

UNIVERSITATEA DUNAREA DE JOS DIN GALATI

FACULTATEA DE STIINTA ȘI INGINERIA ALIMENTELOR



# Teza de doctorat

BIOTEHNOLOGII MODERNE DE OBȚINERE A VINURILOR  
ALBE AROMATE ÎN PODGORIA MURFATLAR

Conducător științific: Prof. dr. ing. Traian Hopulele

Doctorand: ing. Nicolae Laurențiu ITU

Galați

2011

# Mulțumiri

Studiul privind obtinerea vinurilor albe aromate de calitate, din struguri soiul Muscat Ottonel, in podgoria Murfatlar a demarat sub conducerea de înaltă competență și probitate profesională a regretatului profesor dr. ing. Mircea Bulancea. Recunoștința mea se îndreaptă spre memoria distinsului profesor care ne-a părăsit atât de repede.

În ultima perioada, conducerea știintifică a studiului inițiat în anul 2006 a fost preluată de către domnul profesor dr. ing. Traian Hopulele. Experiența și competența de mare valoare știintifică și didactică a domnului profesor dr. ing. Hopulele m-au ajutat să continui studiul și să-l finalizez. Adresez pe această cale, sincere mulțumiri pentru sprijinul primit și pentru coordonarea în elaborarea lucrării.

De asemenea, multumesc d-nei conf. dr. ing. Gabriela Rapeanu pentru recomandarile pertinente și strădania manifestată în îndrumarea mea pe perioada efectuării studiului și ulterior a definitivării lucrării. Competența profesională a domniei sale fiindu-mi de mare ajutor.

Totodată adresez pe aceasta cale mulțumiri tuturor cadrelor didactice care își desfășoara activitatea la Catedra de Biotehnologii în Industria Alimentara de la Facultatea de Știința și Ingineria Alimentelor care m-au sprijinit în elaborarea prezentei lucrări.

Multe mulțumiri colectivului de cercetători de la Institutul National de Cercetare-Dezvoltare pentru Tehnologii Criogenice si Izotopice-INC-DTCI ICSI Rm.Valcea, care m-au ajutat la identificarea si dozarea substantelor de aroma și să înțeleg ce înseamnă rigurozitatea știintifică necesară în abordarea studiilor știintifice.

Nu pot încheia, fără a adresa sincere mulțumiri colectivului și conducerii societății în care îmi desfășor activitatea, locul unde am efectuat studiul, beneficiind de unele dintre cele mai bune conditii tehnice și materiale pentru realizarea acestui studiu complex.

Tot pe această cale adresez mulțumiri familiei mele și tuturor celor care direct, sau indirect m-au sprijinit în efectuarea și finalizarea studiului.

Ing. Nicolae Laurențiu ITU

<b>I. Obiectivele științifice ale tezei de doctorat</b> .....	VII
<b>II. Studiu documentar</b>	
<b>1. Considerații generale privind obținerea vinurilor aromate de calitate</b> .....	1
1.1. Fluxul tehnologic general la obținerea vinurilor aromate .....	1
1.2. Considerații generale privind macerarea.....	3
1.2.1. Rolul macerării .....	3
1.2.2. Principiile macerării.....	5
1.2.3. Principalii factori externi ce influențează macerarea în tehnologia de obținere a vinurilor aromate.....	6
1.3. Considerații privind utilizarea unor tehnologii de macerare la obținerea vinurilor aromate de calitate .....	7
1.3.1. Tehnologia de producere a vinurilor aromate prin macerare pe boștină .....	7
1.3.2. Tehnologia de producere a vinurilor aromate prin criomacerare .....	9
1.3.3. Tehnologia de producere a vinurilor aromate prin macerare cu preparate enzimatice .....	10
1.3.4. Tehnologia de producere a vinurilor aromate prin macerare cu microunde.....	12
1.3.5. Tehnologia de producere a vinurilor aromate prin macerare cu ultrasunete.....	13
<b>2. Utilizarea preparatelor enzimatice în oenologie</b> .....	14
2.1. Istoricul preparatelor enzimatice comerciale.....	14
2.2. Utilizarea preparatelor enzimatice în tehnologia de obținere a vinurilor albe.....	15
2.2.1. Preparate enzimatice utilizate pentru macerarea și extragerea mustului .....	16
2.2.2. Preparate enzimatice utilizate pentru limpezirea mustului.....	19
2.2.3. Preparate enzimatice utilizate pentru îmbunătățirea tipicității de soi (aromei) vinurilor .....	22
2.2.4. Preparate enzimatice utilizate pentru limpezirea vinurilor.....	29
2.3. Activitatea cinamil esterazică a preparatelor enzimatice .....	34
<b>3. Rolul fermentației alcoolice asupra aromei și buchetului vinului</b> .....	36
3.1. Aspecte generale .....	36
3.2. Rolul drojdiilor în formarea și evoluția aromei vinului .....	38
3.3. Influența drojdiilor asupra aromei vinului.....	40
3.3.1. Acizii.....	41
3.3.2. Alcoolii .....	43
3.3.3. Compușii carbonil .....	45
3.3.4. Fenolii volatili.....	46
3.3.5. Esterii.....	47
3.3.6. Compuși ai sulfului.....	48
3.3.7. Alcoolii de fuzel cu sulf .....	52
3.3.8. Tiolii.....	52
3.3.9. Monoterpenele .....	53
<b>III. Rezultate experimentale</b>	
<b>4. Evoluția indicilor fizico-chimici și a conținutului în terpeni liberi și legați în timpul maturării strugurilor</b> .....	56
4.1. Oportunitatea studiului.....	56
4.2. Materiale și metode de analiză .....	57
4.3. Rezultate și discuții .....	60
4.3.1. Evoluția indicilor fizico-chimici în timpul maturării strugurilor .....	60
4.3.2. Evoluția conținutului în terpeni liberi și legați în timpul maturării strugurilor.....	63
4.3.3. Productivitatea soiului Muscat Ottonel în perioada 2007-2010 .....	65
4.4. Concluzii parțiale.....	66
<b>5. Studii privind utilizarea preparatelor enzimatice la prepararea vinurilor aromate de calitate</b> 67	
<b>5.1. Studiu privind utilizarea enzimelor de macerare la elaborarea vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel</b> .....	67
5.1.1. Oportunitatea studiului .....	67
5.1.2. Materiale și metode .....	67
5.1.3. Rezultate și discuții .....	91
5.1.3.1. Efectul enzimelor de macerare asupra conținutului în compuși implicați în aroma vinurilor .....	91
5.1.3.2. Efectul enzimelor de macerare asupra extracției mustului și randamentului în must.....	93
5.1.3.3. Efectul enzimelor de macerare asupra limpezirii mustului .....	94

5.1.3.4. Efectul enzimelor de macerare asupra filtrabilității mustului .....	97
5.1.3.5. Efectul enzimelor de macerare asupra dinamicii fermentației alcoolice .....	97
5.1.3.6. Efectul enzimelor de macerare asupra calității vinurilor .....	99
5.1.4. Concluzii parțiale .....	103
<b>5.2. Studiu privind utilizarea enzimelor <math>\beta</math>-glucozidazice la elaborarea vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel</b> .....	105
5.2.1. Oportunitatea studiului .....	105
5.2.2. Materiale și metode .....	106
5.2.3. Rezultate și discuții .....	107
5.2.4. Concluzii parțiale .....	112
<b>5.3. Dinamica procesului de limpezire a mustului sub acțiunea preparatelor enzimatic</b> .....	113
5.3.1. Oportunitatea studiului .....	113
5.3.2. Materiale și metode .....	113
5.3.3. Rezultate și discuții .....	114
5.3.3.1. Dinamica proceselor de sedimentare și limpezire a mustului sub acțiunea enzimelor de macerare.....	114
5.3.3.2. Dinamica proceselor de sedimentare și limpezire a mustului sub acțiunea enzimelor de limpezire.....	118
5.3.3.3. Influența modului de utilizare a enzimelor asupra limpezirii mustului.....	119
5.3.3.4. Influența dozelor de enzime asupra dinamicii limpezirii mustului .....	121
5.3.4. Concluzii parțiale.....	122
<b>6. Studii privind utilizarea tulpinilor de drojdii selecționate la elaborarea vinurilor albe aromate de calitate</b>	
<b>6.1. Studiu privind comportamentul drojdiilor selecționate și a celor din microflora epifită în condiții aerobe de cultivare</b> .....	124
6.1.1. Oportunitatea studiului .....	124
6.1.2. Materiale și metode .....	124
6.1.3. Rezultate și discuții .....	128
6.1.4. Concluzii parțiale .....	133
<b>6.2. Studiu privind alegerea tulpinii de drojdie selecționată dotată cu o activitate enzimatică <math>\beta</math>-glucozidazică în vederea elaborării vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel</b> .....	134
6.2.1. Oportunitatea studiului .....	134
6.2.2. Materiale și metode .....	134
6.2.3. Rezultate și discuții .....	137
6.2.3.1. Determinarea activității $\beta$ -glucozidazice a drojdiilor .....	137
6.2.3.2. Evaluarea impactului tulpinii de drojdie asupra hidrolizei glucozei-glicozilate G-G .....	139
6.2.4. Concluzii parțiale .....	140
<b>6.3. Sinergia dintre culturile de drojdii selecționate și preparatele enzimatic</b> <b>cu activitate <math>\beta</math>-glucozidazică folosite la obținerea vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel.</b> .....	141
6.3.1. Oportunitatea studiului .....	141
6.3.2. Materiale și metode .....	142
6.3.3. Rezultate și discuții .....	143
6.3.3.1. Efectul sinergic al tulpinii de drojdie și preparatului enzimatic cu activitate enzimatică $\beta$ glucozidazică asupra aromei vinului.....	143
6.3.3.2. Efectul tulpinilor de drojdie asupra dinamicii fermentației alcoolice.....	145
6.3.3.3. Efectul tulpinilor de drojdie asupra calității vinurilor .....	146
6.3.4. Concluzii parțiale.....	149
<b>7. Studii privind utilizarea diferitelor echipamente la obținerea vinurilor albe aromate de calitate</b> .....	151
<b>7.1. Influența operației de macerare asupra calității vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel.</b> .....	151
7.1.1. Oportunitatea studiului .....	151
7.1.2. Materiale și metode .....	151
7.1.3. Rezultate și discuții .....	158
7.1.3.1. Efectul temperaturii de macerare asupra extracției terpenelor din piețile strugurilor... ..	158
7.1.3.2. Efectul duratei de macerare asupra extracției terpenelor din piețile strugurilor.....	159
7.1.3.3. Efectul utilajului de macerare asupra extracției terpenelor din piețile strugurilor.....	161
7.1.3.4. Efectul temperaturii, duratei și a utilajelor folosite la macerare asupra calității vinurilor .....	162
7.1.3.5. Prelucrarea statistică a datelor .....	167

7.1.4. Concluzii parțiale .....	172
<b>7.2. Influența operației de presare asupra calității vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel .....</b>	<b>174</b>
7.2.1. Oportunitatea studiului .....	174
7.2.2. Materiale și metode .....	175
7.2.3. Rezultate și discuții .....	178
7.2.4. Concluzii parțiale.....	183
<b>8. Concluzii finale .....</b>	<b>184</b>
<b>9. Contribuții și perspective de continuare a cercetărilor.....</b>	<b>187</b>
<b>10. Concretizarea cercetărilor efectuate .....</b>	<b>189</b>
<b>11. Bibliografie .....</b>	<b>191</b>
<b>12. Anexe .....</b>	<b>206</b>

### ***Structura tezei de doctorat***

Teza de doctorat cuprinde 215 pagini, din care partea de documentare 55 pagini și partea experimentală 160 pagini, 85 de figuri și 29 de tabele. Bibliografia conține 226 titluri din care 161 după anul 2000. Rezumatul tezei de doctorat tratează sintetic: obiectivele științifice ale tezei, materiale și metode de analiză, rezultate experimentale, concluzii finale, contribuții și perspective de continuare a cercetărilor și bibliografia selectivă.

## I. OBIECTIVELE ȘTIINȚIFICE ALE TEZEI

Vinurile albe aromate de calitate sunt vinurile care se obțin din struguri albi aromați și prezintă caracteristici senzoriale deosebite față de celelalte vinuri. Diferențierea esențială a acestei tehnologii este faptul că mustul nu este separat rapid de părțile solide, ci este menținut un timp definit în contact cu acestea, în vederea extragerii substanțelor odorante (a aromelor primare) localizate în părțile solide ale bobului și mai ales în pielită. Pentru aceasta, tehnologia prevede o operație obligatorie numită macerarea pe boștină.

O atenție deosebită trebuie acordată acestei operații de macerare, dorindu-se intensificarea acestui proces, fapt ce conduce la îmbogățirea mai rapidă a mustului în compuși aparținând fazei solide. Se creează astfel condiții ca fermentația alcoolică să se declanșeze ulterior și să se desfășoare cu o intensitate mai scăzută. Separarea aproape în totalitate a celor două procese de macerare și fermentare creează posibilitatea evitării extracției în exces de compuși fenolici, îndeosebi de substanțe taninoase. Aceste câteva considerații prezentate evidențiază oportunitatea și importanța studiului legat de producerea vinurilor albe aromate de calitate la parametri calitativi superiori.

