

**PN-II-PT-PCCA-2013-4-2046**

**CONTRACT 150/2014**

**CREȘTEREA COMPETITIVITĂȚII PRODUSELOR VINI-  
VITICOLE APLICAND TEHNOLOGII DE BIOCONVERSIE -  
WINESE**

**RAPORT ȘTIINȚIFIC ȘI TEHNIC**

**ETAPA II – DECEMBRIE 2015**

**Director de proiect,**

Conf. Dr. Ing. Teodorescu Razvan

CO – USAMV Bucuresti

**Responsabili proiect:**

**Partener 1** - Pharmacorp – Dr.ing. Iuliana Diana BARBULESCU

**Partener 2** - UPB – Dr. ing. Mihaela BEGEA

**Partener 3** - Carl Reh Winery SRL - Gabriel ROCEANU

**Partener 4** - BEVITECH SRL - Liviu GRIGORICA

## Etapa II - Optimizarea parametrilor tehnologici, in scopul recuperii din vin a unor subproduse pentru a obtine bioproduse utilizate ca formule suplimente alimentare cu efect antioxidant

**Activitatea II.1** - Caracterizarea analitica a subproduselor vini-viticole selectionate (partial)

**Activitatea II.2** - Aprecierea biodiversitatii drojdiilor autohtone din agrosistemul viticol dedicat, inclusiv integrarea lor in GIS folosind tehnologii geospatale (partial)

**Activitatea II.3** - Estimarea robustetei modelului experimental de adaptare a drojdiilor selectionate la diverse forme de Se (partial)

**Activitatea II.4** - Diseminare informatii

### Obiective masurabile:

- Specificatia analitica a materiilor prime – subproduse din zona selectionata
- Drojdii selctionate si identificate
- Proiectare strategie pentru controlul potentialului de adaptare a drojdiei la Se
- Articole, comunicari stiintifice

## REZUMATUL ETAPEI

### Caracterizarea analitica a subproduselor vini-viticole selectionate (partial)

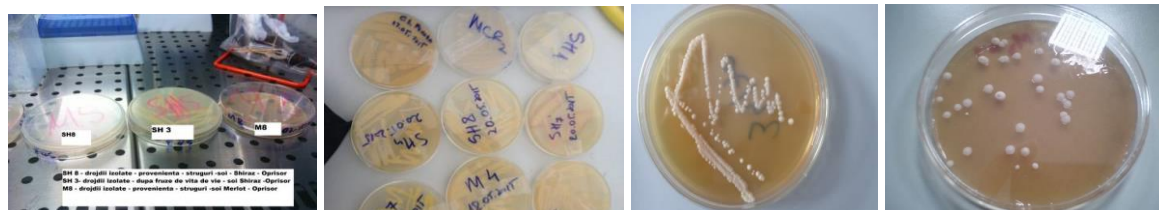
Subprodusele care au fost studiate si caracterizate in cadrul acestei etape au fost tescovina dulce (rezulta in urma presarii strugurilor pentru obtinerea mustului), urmand ca pe parcursul urmatoarei etape sa se studieze si tescovina fermentata.

Șarja	Umiditate	Substanta uscata	Proteina	Fibra bruta
Cabernet Sauvignon	67,50%	32,50%	3,47%	6,28%
Merlot	69,39%	30,61%	3,25%	6,39%
Shiraz	70,07%	29,93%	4,12%	5,82%

Drojdiile izolate anterior, in cadrul etapei 1/2014, au fost supuse identificarii si, de asemenea, a continuat si studiul izolarii.

Izolarea s-a realizat tot din microflora vinicola a podgoriei Oprisor (Mehedinti) de pe urmatoarele substraturi: struguri (recolta 2015), frunze si sol. Au fost luate in studiu numai soiuri de struguri rosii specifice arealului, respectiv Cabernet Sauvignon, Merlot si Shiraz. Tulpinile izolate din microflora prezenta pe frunze, sol si soiurile de struguri rosii au fost supuse testelor specifice, in scopul identificarii lor.

Majoritatea drojdiilor identificate s-au dovedit a fi drojdii din genul *Saccharomyces*, dar s-au inregistrat si o serie de drojdii apartinand altor genuri (precum sunt *Trichosporon*, *Candida*, *Cryptococcus*), iar o serie de rezultate au fost neconcludente.



