

PLAN SECTORIAL-ADER 2022

Contractor: *Institutul de Cercetare-Dezvoltare pentru Viticultura si Vinificatie, Valea Calugareasca*

Obiectivul general: *ADER*

Contract: *7.1.2/2019*

Anul inceperii: *2019* Anul finalizarii: *2022*

Denumirea proiectului: **SELECTIA, CONSERVAREA SI VALORIFICAREA BIODIVERSITATII LEVURILOR DIN MICROBIOTA VITICOLA ZONALA**

Denumirea fazei nr. 2./2020: **Identificarea tulpinilor de drojdii, potential valoroase in procesul de vinificatie**

Durata (luni): 37

Persoana de contact (Directorul de proiect):
Dr. biolog. Elena BRINDUSE

Date contact (tel/fax, e-mail):
*0244401901/0244401902,
elabrinduse@gmail.com*

INSTITUTII IMPLICATE IN DERULAREA PROIECTULUI

| | |
|--------------------|---|
| COORDONATOR | Institutul de Cercetare-Dezvoltare pentru Viticultura si Vinificatie Valea Calugareasca (ICDVV Valea Calugareasca) |
| PARTENER 1 | Stațiunea de Cercetare Dezvoltare pentru Viticultură și Vinificație Bujoru (SCDVV Bujoru) |
| PARTENER 2 | Stațiunea de Cercetare Dezvoltare pentru Viticultură și Vinificație Iasi (SCDVV Iasi) |
| PARTENER 3 | Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Bioresurse Alimentare (IBA București) |

PROIECTUL NR. 7.1.2

Obiectivul general

- **Mentinerea și gestionarea diversității și a dinamicii microbiotei levuriene în relație cu calitățile senzoriale ale vinului.**

Rezultate preconizate pentru atingerea obiectivului

- **Realizarea unei Baze de date asociată microflorei viticole specifice arealelor viticole nationale;**
- **Rezultate privind reactivarea tulpinilor de drojdii existente în colecțiile de germoplasmă levuriană;**
- **Rezultate privind performanțele metabolice și enologice ale tulpinilor de drojdii în anumite condiții de creștere; Caracterizarea biodiversității drojdiilor în areale viticole consacrate;**
- **Rezultate privind testarea tulpinilor selectate la nivel de microvinificație și analiza fizico-chimică și organoleptică a vinurilor obținute;**
- **Realizarea unei colecții nationale de drojdii autohtone *Saccharomyces* și non – *Saccharomyces* de către Conducătorul de proiect în scopul conservării, la nivel national, a biodiversității drojdiilor de vinificație;**
- **Promovarea și diseminarea rezultatelor obținute.**

PROIECTUL NR. 7.1.2/ FAZA 3

Obiectivul fazei

- Evaluarea performanțelor tehnologice ale tulpinilor selectate la nivel de microvinificație

Rezultate preconizate pentru atingerea obiectivului fazei

- ❑ Vinuri autohtone fermentate cu drojdii selectate; Urmărirea proceselor de fermentare a vinurilor autohtone cu drojdiile selectate, prin spectroscopie ^1H -RMN;
- ❑ Caracteristici de compoziție ale vinurilor;
- ❑ Caracteristici senzoriale și organoleptice ale vinurilor; Bază de date;
- ❑ Caracterizarea compozițională a vinurilor utilizând metoda RMN; Bază de date cu amprente RMN ale vinurilor obținute;
- ❑ Tehnologie de cultura dubla și/sau secvențială de drojdii de vinificație.

REZULTATE OBTINUTE

Activitatea 3.1 Procesarea strugurilor si obtinerea musturilor din soiuri de vita de vie autohtone; Reactivarea tulpinilor de interes si pregatirea inoculului; Insamantarea musturilor la nivel pilot si supravegherea fermentatiei; Obtinerea de vinuri rosii si albe cu ajutorul tulpinilor selectate.

- **Vinuri autohtone fermentate cu drojdii selectate;**
- **Urmărirea proceselor de fermentare a vinurilor autohtone cu drojdiile selectate, prin tehnici convenționale si spectroscopie ^1H -RMN.**

Procesarea strugurilor si obtinerea musturilor din soiuri de vita de vie autohtone

Experimentările au fost realizate utilizand ca materie primă strugurii proveniti de la următoarele soiuri de struguri:

CO – ICDVV Valea Călugărească

Soiul de struguri pentru vinuri albe – Fetească albă

Soiul de struguri pentru vinuri rosii – Fetească neagră

P1 – SCDVV Bujoru si P2 – SCDVV Iași

Soiul de struguri pentru vinuri albe – Fetească albă

Fluxul tehnologic general de producere a vinurilor

STRUGURI LA MATURITATE TEHNOLOGICA

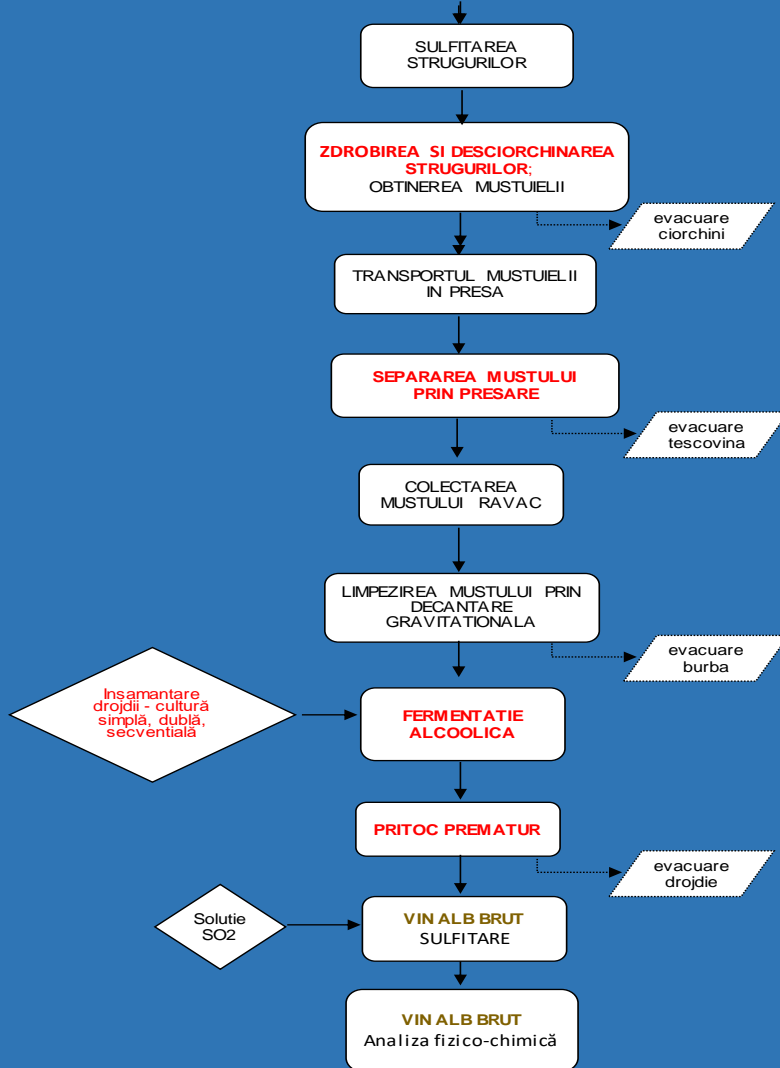


Diagrama flux pentru Vin brut alb

STRUGURI LA MATURITATE TEHNOLOGICA

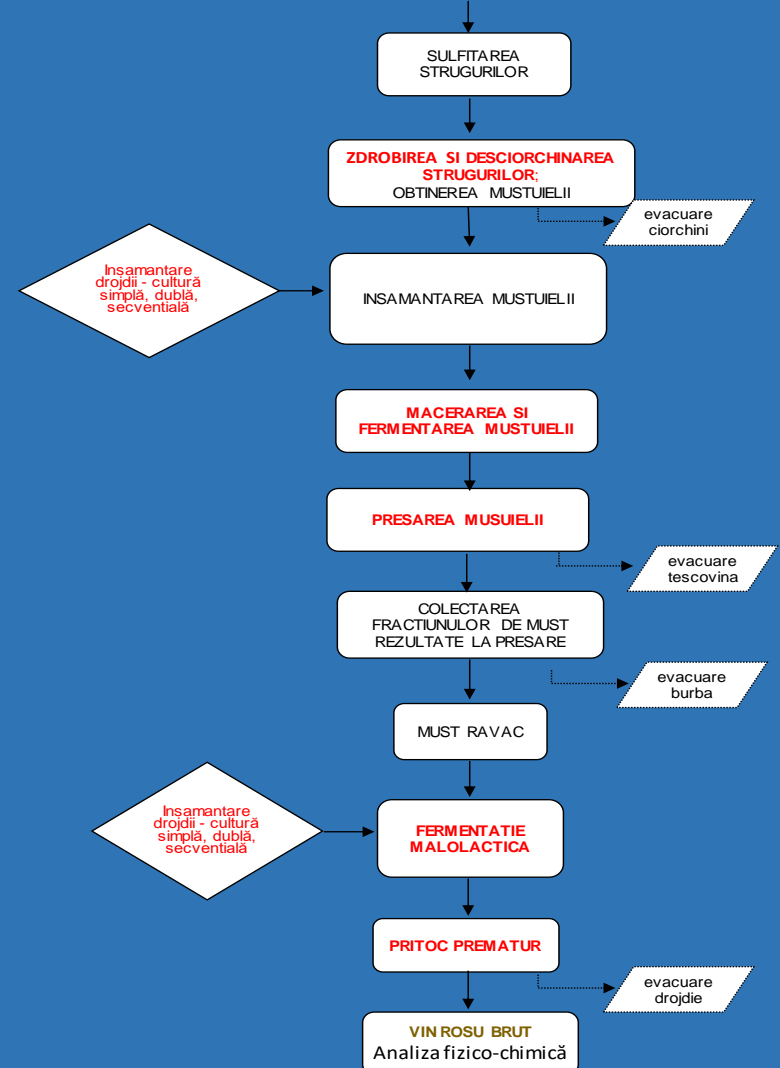


Diagrama flux pentru Vin brut rosu

TULPINI SELECTATE ȘI UTILIZATE IN CONDITII DE MICROPRODUCTIE

CO – ICDVV Valea Călugărească

Torulaspora rosei, tulpina 75 + *Saccharomyces cerevisiae*, tulpina 52;

Torulaspora rosei, tulpina 47 + *Saccharomyces cerevisiae*, tulpina 76;

P1 – SCDVV Bujoru

Candida utilis, tulpina 40 + *Saccharomyces cerevisiae*, tulpina 55;

P2 – SCDVV Iasi

Torulaspora delbrueckii, tulpina 10 + *Saccharomyces cerevisiae*,
tulpinile 4.1.11; 4,3; 4.6; 4.10.