Studiul a fost întreprins în perioada 2006-2011, și a avut ca obiectiv principal utilizarea biotehnologiilor moderne de obținere a vinurilor albe aromate în podgoria Murfatlar. În contextul cercetărilor actuale, teza de doctorat își propune următoarele obiective științifice specifice:

1. Evoluția caracteristicilor fizico-chimice și a conținutului în terpeni liberi și legați a strugurilor din soiul Muscat Ottonel din podgoria Murfatlar în perioada 2007-2010;
2. Studiu privind utilizarea enzimelor de macerare în elaborarea vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel;
3. Studiu privind utilizarea enzimelor cu activitate  $\beta$ -glucozidazică la elaborarea vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel;
4. Evaluarea dinamicii procesului de limpezire a mustului sub acțiunea preparatelor enzimatice;
5. Evaluare comportamentul drojdiilor selecționate și a celor din microflora epifită în condiții aerobe de cultivare;
6. Selecția tulpinii de drojdie dotată cu activitate enzimatică  $\beta$  glucozidazică în vederea elaborării vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel;
7. Cuantificarea sinergiei dintre culturile de drojzii selecționate și preparatele enzimatice cu activitate  $\beta$  glucozidazică;
8. Influența operației de macerare asupra calității vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel;
9. Influența operației de presare asupra calității vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel.

## III. REZULTATE EXPERIMENTALE

### CAPITOLUL 4. EVOLUȚIA INDICILOR FIZICO-CHIMICI ȘI A CONȚINUTULUI ÎN TERPENE LIBERE ȘI LEGATE ÎN TIMPUL MATURĂRII STRUGURILOR

**4.1. Oportunitatea studiului.** Prin determinarea corectă a momentului maturității depline a strugurilor și în general a maturității tehnologice a acestora se stabilește momentul optim al culesului strugurilor în funcție de gradul de coacere care reprezintă un factor important al tipicității și calității vinurilor ulterior obținute.

Maturitate tehnologică a strugurilor este exprimată printr-o anumită compoziție chimică a strugurilor, care să asigure obținerea unui anumit tip de vin: vin de masă, de calitate superioară, licoros etc. Maturitatea deplină este un caz particular al maturității tehnologice și este redată de valorile următorilor indici: creșterea maximă a boabelor corelată în conținutul maxim de zahăr și cu o valoare relativ constantă a acidității strugurilor. În funcție de soi și de condițiile pedoclimatice, maturitatea deplină a strugurilor poate asigura fie obținerea vinurilor de masă, fie a vinurilor de calitate superioară cu denumire de origine.

Dinamica coacerii se urmărește prin determinarea din timp în timp, după intrarea strugurilor în faza de pârghă, a unor indici precum: masa a 100 de boabe, conținutul în glucide și conținutul în aciditate. La soiurile de struguri aromate este necesară de asemenea și cunoașterea acumulării substanțelor de aromă.

Scopul cercetărilor întreprinse a fost de a studia evoluția indicilor fizico-chimici precum și a conținutului în terpeni liberi și legați în timpul maturării strugurilor din soiul Muscat Ottonel, din podgoria Murfatlar în perioada 2007-2010.

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

**Strugurii materie primă.** Experimentările s-au efectuat pe soiul Muscat Ottonel din podgoria Murfatlar, în perioada 2007-2010.

**Prelevarea boabelor de struguri.** Înaintea începerii determinărilor se procedează la alegerea întâmplătoare, însă uniformă, a 250 butuci de viță din plantația studiată, care se marchează cu vopsea sau lapte de var. Cele

250 de boabe se recoltează de pe cei 250 de butuci aleși, la întâmplare, variind expoziția și poziția strugurilor pe butuc. Se va proceda în același mod de fiecare dată când se recoltează proba medie de boabe.

#### **Materiale și ustensile necesare**

250 de boabe prelevate astfel să reprezinte media compoziției strugurilor din plantație; presă de laborator; balanță tehnică; foarfece; refractometru portabil Zeiss; cilindru gradat de 250 cm<sup>3</sup>; hidroxid de sodiu 0,1 n; roșu de fenol, soluție 0,02%.

#### **Mod de lucru**

Cele 250 de boabe se cântăresc la balanța tehnică și se calculează masa a 100 de boabe. În continuare se zdrobesc și se presează la o presă de laborator. Sucul se lasă să se limpezească 1-2 ore după care i se determină conținutul în glucide cu refractometrul și aciditatea prin titrare cu NaOH n/10 în prezența roșului de fenol ca indicator. Determinările încep să se execute în jurul datei de 10 august și se continuă din 5 în 5 zile.

#### **Determinarea conținutului în polifenoli totali**

*Principiul metodei:* metoda se bazează pe folosirea reactivului Folin Ciocâlțeu (Singleton și Rossi, 1965). În mediu bazic și în prezența fenolilor amestecul de acizi fosfotungistic (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) și fosfomolibdenic (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) este redus la oxizi albaștri de fungisten (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) și molibden (Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>). Această colorație albastră prezintă un maxim de absorbție la 750 nm.

Colorația este proporțională cu conținutul de compuși fenolici totali. Reacția se produce în mediu alcalin, intensitatea colorantă albastră obținută este în funcție de cantitatea de fenoli din mediu.

*Modul de lucru:* într-un balon cotat de 100 ml se introduc: 5 ml reactiv Folin Ciocâlțeu, 1 ml must, 20 ml soluție Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%. Se aduce la semn cu apă distilată, se agită energic conținutul balonului și se lasă în repaus timp de 45-60 minute. Ulterior se citește densitatea optică la 750 nm, folosind o cuvă cu traiecul optic de 1 cm, față de un martor preparat cu apă distilată (fig. 4.1).

Pentru curba de etalonare se folosește o soluție de acid galic în concentrațiile de: 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0. Datele obținute se reprezintă grafic: pe abscisă concentrația soluțiilor de acid galic, iar pe ordonată densitățile optice corespunzătoare fiecărei soluții. Unind punctele corespunzătoare fiecărei perechi de date, se obține curba etalon (fig. 4.2).



Figura 4.1. Spectrofotometru UV VIS 570 JASCO

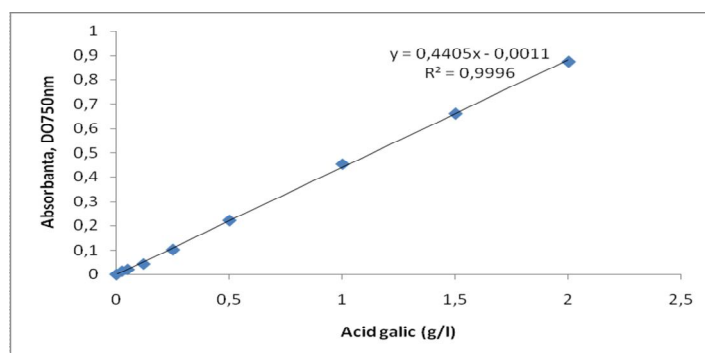


Figura 4.2. Curba etalon pentru determinarea conținutului total de polifenoli

#### **Determinarea terpenelor libere și legate**

Metoda de determinare a fost cea dezvoltată de Dimitriadis și Williams (1984) și îmbunătățită de Doneva-Șapceska și colab., 2006. Struguri proaspeți au fost congelați imediat după ce au fost culeși. Înainte de analiză, strugurii au fost decongelați, desciorcinați, iar boabele au fost zdrobite și omogenizate într-un blender, după care omogenatul a fost filtrat printr-un tifon, separându-se cele două fracțiuni: suc și părțile solide.

pH-ul sucului de struguri obținut a fost ajustat la pH = 6,6 – 6,8 înainte de distilare prin adăugarea de soluție de NaOH de concentrație 20 % (w/v). Pulpa a fost omogenizată în aproximativ 200 ml de tampon fosfat (pH = 7,0), saturat cu NaCl, și se lasă în repaus timp de 72 de ore la 4 °C într-un frigider. Extractul obținut a fost apoi filtrat, și, înainte de analiză, ajustat la pH = 6,6 – 6,8 cu soluție de NaOH de concentrație 20 % (w/v).

*Separarea monoterpenelor.* Un eșantion de 100 ml suc de struguri neutralizat a fost distilat în distilatorul automat Raypa ENODEST (fig. 4.3) până la un volum de 25 ml de distilat. Acest distilat a fost utilizat pentru determinarea conținutului în terpene libere. Fără a se întrerupe distilarea în balonul de distilare suc a fost acidificat cu 5 ml de soluție H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> de concentrație 20% (v/v), după care se continuă distilarea până se colectează alt volum de 40 ml. Acest volum de distilat conține terpenele ce provin din polioli sau din formele legate glicozidic. Un volum de distilat de 10 ml este pipetat într-un tub Pyrex după care se adaugă un volum de 5 ml soluție de reactiv vanilină H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de concentrație 2%. Probele se agită timp de 10 min într-o baie cu gheață, după care se încălzesc în altă baie de apă la 60°C timp de 20 de minute. În paralel se realizează o probă martor cu apă distilată în loc de distilat.



Figura 4.3. Distilator automat ENODEST

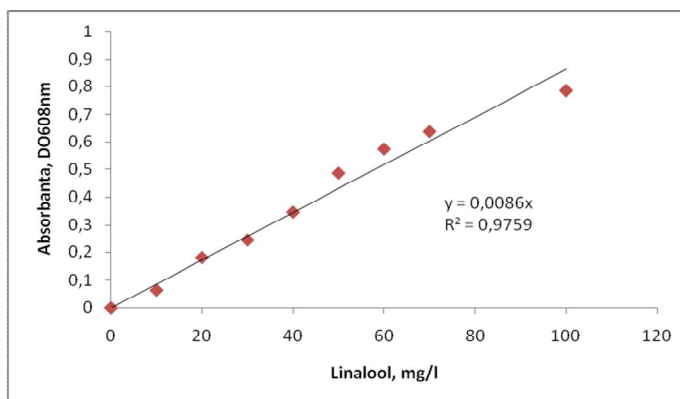


Figura 4.4. Curba etalon pentru determinarea conținutului de terpeni liberi și legați

După cele 20 de minute la 60 °C, tuburile se răcesc la 25 °C timp de 5 min., după care se citește densitatea optică la 608 nm folosind cuva de 1 cm. Distilatele obținute în prezența reactivului vanilin sulfuric formează un complex de culoare albastru verzui proporțional cu conținutul de terpeni din distilat. Conținutul de terpeni liberi se calculează cu ajutorul curbei standard obținută prin utilizarea soluției standard de linalool de concentrație 0-100 mg/l (fig. 4.4).

#### 4.3. Rezultate și discuții

##### 4.3.1. Evoluția indicilor fizico-chimici în timpul maturării strugurilor

Condițiile pedoclimatice din toamna anului 2009 au dus la o contaminare scăzută cu mușcagii cenușiu favorabil pentru realizarea unor vinuri de calitate superioară.

În perioada de vegetație (01.04 - 30.09.2010) precipitațiile căzute în podgoria "Murfatlar" au determinat o coacere forțată a strugurilor, iar maturitatea deplină a fost atinsă în perioada 30.08.2010.

Pentru soiul de struguri *Muscat Ottonel* maturitatea deplină a fost atinsă pe 05.09. 2009 la un conținut în zahăr de 183 g/l, nivel de aciditate 6,30 g/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, masa a 100 de boabe 170 g. Recoltarea strugurilor a coincis cu maturitatea tehnologică care s-a realizat în perioada 20-30.09.2008.

Soiul de struguri *Muscat Ottonel* la recoltare (30.09.2009) a înregistrat un conținut în zahăr de 236 g/l, aciditate 4,30 g/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, masa a 100 de boabe 161 g.

La recoltare în perioada 2007-2010, strugurii au prezentat un conținut în glucide cuprins între 198-236 g/l, cea mai mare valoare fiind atinsă în anul 2009 (fig. 4.5). Așa cum se observă în fig. 4.5 acumularea glucidelor s-a realizat treptat în timpul maturării strugurilor. Această evoluție a conținutului în glucide a fost observată și de alți cercetători precum (Esteban și colab., 1999, Bergqvist și colab., 2001; Arozarena și colab., 2002).