Pe baza determinarilor efectuate, s-a constatat ca majoritatea drojdiilor izolate se includ in ordinul Saccharomycetales, cu membri apartinand urmatoarelor familii: *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia anomala*, *Hanseniaspora uvarum*, *Candida pulcherrima*.

Integrarea drojdiilor identificate in GYS a fost prezentata sub forma de poster la simpozionul ISSY 32 de la Perugia.

### Uscarea biomasei de drojdie

- ✓ Uscarea drojdiilor s-a efectuat cel mai bine din puncte de vedere recuperare produs - prin procesul de liofilizare.
- ✓ Acesta consta in doua operatii: inghetarea probelor in etape succesive si sublimarea ghetii cu ajutorul vidului inaintat.
- ✓ Drojdiile au fost turnate in cutii Petri cu diametrul de 14,7 cm si inaltimea de 1,0 cm. Acestea au fost introduse pe rafturile liofilizatorului racite in prealabil la  $-40^{\circ}\text{C}$  timp de o ora si jumătate.
- ✓ Liofilizarea s-a facut timp de 48 de ore, in 11 etape.
- ✓ Atat temperatura de pe rafturile liofilizatorului cat si cea din proba este masurata de senzori de temperatura.



La nivelul prezentei etape au fost prezentate la manifestari stiintifice internationale 3 lucrari, atat sub forma de comunicari orale, cat si sub forma de poster.

Lista lucrarilor elaborate si prezentate în această etapă, ca rezultat al contractului de cercetare PARTENERIATE 150/2014, este următoarea:

1. Mihaela Begea<sup>1</sup>, Iuliana Diana Barbulescu<sup>2</sup>, Razvan Teodorescu<sup>3</sup>, Constanta Mihai<sup>3</sup>, Liviu Gabriel Grigorică<sup>4</sup>, Gabriel Roceanu<sup>5</sup> - *Isolation of yeasts from the epiphytic microflora associated with red grapes in the area Oprisor (Romania)*.

Lucrarea a fost prezentata sub forma de poster in cadrul manifestarii The 2<sup>nd</sup> FaBE 2015 – International Conference on Food and Biosystems Engineering, care s-a desfasurat in Mykonos (Grecia). Conferinta propriu-zisa a avut loc in perioada 28 – 31 mai (<http://www.fabe.gr/index.php>) si a fost organizata de Technological Educational Intitute (TEI) of Thessaloniki - Larissa, Grecia.

Mentionez ca in plus fata de participarea cu o lucrare, in cadrul conferintei Mihaela Begea, Iuliana Diana Barbulescu si Razvan Teodorescu au avut si calitatea de membri in comitetul stiintific, iar Mihaela Begea si pe aceea de chair al uneia dintre sesiunile conferintei (in data de 30.05).

2. Mihaela Begea<sup>1</sup>, Gigel Paraschiv<sup>1</sup>, Răzvan Teodorescu<sup>2</sup>, Iuliana Diana Bărbulescu<sup>3</sup>, Liviu Grigorică<sup>4</sup>, Radu Tamaian<sup>5,6</sup> - *Isolation of yeasts with potential of utilization in food biotechnologies*.

Lucrarea a fost prezentata oral in cadrul European Biotechnology Congress, care s-a desfasurat in Bucuresti in 7 – 9 mai 2015 (<http://eurobiotech2015.eu/?p=sprogram>).

Mihaela Begea a avut si calitatea de invited speaker.

Rezumatul lucrarii a aparut in Journal of Biotechnology 208/2015, revista cotata in ISI Web of Knowledge (IF = 2.871)

## Isolation of yeasts with potential of utilization in food biotechnologies



Mihaela Begea<sup>1,\*</sup>, Gigel Paraschiv<sup>1</sup>, Razvan Teodorescu<sup>2</sup>, Iuliana Diana Barbulescu<sup>3</sup>, Liviu Grigorică<sup>4</sup>, Radu Tamaian<sup>5</sup>, Radu Tamaian<sup>6</sup>

<sup>1</sup> University Politehnica of Bucharest, Bucharest, Romania

<sup>2</sup> University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine Bucharest, Romania

<sup>3</sup> Pharmacorp Innovation SRL, Bucharest, Romania

<sup>4</sup> Bevitech SRL, Bucharest, Romania

<sup>5</sup> National Institute for Research and Development for Cryogenic and Isotopic Technologies, Râmnicu Vâlcea, Romania

<sup>6</sup> University of Bucharest, Faculty of Physics,

3Nano-SAE Research Centre, Bucharest-Măgurele, Romania

E-mail address: [ela.begea@yahoo.com](mailto:ela.begea@yahoo.com) (M. Begea).