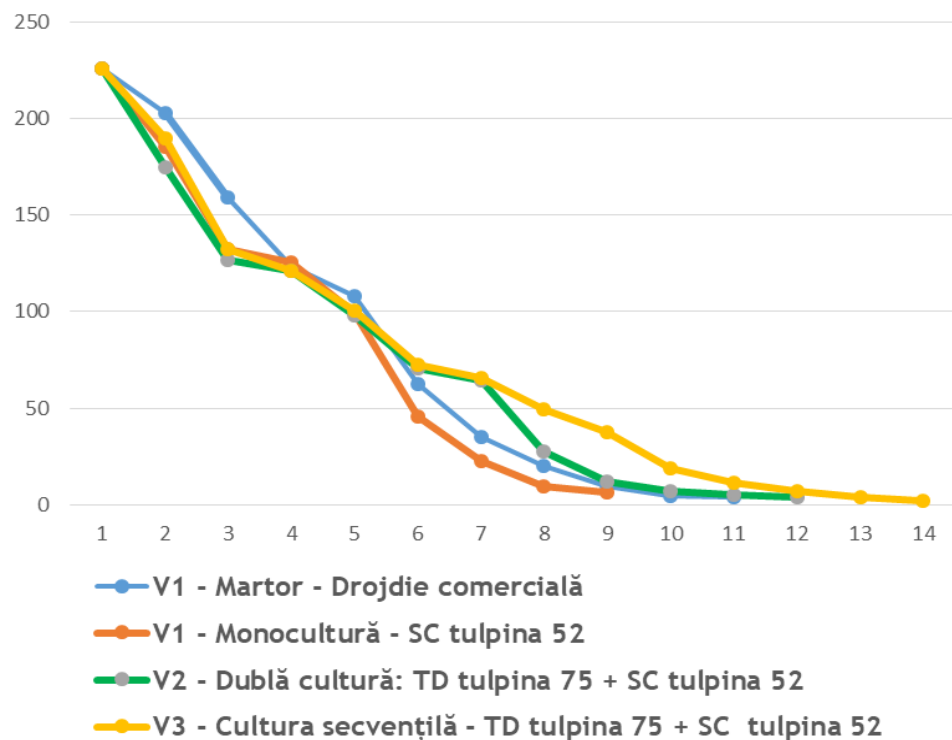
VARIANTE EXPERIMENTALE

- ✓ **monocultură** cu tulpini *Saccharomyces*;
- ✓ **cultură dublă** cu o tulpină non *Saccharomyces* și o tulpină *Saccharomyces*;
- ✓ **cultura secvențială** cu inoculare de non-*Saccharomyces* și *Saccharomyces* după 24 h și 48 h (raport 1:10).