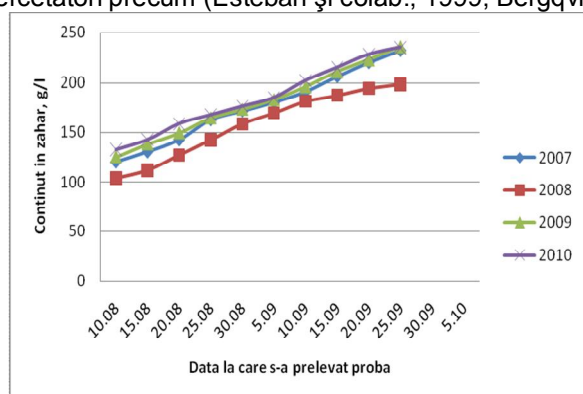


Figura 4.5. Evoluția conținutului de zahăr în timpul maturării strugurilor din soiul *Muscat Ottonel* în perioada 2007-2010, podgoria Murfatlar

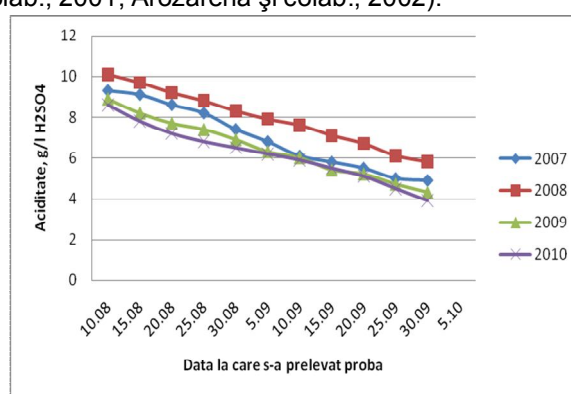


Figura 4.6. Evoluția acidității în timpul maturării strugurilor din soiul *Muscat Ottonel* în perioada 2007-2010, podgoria Murfatlar

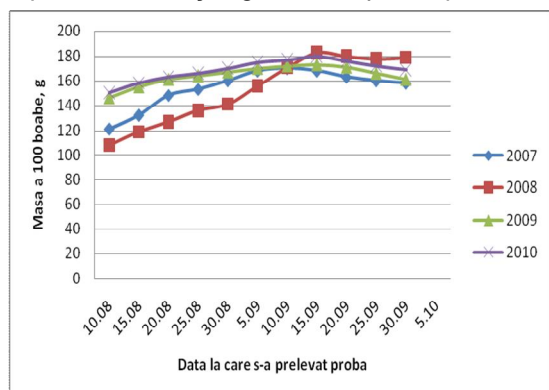
Aciditatea strugurilor la recoltare a fost cuprinsă între 3,9-5,8 g/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Valoarea cea mai redusă a acidității s-a înregistrat în anul 2010, iar cea mai mare valoare a fost obținută în anul 2008 (fig. 4.6).

Aciditatea strugurilor depinde de soiul de struguri, de sol, cât și de condițiile climatice, iar valoarea sa este corelată direct cu gradul de coacere a strugurilor (Andrades și colab., 1995). Scăderea acidității în timpul maturării se datorează proceselor de ardere ce au loc cât și datorită fenomenelor de diluare. Unii cercetători au



observat că degradarea suferită de unele forme acide din struguri se datorează în primul rând temperaturii (Calo și colab., 1997).

Parametrul masa a 100 de boabe a prezentat o evoluție ascendentă până în momentul maturității depline a strugurilor, iar între maturitatea deplină și nivelul maturității tehnologice a strugurilor, indicele masa a 100 de boabe a scăzut gradual. Aceste rezultate sunt în conformitate cu Esteban și colab., 2001, 2002, care indică faptul că valoarea mare a masei a 100 boabe este direct corelată cu capacitatea boabelor de struguri de a absorbi apa și este o caracteristică a ficării soi în parte. Dimensiunile boabelor de struguri vor afecta extracția de terpenoluri libere și legate în vin prin impactul său asupra proporțiilor de pielite și suc celular.



**Figura 4.7.** Evoluția masei a 100 boabe în timpul maturării strugurilor din soiul Muscat Ottonel în perioada 2007-2010, podgoria Murfatlar

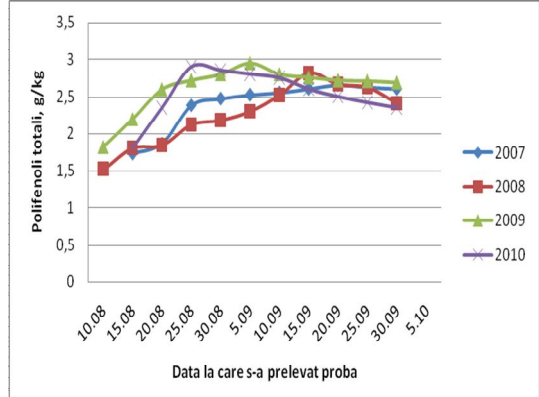
Variația greutății a 100 de boabe este prezentată în figura 4.7. În perioada culesului masa a 100 de boabe a variat între 158 g -179 g, cea mai mică valoare înregistrându-se în anul 2007, iar cea mai mare a fost înregistrată în anul 2008.

Dinamica evoluției conținutului în polifenoli totali este prezentată în fig. 4.8. La cules conținutul în polifenoli totali a fost cuprins între 2,35 g/kg și 2,69 g/kg, valoarea cea mai ridicată fiind obținută în cazul recoltei din anul 2009 și anume 2,69 g/kg acid galic.

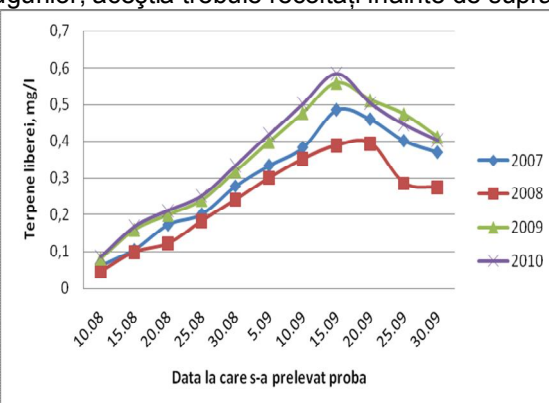
#### 4.3.2. Evoluția conținutului în terpenoluri libere și legate în timpul maturării strugurilor

Așa cum se observă în fig. 4.9, conținutul în terpenoluri libere a prezentat o evoluție ascendentă începând cu perioada de pârghă, iar la cules conținutul în terpenoluri libere a fost cuprins între 0,247-0,411 mg/l, valoarea cea mai mare înregistrându-se în cazul recoltei din anul 2009.

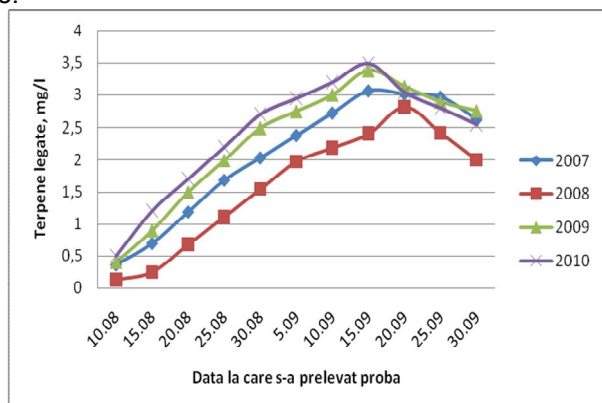
S-a observat că evoluția cantității de terpenoluri libere a fost ascendentă de la pârghă până la maturitatea deplină a strugurilor. În perioada ulterioară până la maturitatea tehnologică, conținutul în terpenoluri libere a scăzut ușor mai ales în cazul unei supramaturări a strugurilor. Acest aspect a fost observat și de Fenoll și colab., 2008 în cazul strugurilor Muscat de Hamburg. În situația în care se dorește o acumulare maximă a terpenolurilor libere în boabele strugurilor, aceștia trebuie recoltați înainte de supracoacere.



**Figura 4.8.** Evoluția conținutului în polifenoli totali în timpul maturării strugurilor din soiul Muscat Ottonel în perioada 2007-2010, podgoria Murfatlar



**Figura 4.9.** Evoluția conținutului în terpenoluri libere în timpul maturării strugurilor din soiul Muscat Ottonel în perioada 2007-2010, podgoria Murfatlar



**Figura 4.10.** Evoluția conținutului în terpenoluri legate în timpul maturării strugurilor din soiul Muscat Ottonel în perioada 2007-2010, podgoria Murfatlar

În figura 4.10 este prezentată evoluția conținutului în terpenoluri legate în timpul maturării strugurilor din soiul Muscat Ottonel în perioada 2007-2010, Podgoria Murfatlar. Evoluția conținutului în terpenoluri legate din struguri este asemănătoare cu cea a terpenolurilor libere. Cantitatea de terpenoluri legate crește de la pârghă până la

maturitatea deplină a strugurilor, după care scade probabil datorită prezenței enzimelor cu activitate  $\beta$  glucozidazică ce hidrolizează o parte din acestea.

Este dificil de explicat evoluția în timpul maturării strugurilor a conținutului în terpeni liberi și terpeni legați glicozidic. Sunt mai mulți factori care afectează aceste valori: primul este important de observat că localizarea acestor compuși este în piele. În primele etape ale maturării proporția pielii din totalul boabei este mult mai mare. Pe măsură ce strugurii se maturează, greutatea boabei crește și proporția de piele scade. Din această cauză la maturitatea deplină a soiurilor de struguri conținutul în terpeni liberi și legați nu are valori maxime.

#### 4.3.3. Productivitatea soiului Muscat Ottonel în perioada 2007-2010

Producția de struguri realizată în acest interval (2007-2010) diferă de la un an la altul fiind cuprinsă între 8,2 t/ha în anul 2010 și 9,4 t/ha în anul 2008 (fig. 4.11).

Valoarea cea mai mare a producției de struguri din soiul Muscat Ottonel s-a înregistrat în anul 2008 (9,4 t/ha).

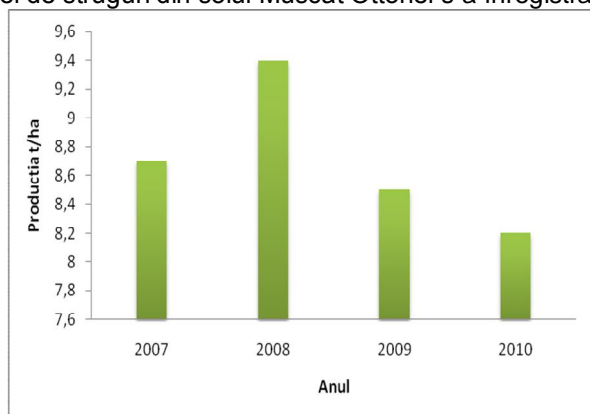


Figura 4.11. Producția de struguri în perioada 2007-2010

#### 4.4. Concluzii parțiale

- Maturitatea deplină a strugurilor din soiul Muscat Ottonel în podgoria Murfatlar în perioada 2007-2010 s-a realizat în perioada 5-20 septembrie, excepție a făcut anul 2010, când maturitatea deplină a strugurilor a fost forțată (30.08), din cauza perioadei secetoase.
- Conținutul strugurilor în glucide la maturitatea deplină a strugurilor din soiul Muscat Ottonel variază între 198-236 g/l.
- Aciditatea titrabilă a mustului la maturitatea deplină a strugurilor din soiul Muscat Ottonel a înregistrat valori cuprinse între 3,9-5,8 g/l  $H_2SO_4$ .
- Masa a 100 boabe la maturitatea deplină a strugurilor a prezentat valori, care oscilează între 158-179 g.
- Potențialul polifenolic al strugurilor la maturitatea deplină a avut valori cuprinse între 2,35-2,60 g/kg.
- Conținutul în terpeni liberi crește după intrarea strugurilor în pârgă în anii cu condiții climatice favorabile, creștere care se prelungește până la recoltare; în anii unde este prezentă contaminarea cu mușgaiul cenușiu se înregistrează scăderi bruște, după atingerea maturității depline a strugurilor.
- Condițiile climatice influențează cantitatea de compuși terpenici liberi din struguri, ploile producând o scădere a acestora, vremea rece și umedă ducând la încetinirea acumulării acestor compuși în pielele boabelor.
- Culesul strugurilor trebuie efectuat atunci când cantitatea de compuși terpenici liberi înregistrează cele mai mari valori.

### CAPITOLUL 5. STUDII PRIVIND UTILIZAREA PREPARATELOR ENZIMATICE LA PREPARAREA VINURILOR AROMATE DE CALITATE

#### 5.1. Studiu privind utilizarea enzimelor de macerare în elaborarea vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel

**5.1.1. Oportunitatea studiului.** Scopul cercetărilor întreprinse în condiții de microvinificație, a fost de a studia principalele efecte ale utilizării enzimelor de macerare asupra: îmbunătățirii gradului de extracție a precursorilor de arome, randamentului în must, limpezirii și filtrabilității mustului, a dinamicii fermentației alcoolice și compoziției vinurilor rezultate.

#### 5.1.2. Materiale și metode de analiză

**Strugurii materie primă, materialele auxiliare și variantele tehnologice utilizate.** Experimentările s-au efectuat pe soiul Muscat Ottonel, în condițiile climatice ale anului 2009, utilizând enzime pectolitice din categoria pectinazelor Lallzyme Cuveé Blanc și drojdii selecționate din specia *Saccharomyces cerevisiae*-Lallvin QA23 sub formă de preparate comerciale ale firmei Lallmand. Lallzyme Cuveé Blanc a fost aplicat pe struguri înainte de macerația peliculară. Preparatul conține pectinază granulată unică cu activitate beta-glucozidazică. Activitate și mod de acțiune: – pectinază specifică concentrată în activități complementare glucozidazice, dar redusă în

activități de macerare (celulaze, hemicelulaze). Pectinazele cu activități enzimice de macerare reduse permit o extracție mai bună și mai delicată a mustului și o limpezire mai rapidă după presare deoarece este concentrată în beta – glucozidaze. Lallzyme Cuveé Blanc are rolul de accentua complexitatea aromatică a vinurilor albe. Parametrii (temperatură/timp) 5-12°C/2-12 ore. Doza recomandată de preparat enzimatic este de 2g/100kg direct pe struguri.

În tabelul 5.1. sunt prezentate variantele experimentale și tehnologia de vinificație aplicată pentru obținerea acestora la nivel de microvinificație.

