 2023.
7. PASTEUR L. *Études sur le vin, ses maladies, causes qui les provoquent*. – Paris, 1873.
8. CIANI M., CANONICO L., ORO L., COMITINI F. Sequential fermentation using non-Saccharomyces yeasts for the reduction of alcohol content in wine // *BIO Web of Conferences*. – 2014.
9. GUZZON R., PAOLINI M., MALACARNE M., ROMAN T., NASELLI V., FRANCESCA N., LARCHER R. Use of non-Saccharomyces yeasts in the prise de mousse of Lambrusco: microbial evolution through alcoholic fermentation and effect on wine volatile profile // *OENO One*. – 2024.
10. PADILLA B., GIL J.V., MANZANARES P. Past and Future of Non-Saccharomyces Yeasts: From Spoilage Microorganisms to Biotechnological Tools for Improving Wine Aroma Complexity // *Frontiers in Microbiology*. – 2016.
11. JOLLY N.P., VARELA C., PRETORIUS I.S. Not your ordinary yeast: non-Saccharomyces yeasts in wine production // *FEMS Yeast Research*. – 2013.
12. MATEO J.J., MAICAS S. Application of Non-Saccharomyces Yeasts to Wine-Making Process // *Fermentation*. – 2016.
13. CIANI M., COMITINI F. Non-Saccharomyces wine yeasts have a promising role in biotechnological approaches to winemaking // *Annals of Microbiology*. – 2010.
14. GARCÍA M., ESTEVE-ZARZOSO B., ARROYO T. *Non-Saccharomyces Yeasts: Biotechnological Role for Wine Production*. – Springer, 2016.

15. WANG X., FAN G., PENG Y., XU N., XIE Y., ZHOU H., LIANG H., ZHAN J., HUANG W., YOU Y. Mechanisms and effects of non-Saccharomyces yeast fermentation on the aromatic profile of wine // *Journal of Food Composition and Analysis*. – 2023.
16. BARFORD J.P., HALL R.J. An examination of the Crabtree effect in *Saccharomyces cerevisiae* // *Journal of General Microbiology*. – 1979.
17. University of California, Davis. Diagnostic Key Classes of Off-Character Compounds: Odor Impact Amino Acid Derivatives Found in Wine. URL: <https://wineserver.ucdavis.edu/industry-info/enology/fermentation-management-guides/key-diagnosing-problem-fermentations/diagnostic-key-classes-character-compounds-odor-impact-amino-acid-derivatives-found-wine> (дата обращения: 15.03.2026).
18. HAZELWOOD L.A., DARAN J.M., VAN MARIS A.J.A., PRONK J.T., DICKINSON J.R. The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2008.
19. Брожение виноградного сусла – Биосинтез сложных эфиров. URL: <https://vinograd.info/knigi/osnovy-biohimii-vinodeliya/brozhenie-vinogradnogo-susla-5.html> (дата обращения: 16.03.2026).
20. SAERENS S.M.G., DELVAUX F.R., VERSTREPEN K.J., THEVELEIN J.M. Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae* // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2008.
21. VARELA C. The impact of non-Saccharomyces yeasts in the production of alcoholic beverages // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2016. – Т. 100. – С. 9861–9874.
22. Batch culture growth // Labster. URL: <https://theory.labster.com/batch-fermentation/> (дата обращения: 28.03.2026).
23. MARSIT S., DEQUIN S. Diversity and adaptive evolution of *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast: a review // *FEMS Yeast Research*. – 2015.
24. BELL S.J., HENSCHKE P.A. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine // *Australian Journal of Grape and Wine Research*. – 2005. – Т. 11. – С. 242–295. DOI: 10.1111/j.1755-0238.2005.tb00028.x.
25. MINA M., TSALTAS D. Contribution of Yeast in Wine Aroma and Flavour // *Microorganisms*. – 2016.
26. BELDA I., RUIZ J., ALASTRUEY-IZQUIERDO A., NAVASCUÉS E., MARQUINA D., SANTOS A. Unraveling the enzymatic basis of wine “flavorome” // *Frontiers in Microbiology*. – 2017.