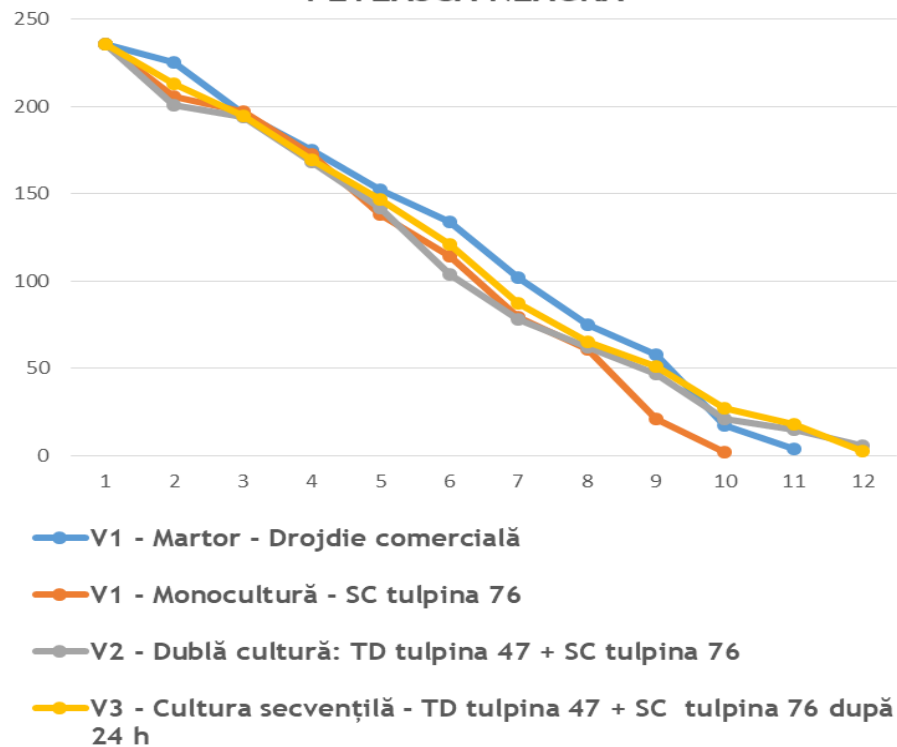
➤ **REZULTATE OBTINUTE**

Dinamica proceselor fermentative

FETEASCĂ ALBĂ



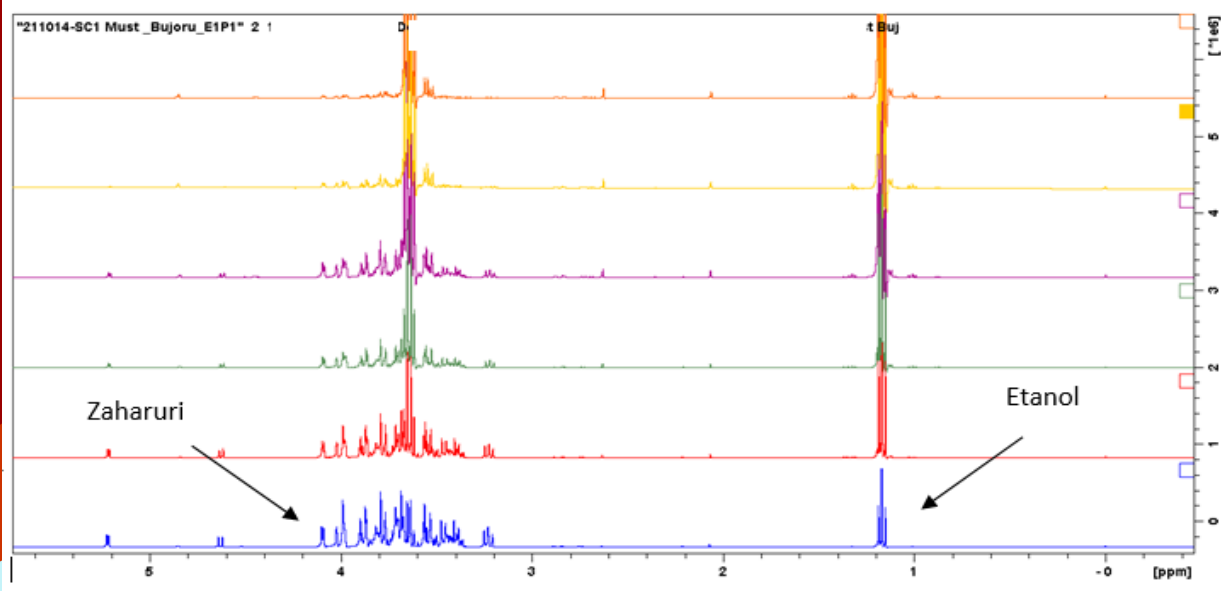
FETEASCĂ NEAGRĂ



| Viteza e fermentare (g/L zaharuri/24 h) | Martor | Monocultură | Dublă cultură | Cultură secvențială |
|--|---------------|--------------------|----------------------|----------------------------|
| Fetească albă | 20,16 | 24,04 | 18,47 | 15,97 |
| Fetească neagră | 21,05 | 23,38 | 19,18 | 19,40 |

➤ REZULTATE OBTINUTE

Dinamica proceselor fermentative în spectrul RMN

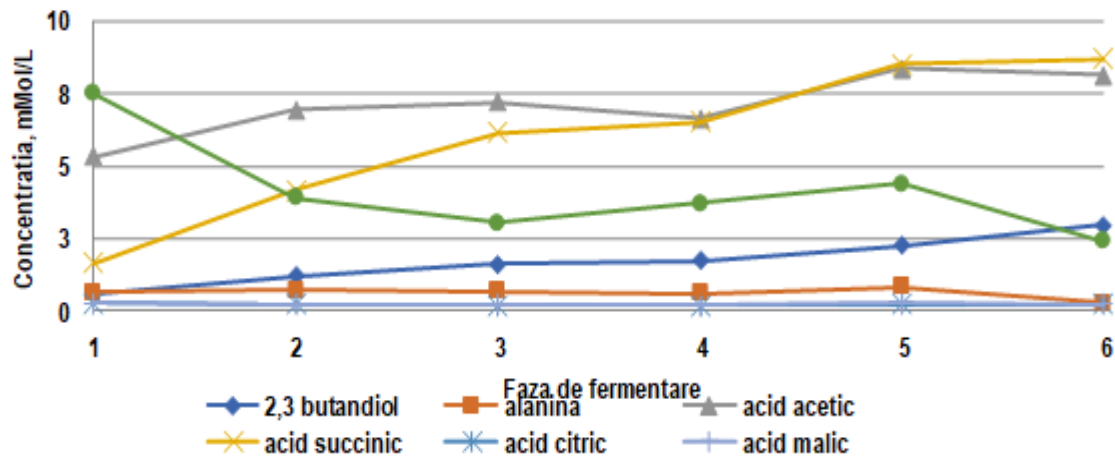


Suprapunere probe must

- începutul fermentatiei (albastru)
- - vin stabilizat (portocaliu)

Compuși identificați

2,3 – butandiol, alanină, acid acetic, acid succinic, acizii malic + citric, acidul citric, glucoza, fructoza și acidul tartric, etanol.



- 
- ▶ **Activitatea 3.2 Realizarea profilului compozitional al vinurilor; Realizarea profilului senzorial al vinurilor**
-

Rezultate

- ✓ **Caracteristici de compozitie ale vinurilor**
- ✓ **Caracteristici senzoriale si organoleptice ale vinurilor**
- ✓ **Baza de date**
- ✓ **Caracterizarea compozițională a vinurilor utilizând metoda RMN**
- ✓ **Bază de date cu amprente RMN ale vinurilor obținute**

Caracteristicile fizico - chimice ale vinurilor

CO - ICDVV Valea Călugărească

| Varianta experimentală | Concentratia alcoolica (% vol) | Zahar (g/L) | Aciditatea totala (g/L ac. tarttric) | Aciditate volatila (g/L CH3COOH) | Extract sec total (g/L) | Extract nereducator (g/L) |
|-----------------------------|--------------------------------|-------------|--------------------------------------|----------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| FETEASCĂ ALBĂ | | | | | | |
| Martor - drojdie comercială | 14.3 | 3.80 | 3.68 | 0.48 | 26.1 | 21.29 |
| Monocultură | 15.0 | 9.20 | 4.58 | 0.60 | 41.1 | 24.90 |
| Cultură dublă | 14.3 | 4.00 | 5.00 | 0.56 | 24.8 | 20.80 |
| Cultură secventială | 14.0 | 2.00 | 4.80 | 0.58 | 24.8 | 22.80 |
| FETEASCĂ NEAGRĂ | | | | | | |
| Martor - drojdie comercială | 14.7 | 3.00 | 4.28 | 0.51 | 26.8 | 23.80 |
| Monocultură | 14.7 | 1.62 | 4.00 | 0.5 | 25.3 | 23.70 |
| Cultură dublă | 14.7 | 6.06 | 4.36 | 0.48 | 25.5 | 19.44 |
| Cultură secventială | 14.7 | 4.00 | 4.43 | 0.46 | 26.3 | 21.68 |

- ✓ **Dintre vinurile albe, cel mai extractiv este vinul obtinut în monocultură, cu 24,9 g/L, caracteristică corelată cu nivelul ridicat al zaharurilor si cu gradul alcoolic ridicat, urmat de vinul obtinut în cultură dublă, cu 22,8 g/L.**
- ✓ **Dintre vinurile rosii se remarcă variantele Martor si Monocultură cu valori ale extractului nereducător de 23,80 respectiv 23,70 g/L.**
- ✓ **Vinurile de Fetească neagră, astringente si intens colorate, au cel mai ridicat continut in polifenoli totali în cultură secventială, aceste vinuri fiind totodata si cele mai bogate in acizi fenolici, taninuri si activitate antioxidantă**