**Tabelul 5.1. Variantele tehnologice realizate pentru studiul influenței adaosului enzimelor de macerare la vinificarea strugurilor din soiul Muscat Ottonel**

Varianta	Variante tehnologice
Varianta 1 (V1)	must ravac limpezit prin sedimentare statică, și fermentat spontan, sub acțiunea microflorei epifite
Varianta 2 (V2)	must de presă limpezit prin sedimentare statică, și fermentat spontan, sub acțiunea microflorei epifite
Varianta 3 (V3)	must ravac tratat cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc 2g/100kg direct pe struguri și fermentat spontan, sub acțiunea microflorei epifite
Varianta 4 (V4)	must de presă tratat cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc 2g/100kg direct pe struguri și fermentat spontan, sub acțiunea microflorei epifite
Varianta 5 (V5)	must ravac tratat cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc 2g/100kg direct pe struguri și fermentat cu drojdii selecționate
Varianta 6 (V6)	must de presă tratat cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc 2g/100kg direct pe struguri și fermentat cu drojdii selecționate

**Determinarea terpenelor libere și legate** s-a realizat conform pct. 4.2.

#### **Identificarea și cuantificarea terpenelor libere**

Probele obținute după cum a fost arătat mai sus au fost supuse extracției în fază lichidă. Un volum de 100 ml de vin a fost extras lichid-lichid cu câte 10,5 ml și 5 ml de diclometan prin agitare magnetică timp de 20 min, cu 700 rotații pe minut. Extractul final a fost uscat cu sulfat de sodiu anhidru și concentrat la un volum final de 1,5 ml. Din proba finală se injectează în sistemul de analiză un volum de 1μl.



**Figura 5.1. Masa de lucru pentru extragerea terpenelor din probe de vin (dreapta - concentrator de probe organice TurboVap 500)**



**Figura 5.2. 450 GC/240 MS Varian**

Extractul astfel obținut a fost închis ermetic și ulterior injectat în gaz-cromatograful cuplat cu spectrometru de masa 450GC/240MS Varian (Fig. 5.2).

Parametrii metodei de analiza gaz-cromatografică: - temperatura injector - 200°C; - curgere He = 0,9 ml/min; - program de temperatura cuptor: initial 50°C, menținere 2min, urcare la 250°C cu 3°C/min, menținere timp de 1,33 min; - spectrometru de masă: EI Full scan între 5-70 min, 30-250 m/z, 2 μscan.

#### **Caracterizarea fizico-chimică a vinului**

- **Determinarea concentrației alcoolice (STAS 6182/6-70)**
- **Determinarea extractului sec total și densității relative a vinului (STAS 6182/9-80)**
- **Determinarea zaharului reducător și total (SR 6182-18:2009)**
- **Determinarea zaharozii pe cale chimică (STAS 6182/17-81)**
- **Determinarea acidității totale (SR 6182-1:2008)**
- **Determinarea acidității volatile (SR 6182-2:2008)**
- **Determinarea dioxidului de sulf (SR 6182-13:2009)**

- **Determinarea SO<sub>2</sub> liber în vinurile albe**
- **Determinarea conținutului de glicerol**
- **Determinarea conținutului de esteri totali** (metoda E. Peynaud).
- **Determinarea conținutului de acetaldehidă prin metoda enzimatică**
- **Determinarea aloolului metilic**
- **Determinarea conținutului în polifenoli totali** – conform subcapitolului pct. 4.2.

#### **Analiza senzorială a vinurilor**

Analiza senzorială a vinurilor a fost realizată de un panel format din 10 persoane, 8 bărbați și 2 femei, toate persoanele fiind atestate ca degustători autorizați membri ai Asociației Degustătorilor Autorizați din România.

În cazul vinurilor aromate descriptorii aleși pentru analiză au fost intensitatea olfactivă, calitatea purității aromatice, fructuozitate, caracter floral, caracter vegetal, caracter mineral, amăreala, intensitatea buchetului, onctuositate (rotunjime), echilibru gustativ, persistența gustativă. Punctajul maxim acordat a fost de 5 puncte pentru calificativul excelent, 4 puncte pentru calificativul foarte bine, 3 puncte pentru calificativul bine, 2 puncte pentru calificativul slab, 1 punct pentru calificativul insuficient.

#### **5.1.3. Rezultate și discuții**

##### **5.1.3.1. Efectul enzimelor de macerare asupra conținutului în compuși implicați în aroma vinurilor**

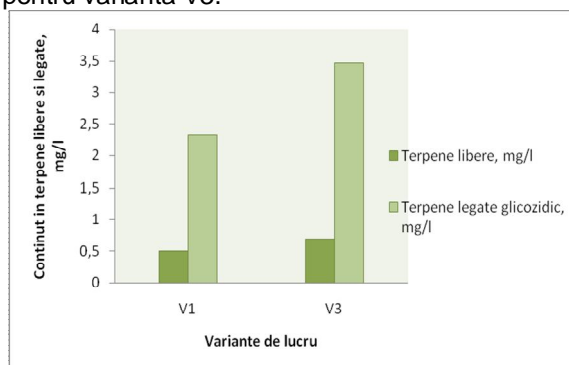
În alegerea spectrului de enzime ce intră în compoziția preparatelor enzimatiche destinate macerării strugurilor, trebuie să se țină cont de natura compușilor ce intră în alcătuirea peretelui celular și a lamei mediane, acestea fiind principalele bariere ce trebuie străbătute de compușii utili.

În cazul strugurilor din soiul Muscat Ottonel este vorba de terpenele libere și precursorii lor glicozidici.

Sunt prezentate cantitățile de terpeni libere și terpeni legate în cazul mustului ravac netratat și tratat cu preparat enzimatic Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/100 kg struguri).

Așa cum se observă în figura 5.4, conținutul în terpeni libere a fost mai mic comparativ cu conținutul în terpeni legate. Astfel, în mustul ravac martor V1 conținutul în terpeni libere a fost de 0,510 mg/l iar la mustul tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/100 kg struguri) V3, conținutul în terpeni libere a fost ușor mai mare de 0,698 mg/l.

În același timp, datorită faptului că preparatul enzimatic prezintă și o activitate β glucozidazică o parte din precursorii de aromă extrași în timpul macerării sunt hidrolizați și de aceea crește cantitatea de terpeni libere cu 26,93 % în cazul variantei V3. Raportul dintre terpenele legate și libere în probele martor au avut valori de 4,56 pentru V1 și 4,97 pentru V3. Prin tratamentul enzimatic cu preparatul enzimatic Lallzyme Cuveé Blanc conținutul în precursori a crescut cu 32,85 % pentru varianta V3.



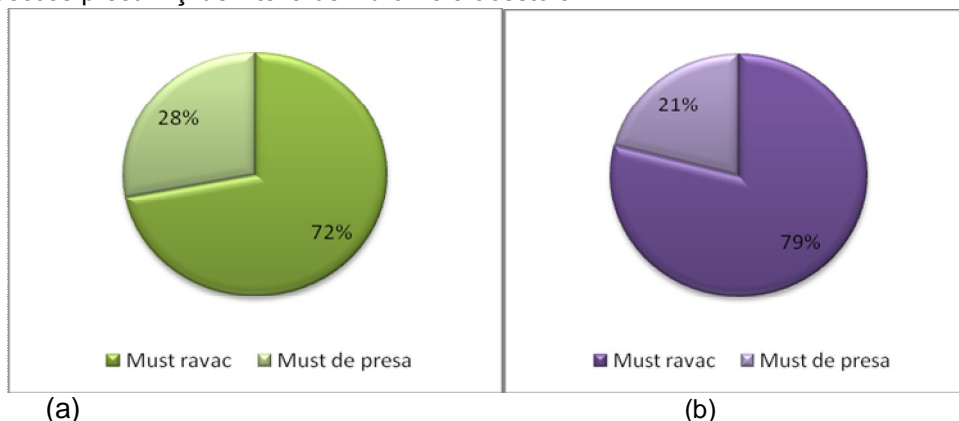
**Figura 5.4. Influența adaosului de enzime de macerare asupra conținutului în terpeni libere și legate din must (V1 - must ravac martor, V3 - must ravac tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc, 2 g/100 kg struguri)**

În tabelul 5.3 sunt prezentate valorile compușilor terpenici dozați prin gaz cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă a mustului ravac netratat și tratat enzimatic cu Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/100 kg struguri).

**Tabelul 5.3. Conținutul în terpeni libere în cazul mustului ravac netratat (V1) și tratat enzimatic (V3)**

<b>Compuși terpenici, μg/l</b>	<b>Must ravac martor, V1</b>	<b>Must ravac tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/100 kg struguri), V3</b>
Linalool	157,5	197,7
Hotrienol	82,6	98,4
α Terpineol	36,9	49,7
Citronelol	6,4	8,2
Nerol	84,1	106,6
Geraniol	62,3	132,8
Acid geranic	80,2	104,6
<b>Total compuși terpenici</b>	<b>510</b>	<b>698</b>

**5.1.3.2. Efectul enzimelor de macerare asupra extracției mustului și randamentului în must.** Obținerea unei cantități cât mai mari de must, este influențată atât de tehnologia de vinificare cât și de conținutul strugurilor în substanțe pectice precum și de viteza de hidroliză a acestora.

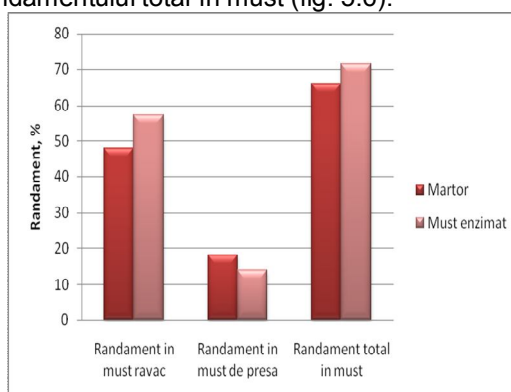


**Figura 5.5.** Influența enzimelor de macerare asupra randamentului în must ravac la martor (a) și la proba cu adaos de enzime de macerare (b)

Întrucât la vinificarea în alb durata de macerare a strugurilor este foarte scurtă, ea putând fi asimilată cu durata de timp scursă de la începutul zdrobirii și până la terminarea presării, efectul enzimelor pectolitice endogene este în multe situații nul. Viteza de degradare a pectinelor cu ajutorul preparatelor enzimatic de macerare depinde de durata de contact dintre enzimă și substrat, deci de momentul adăugării enzimelor.

Adăugând enzimele pe struguri, în buncărul de alimentare al zdrobitorului, această durată este maximă iar distribuția acestora în toată masa de mustuală și ulterior a mustului, este mai bună.

Prin folosirea enzimelor de macerare a căror activitate pectolitică este potențată de celuloze, hemiceluloze și uneori proteaze, se realizează o degradare mai avansată și mai rapidă a pereților celulari, precum și o reducere a vâscozității mustului, ceea ce determină o viteză de extracție a mustului mai mare, creșterea randamentului în must ravac (fig. 5.5 a și b) și a randamentului total în must (fig. 5.6).



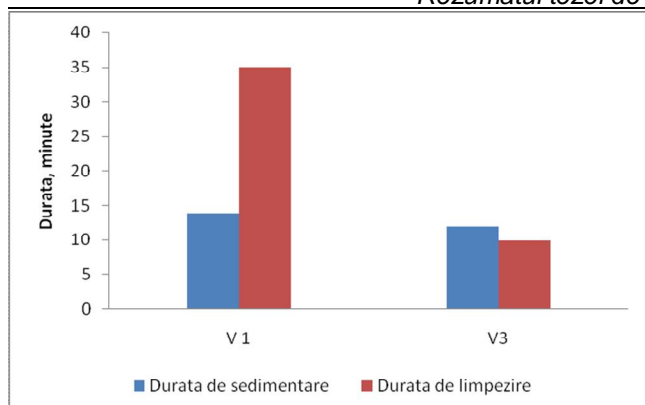
**Figura 5.6.** Influența enzimelor de macerare asupra randamentului în must

În cazul soiului Muscat Ottonel, randamentul în must ravac a crescut de la 49,7% la 57,4%, iar randamentul în must de presă a scăzut de la 17,9% la 14%. De asemenea, randamentul total în must a crescut de la 65,8% la 71,4% (fig. 5.6). Creșterea fracțiunii de must ravac depinde în mare măsură de conținutul strugurilor în pectine. Ea este foarte importantă la soiurile bogate în pectine așa cum este cazul strugurilor din soiul Muscat Ottonel.

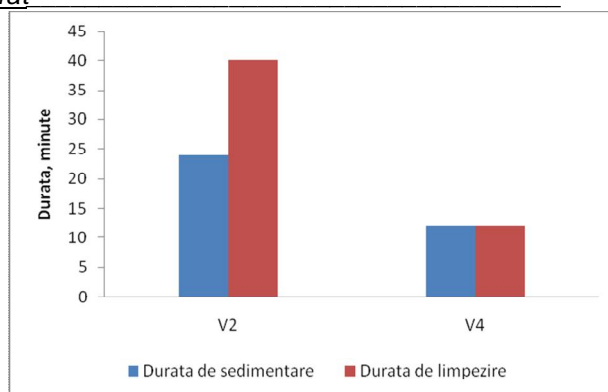
### 5.1.3.3. Efectul enzimelor de macerare asupra limpezirii mustului

Din totalul substanțelor coloidale prezente în must, care determină turbiditatea acestuia, pectinele reprezintă aproximativ 50%, ele fiind principalele substanțe responsabile de stabilitatea coloidală a mustului, ceea ce face ca limpezirea spontană să dureze mult și să fie nesatisfăcătoare.