The wine production is currently based on the use of commercial yeasts leading to the reduction of indigenous biodiversity and wine producers use on the large scale selected yeasts to obtain wines with a constant quality.

There is an increasing interest in the wine industry to use both *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts in order to enhance the authenticity of wines in line with the concept of "terroir". The most appropriate yeasts used in the wine industry that show off

the sensorial characteristics of a certain region are those selected from the same region as the wine is produced.

A pilot study was performed to evaluate the indigenous yeast strains associated to red grapes from the VQPRD zone Opreșor (Mehedinți County, Romania).

Identification of yeast isolates was conducted based on MALDI-TOF mass spectrometry. Comparing the "molecular fingerprints" of isolates with the database of MALDI Biotyper software, we found species from Saccharomycetales (*Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia anomala*, *Hanseniaspora uvarum*).

The microbiological characterisation of isolated yeasts will be followed by the biotechnological assessment and the selection of strains having the most valuable fermentation features.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.06.013>

3. Bărbulescu Iuliana Diana<sup>1</sup>, Mihai Doru<sup>2</sup>, Begea Mihaela<sup>3</sup>, Mudura Radu<sup>2</sup>, Teodorescu Răzvan<sup>2</sup>, Mihai Constanța<sup>2</sup>, Grigorică Liviu<sup>4</sup>, Roceanu Gabriel<sup>5</sup>, Marinescu Simona-Ioana<sup>1</sup>, Tamaian Radu<sup>6,7</sup> - *A Case Study – Yeasts Identification in Order to Implement Terroir and Vineyard Management at Opreșor Winery Using the GIS Technology and a Proteomic Approach.*

Lucrarea a fost prezentata sub forma de poster la ISSY 32 - INTERNATIONAL SPECIALIZED SYMPOSIUM on Yeasts. Yeasts Biodiversity and Biotechnology in the Twenty-First Century. Perugia (Italy), in cadrul Session 2A: Yeasts in food biotechnology: biodiversity and ecology in foods and beverages, <http://www.issy32.com/wp-content/uploads/2015/06/posters-board-numbers-with-sessions.pdf>, care s-a desfasurat la Perugia in 13 – 17 septembrie mai 2015.



## Concluzii

- 2014 a fost un an foarte dificil din punct de vedere oenologic (temperaturi scazute, ploii foarte dese, la intervale de cca. 3 zile, incepand din luna iulie si pana la finalul anului);
- Analizele noastre au aratat un numar mare de drojdii non-*Saccharomyces* in microflora epifita;
- Existenta acestei microflore a fost demonstrata empiric in mai multe zone din tara, unde fermentatiile spontane nu au reusit fermentarea completa a zaharurilor, majoritatea solicitand drojdii selectate pentru refermentare;
- Exista posibilitatea ca in anii defavorabili sa nu existe microflora necesara ca specii si ca numar de populatie, astfel incat sa fie suficienta pentru pornirea si realizarea unei fermentatii optime;
- Din studiile realizate reiese necesitatea utilizarii in vinificatie a culturilor de drojdii selectate, sub forma de drojdii uscate active pentru a definitiva fermentatia alcoolica si a conduce vinurile pana la sec;
- Varietatea larga a microflorei selectate in timpul studiului a demonstrat necesitatea studierii si selectarii acelor suse care pot genera tipicitatea zonei, chiar daca va fi necesara utilizarea unor levuri selectate pentru terminarea fermentatiei alcoolice;
- Selectionarea tulpinilor de drojdii din arealul specific, pentru asigurarea caracteristicilor de "terroir" necesare pentru obtinerea unui vin de calitate, tb facuta in mod stiintific, utilizand tehnicile de ultima actualitate disponibile, care implica expertiza inalta si acces la echipamente de ultima generatie, care permit o abordare mult mai selectiva dpdv calitativ a microflorei epifite studiate pana in prez la nivel empiric;
- Efectul temperaturii de cultivare asupra dezvoltarii biomasei este optim la 30<sup>0</sup>C;
- Din datele prezentate se observă că o dezvoltare mai bună a biomasei de drojdie a fost cu o cultura inocul lichid ca sursa de inoculare si nu cu sursa de preinocul (cultura solida);
- Uscarea biomasei umede de drojdii s-a efectuat foarte bine, fara pierderi, prin procesul de liofilizare.