Caracteristicile fizico – chimice ale vinurilor

Partener 1 – SCDVV Bujoru

| Varianta | Alcool (% vol.) | Aciditatea totala (acid tartrtic g/L) | Aciditatea volatilă (ac. acetic mg/L) | Zaharuri reductoare (g/L) | Extract nered. (g/L) | pH |
|----------------------------|-----------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|----------------------|------|
| Monocultură | 13,1 | 5,6 | 0,50 | 4 | 24 | 3,35 |
| Cultură dublă | 13,1 | 5,9 | 0,44 | 3 | 24 | 3,30 |
| Cultură secvențială 24h | 12,9 | 5,9 | 0,47 | 6 | 25 | 3,30 |
| V4-Cultură secvențială 48h | 13,1 | 6,5 | 0,44 | 3 | 24 | 3,30 |
| V5-Cultură secvențială 72h | 13,1 | 6,1 | 0,56 | 3 | 25 | 3,29 |

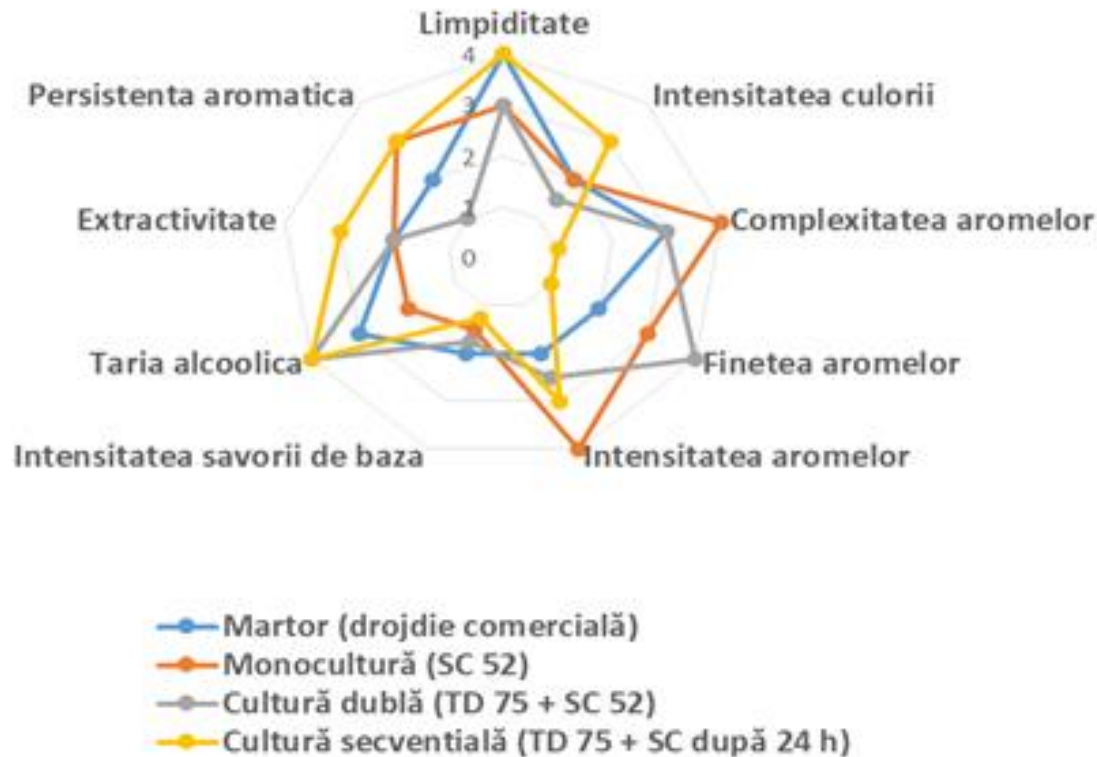
- ✓ **Vinurile rezultate, sunt seci, cu un potențial alcoolic ridicat, zaharurile reziduale sunt mici, datorită metabolizării lor, cu excepția aceleiași variante care o situează la limita vinurilor demiseci, cu 6,1 g/L zaharuri.**
- ✓ **Din punct de vedere senzorial, s-au remarcat vinurile obtinute în cultură secvențială, prin calitate gustativă.**

Caracteristicile fizico – chimice ale vinurilor

Partener 1 – SCDVV Iasi

- ✓ **Vinurile obținute în condiții de monocultură, cultură dublă și secvențială au prezentat valori mai mari în cazul concentrațiilor de etanol comparativ cu vinul realizat de drojdia martor.**
- ✓ **Valorile acidității totale ale vinurilor obținute în monocultură cu tulpinile 4.3, 4.6 și 4.10 au fost mai mari comparativ cu vinul martor;**
- ✓ **Cele mai bune valori a extractului sec total și a extractului nereducător au fost obținute în vinurile rezultate din variantele experimentale în cultură secvențială cu tulpinile *non Saccharomyces /Saccharomyces 4.1.11* și *non Saccharomyces /Saccharomyces 4.3* când inocularea tulpinilor *Saccharomyces* a fost efectuată la 24 ore.**
- ✓ **Concentrațiile totale de polifenoli (mg GAE/L) și valorile indicelui total de polifenoli au fost apropiate, fiind cuprinse între 0,256 și 0,259 mg GAE/L, respectiv 5,30 și 5,40 IPT.**