Prin utilizarea enzimelor pectolitice exogene, prima fază a limpezirii musturilor - faza de scindare enzimatică a pectinelor - este mult mai scurtă, astfel că floccularea particulelor coloidale și sedimentarea precipitatelor formate se desfășoară mai rapid. Studiind efectul enzimelor pectolitice asupra limpezirii mustului s-a urmărit influența acestora asupra duratei de sedimentare și de limpezire a mustului precum și asupra limpidității acestuia. Viteza de sedimentare s-a apreciat prin variația procentuală a volumului de sediment în timp, iar viteza de limpezire prin variația limpidității exprimată prin  $DO_{420}$ , cuva de 1 cm în timp. În cazul mustului ravac, care are o încărcătură mică de substanțe pectice, dar mare de suspensii solide antrenate la scurgere, durata de sedimentare a mustului martor (V1) este comparabilă cu cea a mustului tratat enzimatic (V3) (fig. 5.7), deoarece enzimele pectolitice nu au o cantitate prea mare de substrat asupra căruia să acționeze.



**Figura 5.7.** Influența enzimelor de macerare asupra duratei de sedimentare și de limpezire a mustului ravac (V1 - must ravac martor, V3 - Must ravac tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc, 2 g/100 kg struguri)

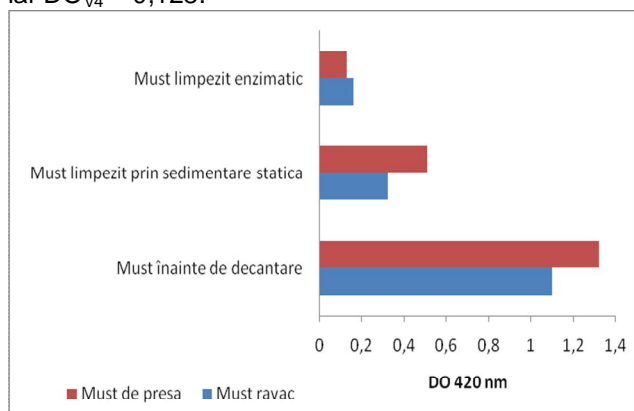


**Figura 5.8.** Influența enzimelor de macerare asupra duratei de sedimentare și de limpezire a mustului de presă (V2 - must de presă martor, V4 - Must de presă tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc, 2 g/100 kg struguri)

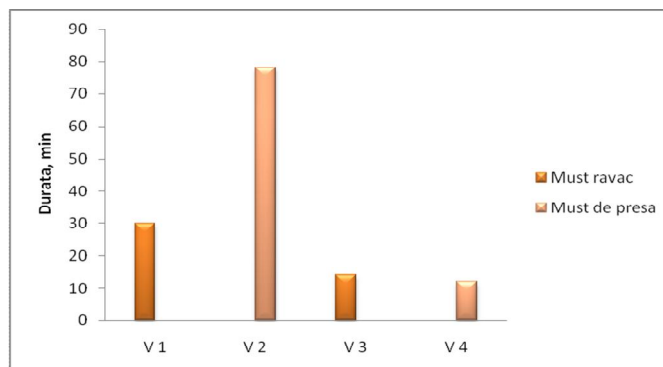
Însă durata de limpezire a mustului martor este mai mare decât a celui enzimizat, ceea ce indică faptul că prin acțiunea enzimelor pectolitice se pot depune mai rapid particulele aflate în suspensie.

În cazul mustului de presă, bogat în substanțe pectice dar sărac în suspensii solide deoarece acestea au fost reținute în boștină, durata de sedimentare a variantei tratate enzimatic (V4), este de asemeni mai mică decât a martorului (V2), dar durata de limpezire a mustului tratat enzimatic scade mult mai spectaculos, evidențiind efectul enzimelor pectolitice în limpezirea musturilor de presă (fig. 5.8).

În ceea ce privește limpiditatea mustului, exprimată prin valoarea densității optice la lungimea de undă de 420 nm (fig. 5.9). La probele martor, variantele V1 și V2, limpiditatea corespunde unui aspect ușor opal cu o valoare a absorbății de  $DO_{V1} = 0,320$  și foarte opal cu o valoare a absorbății de  $DO_{V2} = 0,509$  față de limpiditatea foarte bună obținută la variantele tratate enzimatic, variantele V3 și V4, cu valorile absorbății de  $DO_{V3} = 0,160$  iar  $DO_{V4} = 0,128$ .



**Figura 5.9.** Influența enzimelor de macerare asupra limpidității mustului



**Figura 5.10.** Influența enzimelor de macerare asupra filtrabilității mustului

#### 5.1.3.4. Efectul enzimelor de macerare asupra filtrabilității mustului

Efectul enzimelor pectolitice asupra limpezirii mustului, se regăsește și în filtrabilitatea lui.

Apreciind filtrabilitatea mustului prin măsurarea duratei de filtrare a unui volum determinat de must (50 ml), s-a constatat că în cazul mustului ravac, durata de filtrare scade de la 30 minute la 14 minute, iar în cazul mustului de presă, de la o oră și 18 minute, la 12 minute (fig. 5.10).

Și în acest caz, se remarcă același efect benefic al enzimelor de macerare asupra filtrabilității mustului de presă. Îmbunătățirea filtrabilității musturilor se regăsește în îmbunătățirea filtrabilității vinurilor, deci în creșterea cantității de vin filtrat în unitatea de timp, în posibilitatea folosirii unor presiuni de filtrare mai scăzute, economie de material filtrant și pierderi de vin la filtrare mai mici.

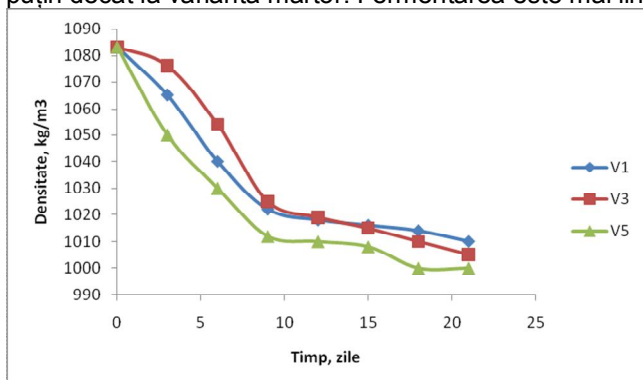
#### 2.1.3.5. Efectul enzimelor de macerare asupra dinamicii fermentației alcoolice

Alegerea dozelor de preparate enzimatic trebuie judicios corelată cu efectul de limpezire, pentru a nu se realiza o limpezire prea avansată. Principalele probleme ridicate de o limpezire prea avansată a mustului, se referă la: întârzierea intrării în fermentație, afectarea dinamicii fermentației alcoolice și a metabolismului drojdiilor, cunoscându-se rolul nutritiv al burbelor prin aportul de acizi grași necesari multiplicării și dezvoltării drojdiilor.

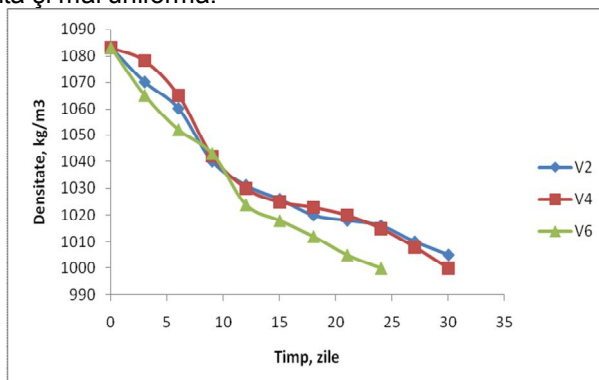
De asemenea, limpezirea severă a mustului determină scăderea populației microbiene, impunând declanșarea fermentației alcoolice cu ajutorul drojdiilor selecționate, concomitent sau nu cu folosirea activatorilor de fermentare.

Prin studierea dinamicii fermentației alcoolice a mustului ravac și cel de presă s-a urmărit stabilirea modului în care tratamentul enzimatic al mustului influențează derularea acestui proces.

Din figura 5.11 se observă că fermentarea mustului ravac limpezit enzimatic, sub acțiunea microflorei epifite, se declanșează mai târziu, și în acest timp trebuie asigurată protecția antioxidantă a mustului, dar durează mai puțin decât la varianta martor. Fermentarea este mai liniștită și mai uniformă.



**Figura 5.11.** Influența tratamentului enzimatic asupra dinamicii fermentației alcoolice a mustului ravac (V1 - must ravac martor fermentat microflora spontană, V3 - must ravac tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc, 2 g/100 kg struguri, fermentat microflora spontană, V5 must ravac tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc, 2 g/100 kg struguri, fermentat cu drojdii selecționate)



**Figura 5.12.** Influența tratamentului enzimatic a mustului de presă asupra dinamicii fermentației alcoolice (V2 - must de presă martor fermentat microflora spontană, V4 - must de presă tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc, 2 g/100 kg struguri, fermentat microflora spontană, V6 must de presă tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc, 2 g/100 kg struguri, fermentat cu drojdii selecționate)

În cazul mustului de presă, fermentarea mustului limpezit enzimatic și a celui limpezit prin deburbare clasică, începe practic în același moment, însă durează mai mult (fig. 5.12).

Când se folosesc drojdiile selecționate, amorsarea fermentației este mult mai rapidă, iar durata de fermentare este mai scurtă, dar ea nu se impune că o consecință a utilizării limpezirii enzimatice, putând fi folosită doar pentru avantajele pe care o fermentație cu drojdiile selecționate le poate aduce: temperaturi de fermentare mai scăzute, producerea de cantități mai mici de acizi volatili, spectrul diferit al produșilor secundari ai fermentației alcoolice responsabili de "aroma de fermentație", folosirea unor goluri de aer la fermentare mai mici datorită spumării mai reduse în timpul fazei de fermentație tumultuoasă etc.

### 5.1.3.6. Efectul enzimelor de macerare asupra calității vinurilor

Pentru a studia cum se reflectă aplicarea tratamentului cu enzime de macerare, asupra compoziției fizico-chimice și senzoriale a vinurilor, s-au determinat principalii parametri ai acestora (tabelul 5.4 și 5.5).

Analizând datele din tabel se observă că raportul de combinare a dioxidului de sulf este mai bun la variantele fermentate cu drojdiile selecționate.

**Tabelul 5.4.** Compoziția fizico-chimică a vinurilor Muscat Ottonel - anul de recoltă 2009, Murfatlar

Varianta	SO <sub>2</sub> , mg/l		Alcool, % vol.		Aciditate totală, g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l	Aciditate volatilă, g acid acetic/l
	liber	total	dobândit	potențial		
V 1	17,5	90,00	11,9	12,1	4,90	0,47
V 2	12,5	82,50	11,7	11,9	4,74	0,48
V 3	22,5	85,00	12,0	12,1	5,10	0,38
V 4	17,5	85,00	11,8	11,9	5,00	0,41
V 5	25,0	77,50	12,45	12,1	5,16	0,26
V 6	27,5	82,50	12,25	11,9	4,95	0,28

**Tabelul 5.5.** Compoziția fizico-chimică a vinurilor Muscat Ottonel - anul de recoltă 2009, Murfatlar

Varianta	Extract redus, g/l	Zahăr rezidual, g/l	Glicerol, g/l	Esteri, g/l	Acetaldehidă, mg/l	Alcool metilic, mg/l	Polifenoli totali, mg/l
V 1	17,70	2,20	6,14	0,334	42,7	47	250
V 2	18,00	2,45	6,52	0,390	47,1	59	295
V 3	19,20	2,58	8,02	0,440	30,1	58	220

*Rezumatul tezei de doctorat*

V 4	19,4	2,70	7,98	0,395	36,4	65	247
V 5	20,50	0,96	9,50	0,475	22,7	76	185
V 6	20,90	1,60	10,28	0,447	25,4	84	215

Conținutul de acizi volatili și de acetaldehidă au valori minime la variantele fermentate dirijate, pe seama particularităților de metabolism ale drojdiilor folosite.

Conținutul de zahăr rezidual la probele limpezite enzimatic este ușor superior martorilor, mai ales la vinul de presă, la care gradul de limpezire, comparativ cu încărcătura mustului în suspensii a fost mai avansat. La probele fermentate cu drojdiile selecționate, acesta a fost minim 0,96-1,60 g/l.

Extractul vinurilor obținute din strugurii macerați enzimatic, este superior martorilor, pe seama unei mai bune extracții a compușilor solubili din bob, participanți la extract;

Drojdiile selecționate folosite sunt producătoare de glicerol, determinând o creștere a conținutului acestuia cu 45,5 - 50,0% față de martor. Se observă că și vinurile limpezite enzimatic au, față de martor, o concentrație sporită de glicerol, deci formarea compușilor secundari în cursul fermentației alcoolice în aceste condiții este influențată în mod benefic.