27. QIN T., LIAO J., ZHENG Y., ZHANG W., ZHANG X. Oenological Characteristics of Four Non-Saccharomyces Yeast Strains With β -Glycosidase Activity // *Frontiers in Microbiology*. – 2021.
28. CIANI M., MACCARELLI F. Oenological properties of non-Saccharomyces yeasts associated with wine-making // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 1998.
29. VEJARANO R. Non-Saccharomyces in Winemaking: Source of Aroma Compounds and Other Biotechnological Applications // *Food Microbiology*. – 2020.
30. PIANCA L. *Utilizzo di lieviti non-Saccharomyces per modulare l'acidità del vino*. – 2024.
31. ARHIP V. *Indicatii metodice pentru lucrarle de laborator / Universitatea Tehnica a Moldovei, Facultatea Tehnologi Alimentelor, Departamentul Oenologie si Chimie*. – Chişinău: Tehnica-UTM, 2024. – ISBN 978-9975-64-404-4.
32. Soiuri internaţionale de struguri // Wine of Moldova. URL: <https://wineofmoldova.com/ro/soiuri-internationale-de-struguri/> (дата обращения: 03.04.2026).
33. RENAULT P., COULON J., DE REVEL G., BARBE J.-C., BELY M. Increase of fruity aroma during mixed *T. delbrueckii/S. cerevisiae* wine fermentation is linked to specific esters enhancement // *International Journal of Food Microbiology*. – 2015. – Т. 207. – С. 40–48. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.037.
34. BENITO S. The impacts of *Torulasporea delbrueckii* yeast in winemaking // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2018. – Т. 102. – С. 3081–3094. DOI: 10.1007/s00253-018-8849-0.
35. CANONICO L., COMITINI F., ORO L., CIANI M. Sequential fermentation with selected immobilized non-Saccharomyces yeast for reduction of ethanol content in wine // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – Т. 7. – Article 278. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00278.
36. MUSTEATA G., SCLIFOS A., GHERCIU-MUSTEATA L., COVACI E. *Controlul tehnologic si microbiologic al bauturilor alcoolice: Indrumar pentru realizarea lucrarilor de laborator / Universitatea Tehnica a Moldovei, Facultatea Tehnologi Alimentelor, Departamentul Oenologie*. – Chişinău: Tehnica-UTM, 2017. – ISBN 978-9975-45-473-5.
37. MUSTEATA G., GHERCIU L., BÎSCA V. *Enochimie. Metode de analiza: Indicatii metodice pentru efectuarea lucrarilor de laborator*. – Chişinău: Tehnica-UTM, 2006.
38. Steroglass. *Flash Automatic Titrator: User Manual / Quick Guide for Oenological Analysis*. URL: https://cdn-scienze.b-cdn.net/wp-content/uploads/2022/02/Flash-Wine_QuickGuide-Eng_rev1_2020.pdf (дата обращения: 08.05.2026).

39. Oenolab Diagnostics. *How to perform analysis with Oenolab Diagnostics' reagents*. URL: <https://www.rktech.hu/dokumentaciok/Oenolab/Reagents/how-to.pdf> (дата обращения: 08.05.2026).
40. Sturza Rodica, Balanuță Anatol, Sclifos Aliona și Covaci Ecaterina. Indicații metodice pentru realizarea proiectelor de an și de licență la proiectarea întreprinderilor vitivinicole. 3,75 c.a, 50 exemple, Tehnica – UTM, 2023, ISBN- 978-9975-45-945-7
41. RUSU E. *Vinificatia primara*. – Chișinău: Continental Group SRL, 2011. – ISBN 978-9975-4248-4-4.
42. RIBÉREAU-GAYON P., DUBOURDIEU D., DONÈCHE B., LONVAUD A. *Handbook of Enology. Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications*. 2nd ed. – Chichester: John Wiley & Sons, 2006.
43. ZOECKLEIN B.W. *Sulfur Dioxide* / Virginia Polytechnic Institute and State University, Department of Food Science and Technology. URL: https://enology.fst.vt.edu/downloads/wm_issues/Sulfur%20Dioxide.pdf (дата обращения: 15.05.2026).
44. JACKSON R.S. *Wine Science: Principles and Applications*. 4th ed. – Academic Press, 2014.
45. STYGER G., PRIOR B., BAUER F.F. Wine flavor and aroma // *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. – 2011.
46. Rubțov, S., Sclifos, A., Zgardan, D. *Microbiologia vinului: Ghid metodic pentru lucrările de laborator*. Chișinău: Tehnica-UTM, 2019. ISBN 978-9975-45-608-1
47. Sturza Rodica, Balanuță Anatol, Sclifos Aliona și Covaci Ecaterina. Indicații metodice pentru realizarea proiectelor de an și de licență la proiectarea întreprinderilor vitivinicole. 3,75 c.a, 50 exemple, Tehnica – UTM, 2023, ISBN- 978-9975-45-945-7
48. MARCON A.R., FOGAÇA A.O., GARAVAGLIA J. et al. Contribution of a Brazilian *Torulaspora delbrueckii* isolate and a commercial *Saccharomyces cerevisiae* to the aroma profile and sensory characteristics of Moscato Branco wines // *Australian Journal of Grape and Wine Research*. – 2018.
49. COVACI, E., SCLIFOS, A., VLADAI N. Enhancing the Acidity and Sensory Profile of Two Wines from the Stefan Voda PGI Wine Region Using Native Grape Microflora. 2026/1, Food and Nutrition Sciences, 17 (1), 50-67. https://www.scirp.org/pdf/fns_2704280.pdf
50. COVACI, E., SCLIFOS, A., VLADAI N. Enhancing the Acidity and Sensory Profile of Two Wines from the Stefan Voda PGI Wine Region Using Native Grape Microflora. 2026/1, Food and Nutrition Sciences, 17 (1), 50-67. https://www.scirp.org/pdf/fns_2704280.pdf