Fetească albă

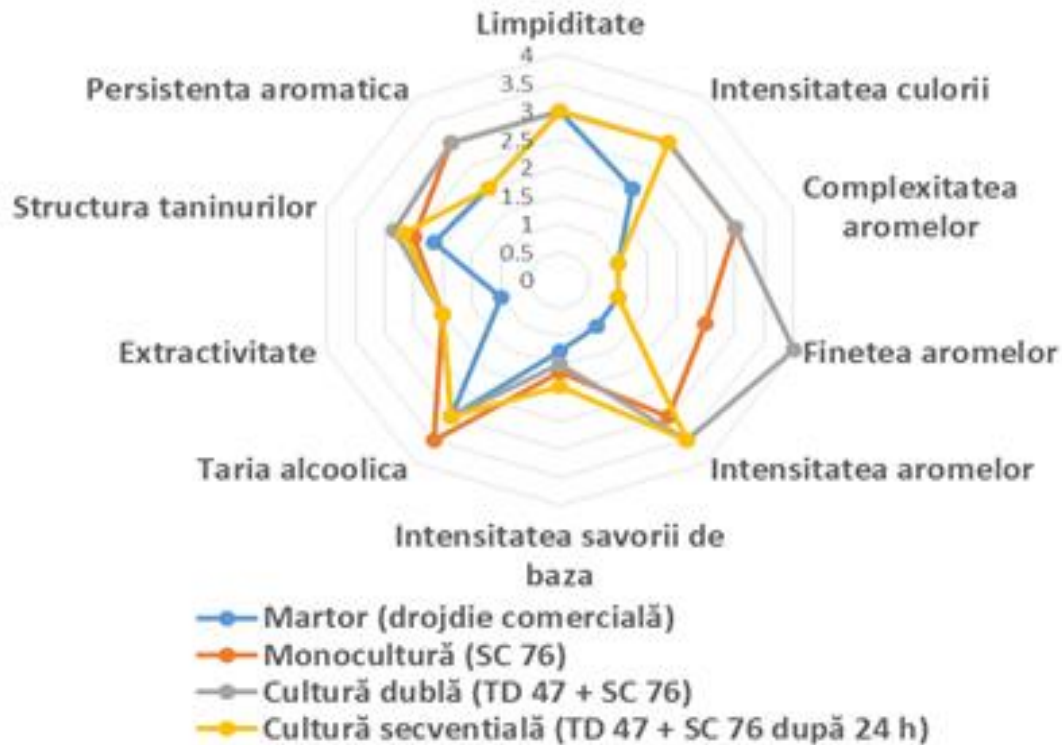


Caracteristici senzoriale și organoleptice ale vinurilor

Din punct de vedere senzorial, dintre vinurile albe s-au remarcat vinurile fermentate cu tulpina *Saccharomyces cerevisiae* 52 (monocultură) prin intensitatea și complexitatea aromelor. Predomină aroma florală (flori de vită de vie, flori de camp), de citrice (lămaie, grapefruit) și miere (propolis).

Vinurile obținute prin cultură dublă (TD 75 + SC 52), ies în evidență prin finetea aromelor

Feteasca neagra

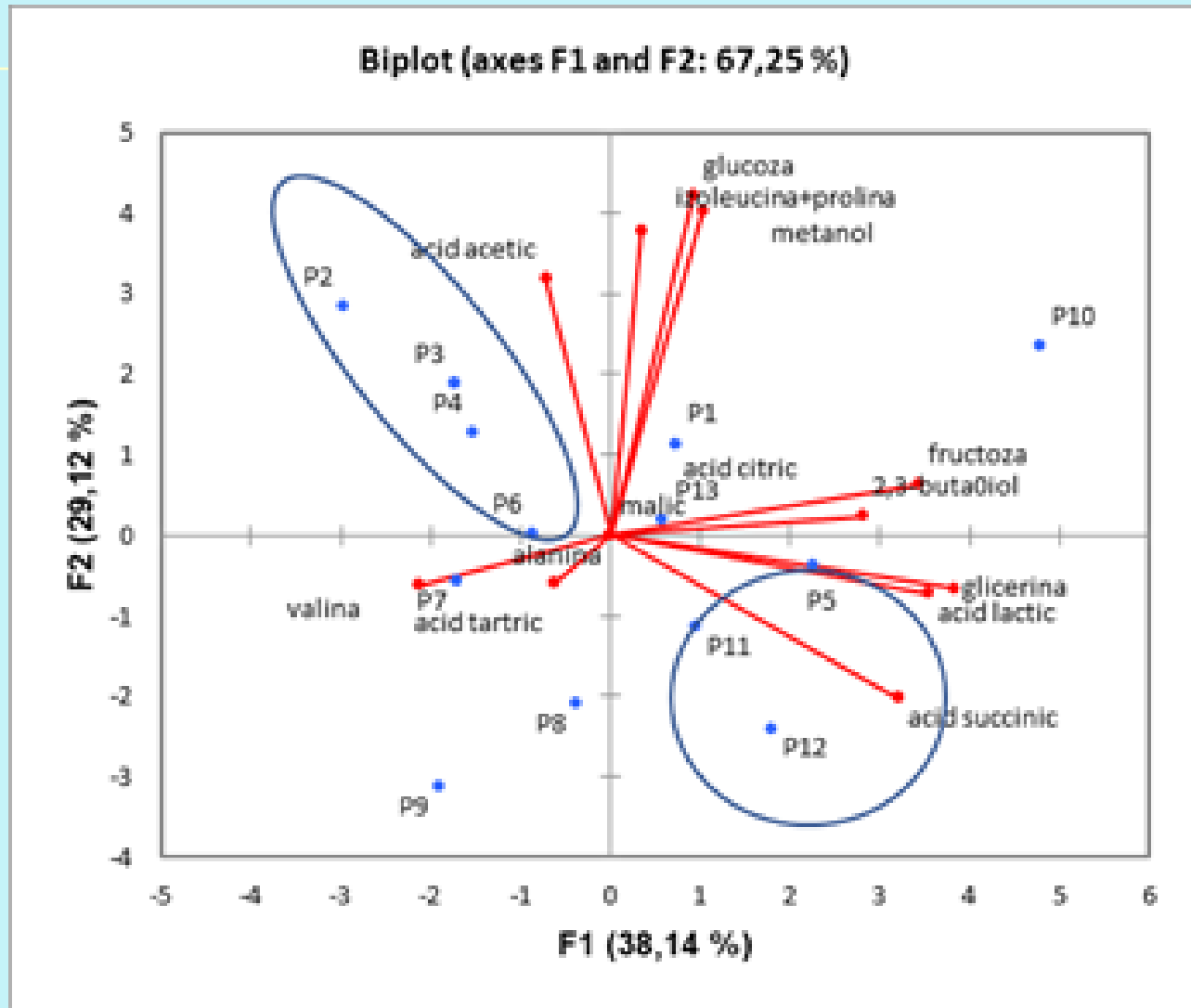
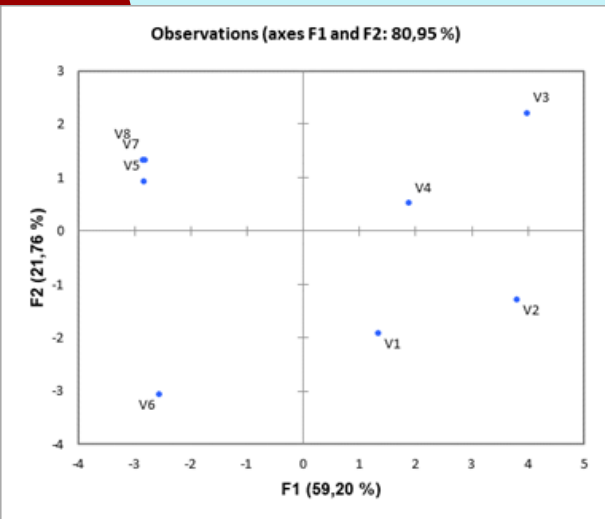