Cu cât limpezirea este mai avansată (V2, V5), cu atât conținutul vinurilor în esteri este mai mare. Conținutul în esteri al vinurilor fermentate cu drojdiile selecționate este superior, pe seama produșilor de metabolism ai drojdiilor. Atât în cazul vinului ravac cât și de presă, se constată o creștere a conținutului în metanol, atunci când limpezirea se face enzimatic. Aceasta este rezultatul activității pectin-esterazelor din preparatele utilizate. Creșterea însă nu este semnificativă, neinfluențând practic calitatea vinului.

Vinul de presă conține mai mult metanol decât cel ravac, deoarece conținutul acestuia în substanțe pectice a fost mai mare. Deburarea rapidă a mustului determină diminuarea extracției compușilor fenolici în must, precum și a activității polifenoxidazei, care este îndepărtată odată cu părțile solide ale strugurilor, unde se află localizată. Vinurile fermentate cu drojdiile selecționate, au conținuturi mai mici de polifenoli decât cele limpezite enzimatic dar fermentate spontan, probabil datorită absorbției diferite a acestor compuși de către celulele drojdiilor.

**Tabelul 5.6. Conținutul în terpene libere în cazul mustului ravac netratat (V1) și tratat enzimatic (V5)**

<b>Compuși terpenici, μg/l</b>	<b>Vin obținut din must ravac martor, V1</b>	<b>Vin obținut din must ravac tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/100 kg struguri) și fermentat cu drojdiile selecționate, V5</b>
Linalool	190,8	214,6
Hotrienol	134,9	154,2
α Terpineol	82,3	69,2
Citronelol	82,2	101,4
Nerol	urme	urme
Geraniol	55,9	81,6
Acid geranic	54,2	119,4
<b>Total compuși terpenici</b>	<b>600,3</b>	<b>740,4</b>

În tabelul 5.6 sunt prezentate valorile compușilor terpenici dozați prin gaz cromatografie cuplată cu spectrometrie de masă a vinului obținut din mustul ravac netratat fermentat cu microflora spontană și tratat cu preparat enzimatic Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/100 kg struguri) și fermentat cu drojdiile selecționate.

Vinul obținut din must ravac tratat cu preparat enzimatic Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/100 kg struguri) și fermentat cu drojdiile selecționate, a prezentat un conținut mai mare în terpene libere, această creștere datorându-se eliberării lor din formele legate în timpul fermentației alcoolice, datorită activității enzimatice reziduale a strugurilor sau a activității enzimatice a drojdiilor de fermentație (Delcroix și colab., 1994, Delfini și colab., 2001).

Pe de altă parte creșterea concentrației în citronelol se datorează metabolismului drojdiilor capabile să-l sintetizeze din nerol și geraniol (Dugelay și colab., 1992). Ciclizarea nerolului, geraniolului și a linalolului în mediu acid duce la obținerea de α terpineol, iar ciclizarea în mediu acid cu eliminarea unei molecule de apă a 2,6 dimetil 3,7 octadien 2,6 diol conduce la obținerea de hotrienol.

Vinurile obținute din variantele de must au fost analizate senzorial, criteriile de apreciere fiind: intensitatea olfactivă, calitatea purității aromatice, fructuozitate, caracter floral, vegetal, mineral, amăreala, intensitatea buchetului, onctuositate, rotunjime, echilibru gustativ, persistența gustativă.

Profilul aromatic al vinurilor rezultate din mustul ravac martor (V1) și din mustul ravac tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/100 kg struguri) și fermentat cu drojdiile selecționate (V5) în urma analizei senzoriale este reprezentat în diagrama radar din figura 5.13.

Vinul obținut din mustul tratat cu preparat enzimatic Lallzyme Cuveé Blanc prezintă caracteristici senzoriale superioare variantei martor.

Intensitatea aromatică se accentuează prin utilizarea acestui preparat enzimatic, care conține concentrații ridicate atât în glicozidazele ce acționează în prima etapă a mecanismului enzimatic, cât și în β-glucozidaza ce acționează în a doua etapă a mecanismului enzimatic de eliberare a constituenților aromatici.



De aceea, din punct de vedere senzorial, vinurile obținute cu ajutorul enzimelor de macerare sunt mai armonioase, mai expresive, mai corpolente și dovedesc cel mai bun echilibru, intensitate și tipicitate a aromei. Vinurile obținute din musturi fermentate cu drojzii selecționate, prezintă o aroma varietală mai atenuată, aroma de fermentație fiind mai evoluată și mai evidentă.

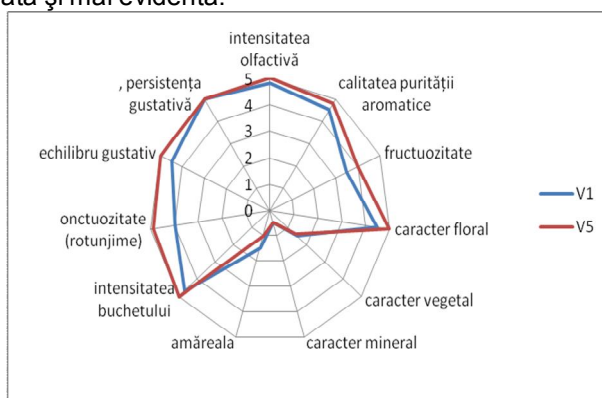


Figura 5.13. Profilul aromatic al vinurilor în urma analizei senzoriale

#### 5.1.4. Concluzii parțiale

- Folosirea în vinificație a enzimelor de macerare și a drojdiilor selecționate, crează o serie de avantaje de ordin tehnologic: optimizarea unor transformări ce au loc în fazele de obținere, formare și evoluție a vinului, mărirea randamentului și rulajului utilajelor. Ele determină însă și modificări ale compoziției vinurilor, care conduc la îmbunătățirea calității lor.
- Prin adăugarea enzimelor pe struguri, se înregistrează o creștere a randamentului în must ravac cu 9,5% și o scădere a randamentului în must de presă, cu cca. 3,0% , precum și o creștere a randamentului total în must, cu 5,6%.
- Prin acțiunea enzimelor pectolitice, durata de limpezire a mustului ravac și cel de presă este practic aceeași și egală cu cea de sedimentare. Raportată la procedeul deburbării clasice, durata de limpezire enzimatică este mai mică cu 70%, iar efectul de limpezire enzimatică este superior cu 50% în cazul mustului ravac și 75% în cazul mustului de presă.
- În funcție de încărcătura mustului în suspensii - care pentru o aceeași tehnologie de vinificare, depinde de compoziția strugurilor prin folosirea enzimelor pectolitice, filtrabilitatea crește cu 50% în cazul mustului ravac și 85% pentru mustul de presă.
- Prin folosirea drojdiilor selecționate pe musturi limpezite enzimatic, durata procesului de fermentare scade - față de musturile limpezite clasic - cu 37% - în cazul vinului de presă și 69% - în cazul mustului ravac. Față de musturile limpezite enzimatic și fermentate sub acțiunea microflorei epifite, scăderea este de 57% - atât pentru vinul ravac cât și cel de presă.
- Vinurile obținute din musturi limpezite prin tratamente enzimatic, se remarcă prin conținuturi superioare de extract nereductor, glicerol, esteri, alcool metilic și valori mai mici ale conținutului de acetaldehidă, acizi volatili și compuși fenolici.
- Vinurile obținute din musturi limpezite enzimatic și fermentate cu drojzii selecționate, înregistrează cele mai mari valori ale conținutului de glicerol, sunt bogate în esteri, au valori foarte mici ale conținutului de acetaldehidă și substanțe fenolice.

## 5.2. Studiu privind utilizarea enzimelor cu activitate β-glucozidazică la elaborarea vinurilor albe aromatate din struguri soiul Muscat Ottonel

### 5.2.1. Oportunitatea studiului

Hidroliza precursorilor de aromă în cursul vinificării este posibilă sub acțiunea enzimelor strugurelui, a echipamentului enzimatic al drojdiilor sau al preparatelor enzimatic exogene. Fiecare din aceste enzime acționează în etape tehnologice diferite începând de la procesarea recoltelor de struguri și finalizând cu obținerea și maturarea vinului. Tratamentul cu preparate enzimatic exogene permite hidroliza glucozei glicozilate. Experimentele efectuate au demonstrat că intensitatea hidrolizei enzimatic depinde atât de soi cât și de eficacitatea preparatului enzimatic utilizat. În general, proporția diferitelor glucozide variază în funcție de condițiile climaterice, de poziția geografică a arealului viticol și de starea de maturitate a recoltei.

Scopul cercetărilor întreprinse în condiții de microvinificație, a fost de a studia principalele efecte ale utilizării enzimelor cu activitate enzimatică β glucozidazică asupra eliberării substanțelor de aromă în vinuri.

### 5.2.2. Materiale și metode de analiză

**Strugurii materie primă, materialele auxiliare și variantele tehnologice utilizate.** Experimentările s-au efectuat pe soiul Muscat Ottonel, în condițiile climatice ale anului 2009, utilizând două tipuri de preparate enzimatic cu activitate β glucozidazică și anume Novarom G (Novo Nordisk, Dittingen, Elveția) și Lallzyme Beta

(Lallemand Inc Quebec, Canada) imediat după finalizarea fermentației alcoolice.

*Lallzyme Beta* este un preparat enzimatic utilizat pentru eliberarea substanțelor de aromă în vinurile albe obținute din struguri aromați, prezintă activitate  $\beta$  glucozidazică intensă. A fost elaborat pentru a mari intensitatea aromatică a vinurilor. Cu cât este mai mare rezerva de precursori aromatici, cu atât este mai mare efectul tratamentului enzimatic. Parametrii (temperatura/timp) minim 12°C/minim 3 săptămâni. Doza recomandată este de 5 g/hl.

*Novarom G* este un preparat enzimatic utilizat pentru eliberarea substanțelor de aromă în vinurile albe obținute din struguri aromați cu activitate  $\beta$  glucozidazică. Parametrii (temperatura/timp) minim 10-12°C/minim 3 săptămâni. Doza recomandată 5-10 g/hl.

În tabelul 5.7. sunt prezentate variantele experimentale și tehnologia de vinificație aplicată pentru obținerea acestora la nivel de microvinificație.

**Tabelul 5.7.** Variantele tehnologice realizate pentru studiul influenței adaosului enzimelor de cu activitate  $\beta$  glucozidazică la vinificarea strugurilor din soiul *Muscat Ottonel*

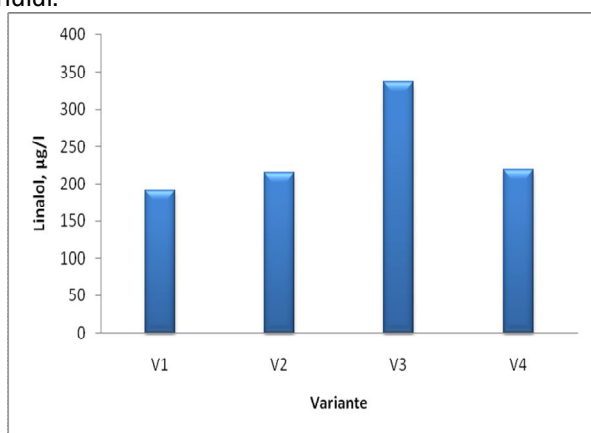
Varianta	Variante tehnologice
Varianta 1 (V1)	must ravac limpezit prin sedimentare statică, și fermentat spontan, sub acțiunea microflorei epifite
Varianta 2 (V2)	must ravac tratat cu enzime de macerare <i>Lallzyme Cuveé Blanc</i> (2 g/100 kg struguri) și fermentat spontan, sub acțiunea microflorei epifite
Varianta 3 (V3)	must ravac tratat cu enzime de macerare <i>Lallzyme Cuveé Blanc</i> (2 g/100 kg struguri) și fermentat spontan, sub acțiunea microflorei epifite și tratat ulterior cu <i>Lallzyme Beta</i> în doză de 5g/hl
Varianta 4 (V4)	must ravac tratat cu enzime de macerare <i>Lallzyme Cuveé Blanc</i> (2 g/100 kg struguri) și fermentat spontan, sub acțiunea microflorei epifite și tratat ulterior cu <i>Novarom G</i> în doză de 5 g/hl

**Cuantificarea terpenelor libere** s-a realizat după procedeul descris în subcapitolul anterior 5.1.2.

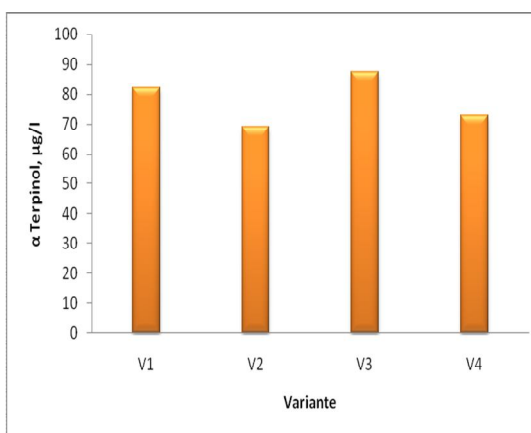
### 5.2.3. Rezultate și discuții

În continuare sunt prezentate datele obținute pentru cuantificarea conținutului în terpeni libere în cazul vinului ravac obținut fără tratament cu preparate enzimatic, vinului obținut din must tratat cu enzime de macerare și a vinului obținut din must tratat cu enzime de macerare și cu enzime pentru potențarea aromei enzime cu activitate  $\beta$  glucozidazică. Așa cum se observă în figura 5.17 cantitatea în linalol a variat în funcție de tratamentul enzimatic al mustului și vinului.

Astfel, se observă că adaosul de enzime la sfârșitul fermentației alcoolice are un rol important în conținutul în terpeni libere, în cazul linalolului (fig. 5.17) valoarea a crescut cu 76,2% în cazul utilizării preparatului *Lallzyme Beta* (5 g/hl vin) și cu 14,5 % în cazul utilizării preparatului *Novarom G* (5 g/hl vin), față de varianta V1 și cu 56,6% în cazul utilizării preparatului *Lallzyme Beta* (5 g/hl vin) și cu 1,7% în cazul utilizării preparatului *Novarom G* (5 g/hl vin), față de varianta V2. Castro Vazquez și colab., 2002 au observat o creștere cu 43 % a cantității de linalol în vinul obținut din struguri soiul *Muscat*, în urma tratamentului cu preparat enzimatic comercial AR-2000 a vinului.



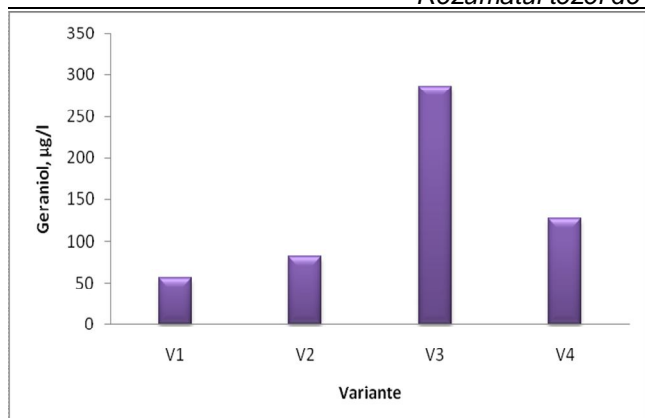
**Figura 5.17.** Conținutul în linalol al probelor analizate pentru variantele studiate



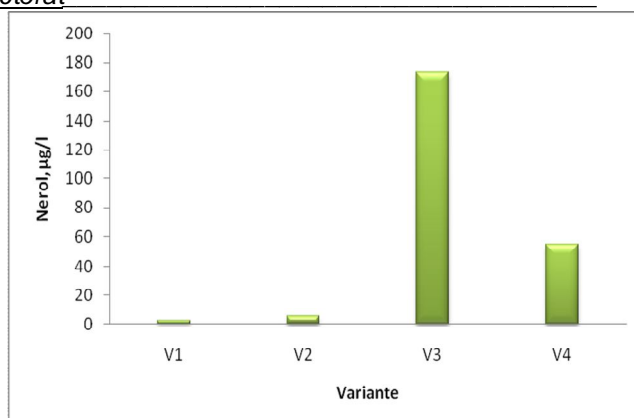
**Figura 5.18.** Conținutul în  $\alpha$  terpinol al probelor analizate pentru variantele studiate

În cazul  $\alpha$  terpineolului valoarea a crescut cu numai 6,4% în cazul utilizării preparatului *Lallzyme Beta* (5 g/hl vin) și a scăzut cu 12,7 % în cazul utilizării preparatului *Novarom G* (5 g/hl vin) față de varianta V1 (fig. 5.18).

Dacă se raportează rezultatele la varianta V2, cantitatea de  $\alpha$  terpinol a crescut cu 26,5% în cazul utilizării preparatului *Lallzyme Beta* (5 g/hl vin) și cu 5,3% în cazul utilizării preparatului *Novarom G* (5 g/hl vin).

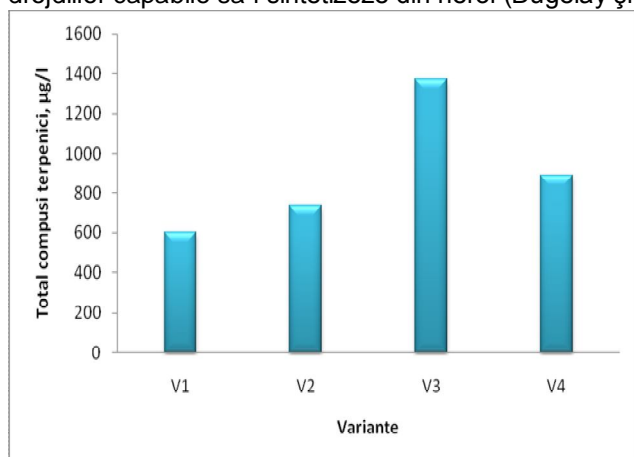


**Figura 5.19.** Conținutul în geraniol al probelor analizate pentru variantele studiate

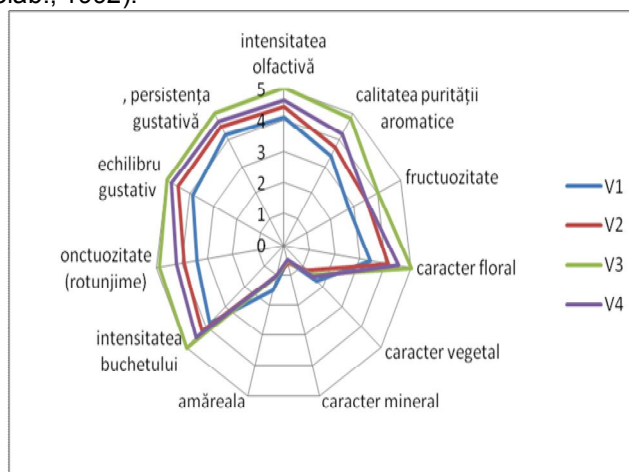


**Figura 5.20.** Conținutul în nerol al probelor analizate pentru variantele studiate

În figura 5.19 este reprezentată variația conținutului în geraniol în funcție de variantele analizate. Comparând conținutul în geraniol pentru variantele V3 și V4 se observă că în cazul variantei V3 se obține o cantitate dublă de geraniol față de varianta V4. Analizând datele din figura 5.20 se observă cum conținutul nerol de la varianta V1 și V2 este foarte redus, asta datorându-se creșterii concentrației în citronelol, datorate metabolismului drojdiilor capabile să-l sintetizeze din nerol (Dugelay și colab., 1992).



**Figura 5.21.** Conținutul în compuși terpenici ai probelor analizate pentru variantele studiate



**Figura 5.22.** Profilul aromatic al vinurilor în urma analizei senzoriale

La varianta V3 conținutul de nerol ajunge la 172,5 µg/l, iar în cazul variantei V4 ajunge la 54,7 µg/l. Cantitatea totală de terpene a fost de 600,3 µg/l în cazul variantei V1, în cazul variantei V2 a fost de 740,4 µg/l. În urma utilizării enzimelor cu activitate β-glucozidazică cantitatea totală de terpene a crescut la 1371,7 µg/l în cazul variantei V3 și la 887,9 µg/l în cazul variantei V4 (fig. 5.21).

Adaosul de preparat enzimatic cu concentrații ridicate atât în glucozidazele ce acționează în prima etapă a mecanismului enzimatic cât și în β-glucozidaza ce acționează în a doua etapă a mecanismului enzimatic determină creșteri spectaculoase ale concentrațiilor în terpenoli volatili specifici strugurilor din soiul Muscat Ottonel. Vinurile obținute din variantele V1, V2, V3 și V4 au fost analizate senzorial de un panel de degustători autorizați. Criteriile de apreciere au fost: intensitatea olfactivă, calitatea purității aromatice, fructuozitate, caracter floral, vegetal, mineral, amăreala, intensitatea buchetului, onctuozitate, rotunjime, echilibru gustativ, persistența gustativă. Profilul aromatic al vinurilor rezultate din mustul ravac mator V1 și din mustul ravac tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/100 kg struguri) V2, vinul obținut din must ravac tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/100 kg struguri) și cu Lallzyme Beta (5g/hl vin) după fermentația alcoolică V3 și vinul obținut din must ravac tratat cu Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/100 kg struguri) și cu Novarom G (5g/hl vin) după fermentația alcoolică V4 în urma analizei senzoriale este reprezentat în diagrama radar din figura 5.22.

Vinul obținut din mustul tratat cu preparat enzimatic Lallzyme Beta prezintă caracteristici senzoriale superioare variantei mator cât și variantei tratate cu preparat enzimatic Novarom G.

Tratamentul cu preparat enzimatic Lallzyme Beta asigură vinurilor calități gustative superioare, le evidențiază volumul și onctuozitatea și le accentuează fructuozitatea și caracterul aromatic varietal tipic fiecărui soi.

La vinurile în care s-a utilizat cu preparat enzimatic Lallzyme Beta după fermentația alcoolică, se semnaleză prezența în cantități mai scăzute a compușilor vegetali volatili ce influențează calitatea acestor vinuri.

Prin acest efect benefic este posibilă evidențierea mai accentuată a bogăției și purității aromelor varietale tipice soiului și arealului viticol de proveniență. Caracterul de fructozitate și stabilitate ale însușirilor olfactive se mențin în condiții normale de maturare și învechire a vinurilor.

Avantaje utilizării preparatului enzimatic Lallzyme Beta sunt următoarele:

- ⇒ asigură o accelerare a extracției precursorilor de aromă;
- ⇒ determină o accelerare a stabilității compușilor răspunzători de tipicitatea gustativă;
- ⇒ permite o creștere a conținutului în compuși răspunzători de profilul și tipicitatea aromatică, ce se concretizează printr-o creștere valorică reală a calității vinurilor tratate.

#### **5.2.4. Concluzii parțiale**

- Adaosul de enzime cu activitate β glucozidazică la sfârșitul fermentației alcoolice are un rol important în conținutul în terpeni liberi finali ai vinului.
- Cantitatea totală de terpeni a fost de 600,3 μg/l în cazul variantei V1, în cazul variantei V2 a fost de 740,4 μg/l; în urma utilizării enzimelor cu activitate β-glucozidazică cantitatea totală de terpeni a crescut la 1371,7 μg/l în cazul variantei V3 și la 887,9 μg/l în cazul variantei V4.
- Prin utilizarea celor două preparate enzimatice cu activitate β glucozidazică s-a observat eficiența sporită a preparatului Lallzyme Beta datorită creșterii conținutului în compuși răspunzători de profilul și tipicitatea aromatică a vinurilor obținute din struguri soiul Muscat Ottonel, ce se concretizează printr-o creștere valorică reală a calității vinurilor.

### **5.3. Dinamica procesului de limpezire a mustului sub acțiunea preparatelor enzimatice**

**5.3.1. Oportunitatea studiului.** Utilizarea enzimelor pectolitice pentru limpezirea mustului, reprezintă un procedeu simplu, economic și cu efecte pozitive asupra verigilor tehnologice ulterioare (îmbunătățirea filtrabilității, comportarea la tratamentele de stabilizare) și a calității vinului.

Substanțele pectice care se găsesc natural în orice must, împiedică limpezirea acestora datorită caracterului lor coloidal; ele pot fi însă scindate enzimatic, cu ajutorul preparatelor enzimatice pectolitice.

Cercetările efectuate au drept scop optimizarea limpezirii mustului cu ajutorul preparatelor enzimatice, prin studierea factorilor care influențează procesul de limpezire. Cercetările au urmărit dinamica limpezirii mustului cu ajutorul preparatelor enzimatice, sub influența mai multor factori precum tipul mustului supus limpezirii: must ravac și must de presă; tipul preparatelor enzimatice folosite: enzime de macerare a strugurilor și enzime de limpezire a mustului; modul de adăugare a enzimelor; dozele de enzime utilizate.

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

##### **Strugurii materie primă, materialele auxiliare și variantele tehnologice utilizate**

S-au utilizat preparate enzimatice de tipul:

Enzimelor de macerare - conțin enzime pectolitice din categoria poligalacturonazelor (E.C.3.2.1.15), celulelazelor și hemicelulelazelor. Enzimele s-au adăugat pe struguri, în buncărul de recepție al desciorchinatorului-zdrobitor.

Enzimelor de limpezire - conțin enzime pectolitice din categoria poligalacturonazelor (E.C.3.2.1.15), pectin-metil-esterazelor (E.C.3.2.1.11) și pectin-liazelor (E.C.4.2.2.10). Enzimele s-au adăugat în must.

Întrucât s-a constatat că sedimentarea particulelor aflate în suspensie, nu este întotdeauna direct proporțională cu limpiditatea mustului, dinamica procesului de limpezire a mustului s-a urmărit prin aprecierea a două mărimi:

- ⇒ viteza de sedimentare a particulelor, prin variația volumului de sediment, % în timp;
- ⇒ viteza de limpezire a mustului prin variația DO 420 nm citită la cuva de 1 cm, în timp.

Preparate enzimatice utilizate: pentru macerare Lallzyme Cuveé Blanc (2g/100kg struguri) și pentru limpezire Lallzyme HC (1 g/hl).

În tabelul 5.9. sunt prezentate variantele experimentale și tehnologia de vinificație aplicată pentru obținerea acestora la nivel de microvinificație.