Caracteristici senzoriale și organoleptice ale vinurilor

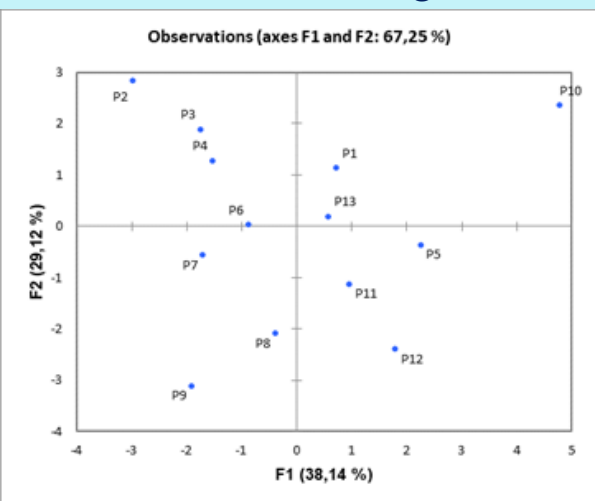
Dintre vinurile rosii s-au remarcat vinurile obtinute prin cultură dublă, care s-au remarcat prin prezenta aromelor fine de fructe de pădure, lemn dulce, vanilie și piper.

✓ Caracterizarea compozițională a vinurilor utilizând metoda RMN

Reprezentarea grafică PCA a scorurilor PC1/PC2



ICDVV Valea Călugărească



✓ Caracterizarea compozițională a vinurilor utilizând metoda RMN

- ✓ În urma analizării probelor de vin prin spectroscopie ^1H -RMN, au fost dozați 14 compuși: 2,3-butandiol, valină, acid lactic, alanină, izoleucină și prolină, acid acetic, acid succinic, acid malic, acid citric, glucoză, metanol, glicerină, fructoză și acid tartric.
- ✓ Din cei 14 compuși identificați în vinuri, 2,3-Butandiolul - $\text{CH}_3(\text{CH}-\text{OH})_2\text{CH}_3$, un alcool polihidroxilic care se formează ca isomer levogir, în calitate de produs secundar al fermentației alcoolice, pornind de la acidul piruvic se găsește în cantitate mai mare comparativ cu martorul în toate vinurile albe obținute în condiții de monocultură și cultură dublă. Acesta imprimă vinurilor nuanțe aromatice plăcute.
- ✓ De asemenea, glicerolul a cărui prezentă în vin este considerată pozitivă, deoarece poate ajuta la calmarea durității unui vin, este prezent în cantitate mai mare comparativ cu martorul, în vinurile albe obținute în condiții de dublă cultură și în toate vinurile roșii.

**CARACTERIZAREA
ANULUI DE RECOLTA SI
A MATERIEI PRIME**

AN DE RECOLTA

Climatul viticol

MATERIA PRIMA

**Greutatea medie a unui
strugure**

**Greutatea medie a 100
de boabe**

**Compozitia mustului
(zahăr, aciditate, pH)**

**Potentialul polifenolic al
strugurilor la recoltare**

VIN

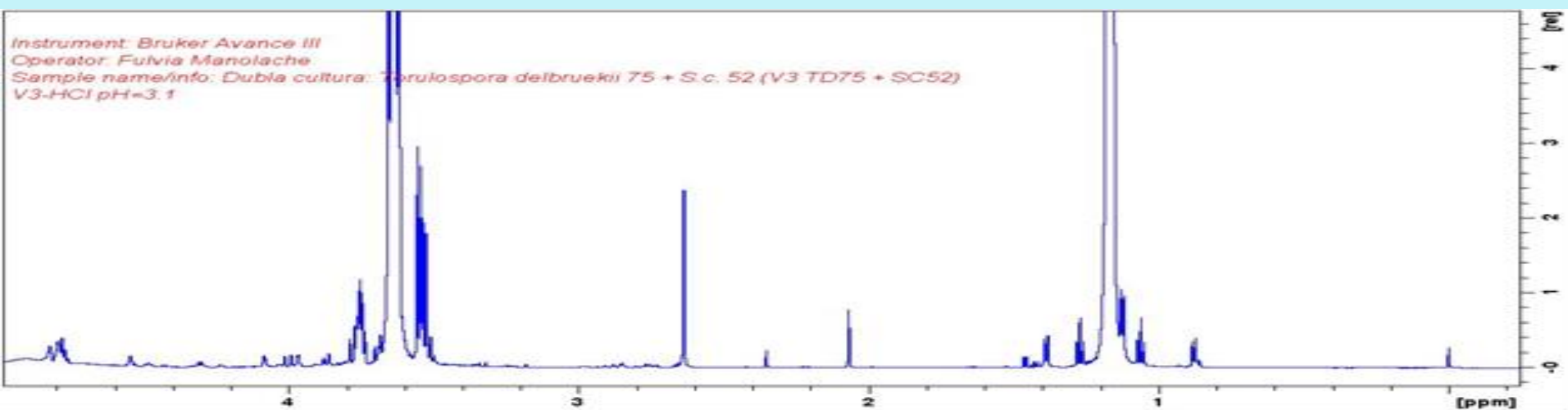
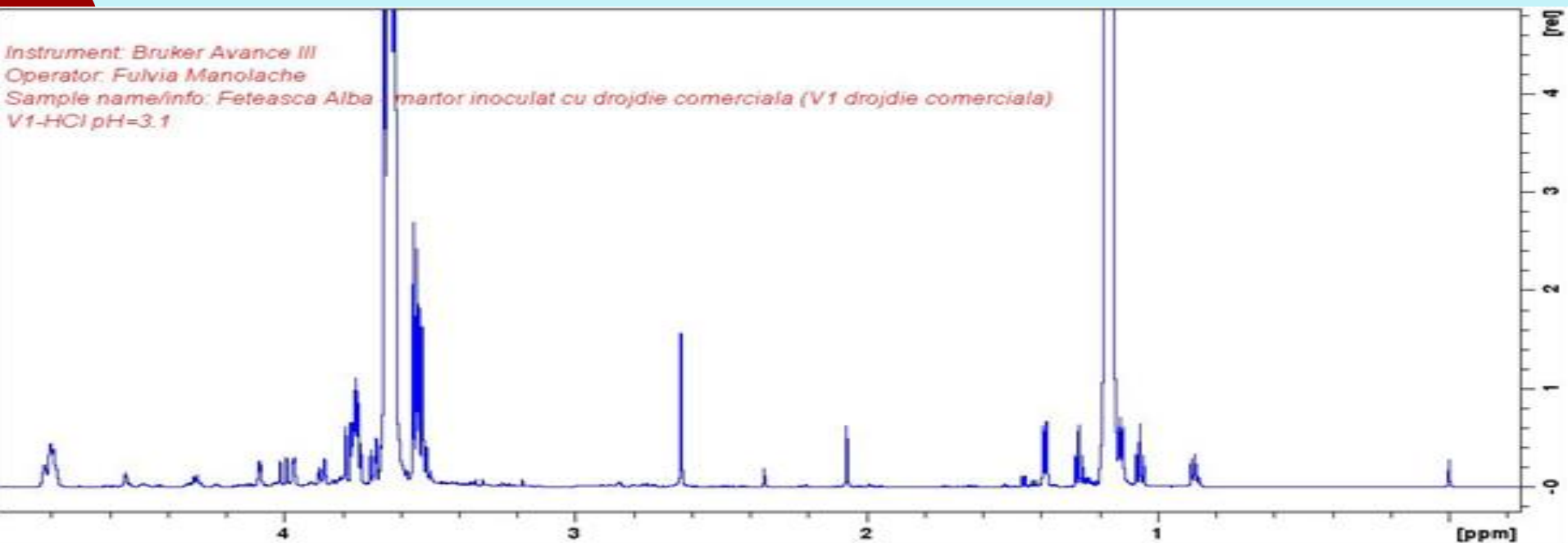
Compozitia de baza

Compozitia polifenolică

Caracteristici cromatice

STRUCTURA BAZEI DE DATE

Bază de date cu amprentele RMN ale vinurilor obținute



TEHNOLOGIE DE CULTURĂ DUBLĂ SAU SECVENTIALĂ DE DROJDII DE VINIFICATIE

ETAPELE PRINCIPALE

- **Selectarea tulpinilor de drojdii** *Saccharomyces* si non-*Saccharomyces* pe baza viabilității celulare, a proprietatilor fermentative, metabolice și din punct de vedere al activitatii enzimatic extracelulare;
- **Realizarea culturilor de drojdii simple, duble si secventiale în condiții de laborator** în funcție de profilul enzimatic si caracterele metabolice ale tulpinilor.

VALIDAREA TEHNOLOGIEI LA NIVEL DE LABORATOR

- **Realizarea culturilor de drojdii simple, duble si/sau secventiale în condiții de producție;**

VALIDAREA TEHNOLOGIEI LA NIVEL DE STATIE PILOT

CONCLUZII

➤ Activitățile propuse pentru realizarea obiectivului fazei 3/2021 „Evaluarea performanțelor tehnologice ale tulpinilor selectate la nivel de microvinificație” au fost realizate integral.

➤ În variantele experimentale au fost utilizate 10 tulpini *Saccharomyces cerevisiae*, din care 7 tulpini autohtone selectate din colecțiile de microorganisme ale unităților partenere și 4 tulpini *non-Saccharomyces*, respectiv 3 tulpini de *Torulospora delbrueckii* și o tulpină de *Candida utilis*.

➤ În urma studiilor efectuate a fost elaborată Tehnologia de cultură dublă sau secvențială de drojdii de vinificație, la care s-a atasat un exemplu privind modul de aplicare a tehnologiei.

➤ În vederea realizării obiectivului final al proiectului, se vor realiza valorificarea potențialului oenologic al tulpinilor de drojdii selectionate și diseminarea rezultatelor, prin înființarea unei colecții naționale de drojdii autohtone *Saccharomyces* și *non-Saccharomyces* și diseminarea pe scară largă a rezultatelor prin comunicarea și publicarea națională a rezultatelor, participarea la manifestări tehnico-științifice din domenii specifice proiectului (mese rotunde, simpozioane naționale/internaționale, workshopuri, mese rotunde), vizite de lucru/schimburi de bună practică.