**Tabelul 5.9. Variantele tehnologice realizate pentru studiul influenței adaosului enzimelor de macerare și de limpezire la vinificarea strugurilor din soiul Muscat**

<b>Varianta</b>	<b>Variante tehnologice</b>
Varianta 1 (V1)	must ravac limpezit prin sedimentare statică
Varianta 2 (V2)	must ravac limpezit cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc (2g/100kg struguri)
Varianta 3 (V3)	must de presă limpezit prin sedimentare statică
Varianta 4 (V4)	must de presă limpezit cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc (2g/100kg struguri)
Varianta 5 (V5)	must asamblat limpezit prin sedimentare statică
Varianta 6 (V6)	must asamblat limpezit cu enzime de limpezire Lallzyme HC (1 g/hl)
Varianta 7 (V7)	must asamblat limpezit cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/hl) și enzime de limpezire Lallzyme HC (1 g/hl) adăugate în mustul final

#### **5.3.3. Rezultate și discuții**

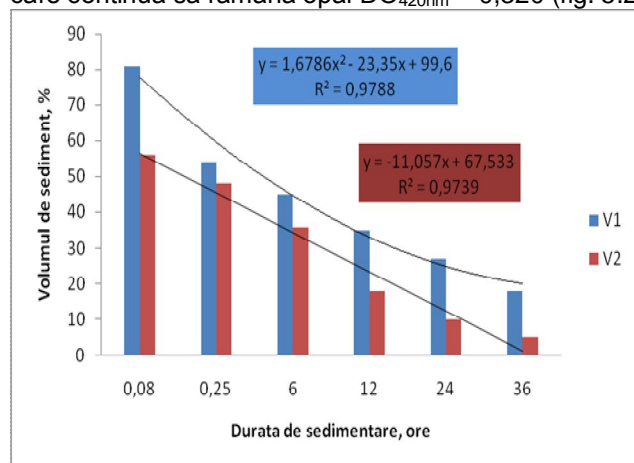
##### **5.3.3.1. Dinamica proceselor de sedimentare și limpezire a mustului sub efectul enzimelor de macerare**

Studiind dinamica procesului de limpezire a mustului, s-a observat că nu există o proporționalitate directă între viteza de limpezire a acestuia și viteza de sedimentare a particulelor aflate în suspensie. În plus, acest

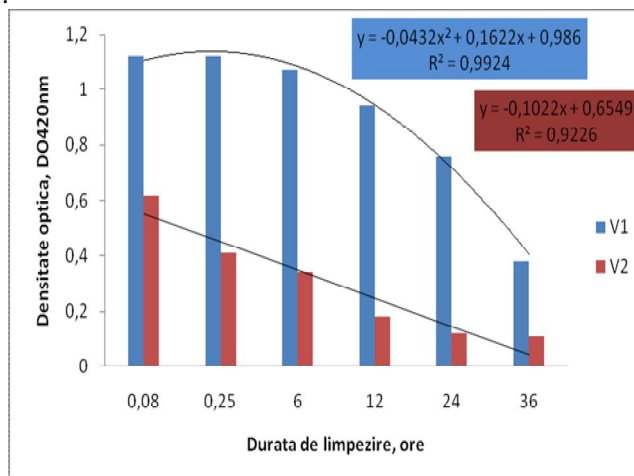
comportament este diferit în cazul mustului ravac și în cazul mustului de presă. În cazul mustului ravac, încărcătura acestuia în particule mecanice aflate în suspensie, este mare, ele fiind antrenate la scurgere. Sedimentul apare foarte repede, dar mai mult pe seama particulelor mecanice decât a celor coloidale, care sunt în cantitate mică (fig. 5.23).

În plus, hidroliza enzimatică a pectinelor conținute de această fracțiune de must, sub acțiunea pectinazelor endogene, durează foarte mult (Castino, 1995; Villettaz, 1996).

Formarea de sediment în cazul mustului ravac maritor (V1), nu îmbunătățește semnificativ limpiditatea mustului, care continuă să rămână opal  $DO_{420nm} = 0,320$  (fig. 5.24).



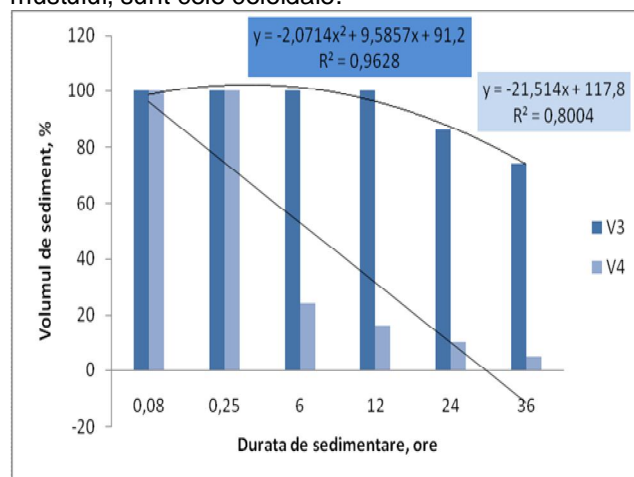
**Figura 5.23.** Dinamica procesului de sedimentare a mustului ravac sub influența enzimelor de macerare (V1-must ravac limpezit prin sedimentare statică, V2-must ravac limpezit cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc (2g/100kg struguri)



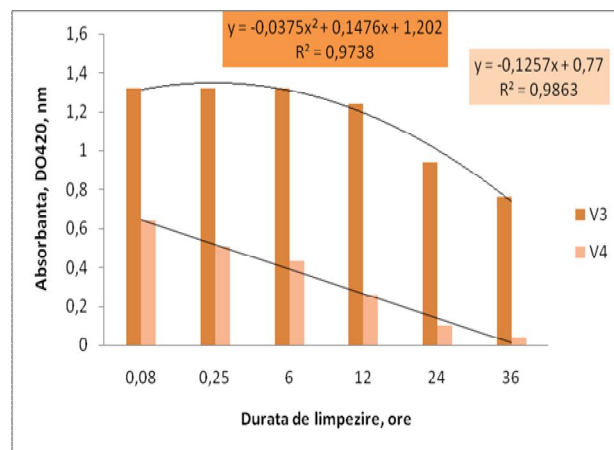
**Figura 5.24.** Dinamica procesului de limpezire a mustului ravac sub influența enzimelor de macerare (V1-must ravac limpezit prin sedimentare statică, V2-must ravac limpezit cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc (2g/100kg struguri)

Nu același lucru se întâmplă cu mustul care provine din strugurii tratați cu preparat enzimatic (V2). Pectinazele exogene își încep repede acțiunea, astfel că faza enzimatică și cea electrostatică a sedimentării sunt mult scurtate, iar numărul particulelor care pot sedimenta la un moment dat este mai mare. De aceea variația volumului de sediment în timp, pentru mustul tratat enzimatic, este mai mare, ea fiind însoțită de o limpiditate foarte bună prezentând o absorbantă de  $DO_{420nm} = 0,124$ .

În cazul mustului de presă, încărcătura acestuia în particule mecanice este mai mică, ele fiind în cea mai mare parte reținute în bostină, care se comportă ca un mediu filtrant. Deci particulele responsabile de opalescența mustului, sunt cele coloidale.



**Figura 5.25.** Dinamica procesului de sedimentare a mustului de presă sub influența enzimelor de macerare (V3-must de presă limpezit prin sedimentare statică, V4-must de presă limpezit cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc (2g/100kg struguri)



**Figura 5.26.** Dinamica procesului de limpezire a mustului de presă sub influența enzimelor de macerare (V3-must de presă limpezit prin sedimentare statică, V4-must de presă limpezit cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc (2g/100kg struguri)

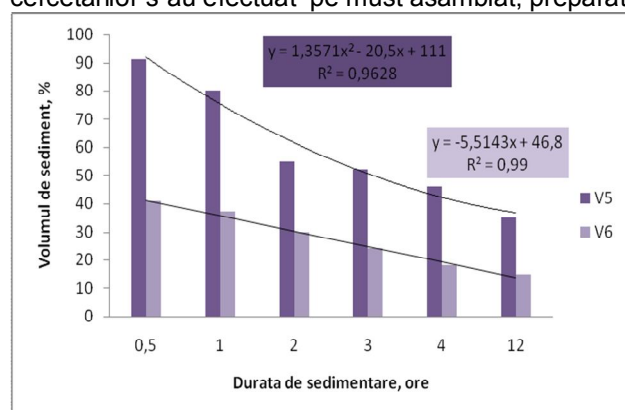
Din analiza figurii 5.25 se observă că în primele 12 ore la mustul martor (V3) nu se semnalează nici apariția de sediment, nici o modificare semnificativă a limpidității, mustul rămânând foarte opal. În următoarele 12 ore se semnalează o depunere de sediment, de 1,2 %, pe seama particulelor mecanice care reușesc să se depună, fără însă a fi însoțită de o limpezire evidentă, mustul fiind în continuare opal. Pe parcursul următoarelor 12 ore, grosimea sedimentului crește pe seama depunerii de noi particule, iar limpiditatea se mai îmbunătățește, opalescența finală a acestui must fiind de  $DO_{420nm} = 0,512$ , rămâne constantă până când mustul intră în fermentare. Mustul de presă tratat enzimatic (V4), are însă o evoluție remarcabilă. Încărcătura mustului de presă în substanțe pectice, este superioară mustului ravac, deci enzimele pectolitice au substratul asupra căruia să acționeze, destabilizând astfel complexul coloidal responsabil de opalescența și încărcătura în suspensii a acestei fracțiuni de must. Deși acțiunea enzimelor pectolitice exogene nu se remarcă chiar din primele minute (ca la mustul ravac), formarea de sediment este evidentă, iar scăderea volumului acestuia este însoțită și de creșterea limpidității.

Astfel după 12 ore, volumul sedimentului este constant, iar limpiditatea este practic cea finală  $DO_{420nm} = 0,128$  (fig. 5.26). Se observă că preparatele enzimatice induc de fapt ca durata de limpezire a mustului de presă și cel ravac să fie practic aceeași, efectul de limpezire fiind foarte mare, întotdeauna superior martorilor.

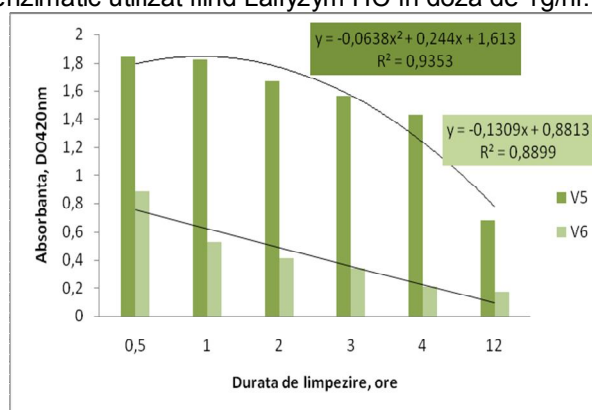
Depozitul rezultat este întotdeauna compact și bine diferențiat de fracțiunea lichidă. Volumul depozitului depinde de linia tehnologică folosită și de doza de enzime de macerare utilizate.

### 5.3.3.2. Dinamica proceselor de sedimentare și limpezire a mustului sub acțiunea enzimelor de limpezire

Pentru a studia derularea sedimentării și limpezirii mustului sub acțiunea preparatelor enzimatice de limpezire, cercetărilor s-au efectuat pe must asamblat, preparatul enzimatic utilizat fiind Lallyzym HC în doză de 1g/hl.



**Figura 5.27.** Dinamica procesului de sedimentare a mustului asamblat sub influența enzimelor de limpezire (V5-must asamblat limpezit prin sedimentare statică, V6-must asamblat limpezit cu enzime de limpezire Lallyzyme HC -1 g/hl)



**Figura 5.28.** Dinamica procesului de limpezire a mustului asamblat sub influența enzimelor de limpezire (V5-must asamblat limpezit prin sedimentare statică, V6-must asamblat limpezit cu enzime de limpezire Lallyzyme HC -1 g/hl)

Din analiza figurii 5.27 se observă în cazul mustului martor (V5), o sedimentare mai evidentă a particulelor care se înregistrează după cca. 2 ore, are un efect de limpezire total nesatisfăcător.

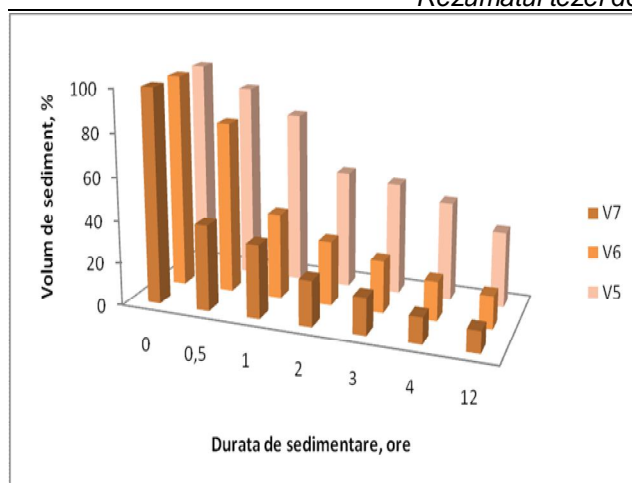
Considerând sedimentarea încheiată când volumul de sediment este practic constant, deci după 12 ore, limpiditatea acestui must  $DO_{420nm} = 0,665$ , este net inferioară mustului tratat enzimatic, a cărui  $DO_{420nm} = 0,229$ .

În cazul mustului tratat enzimatic se constată o corespondență directă între viteza de sedimentare și cea de limpezire, astfel că după 4 ore procesul de limpezire a mustului sub acțiunea enzimelor pectolitice exogene poate fi încheiat (fig. 5.28).

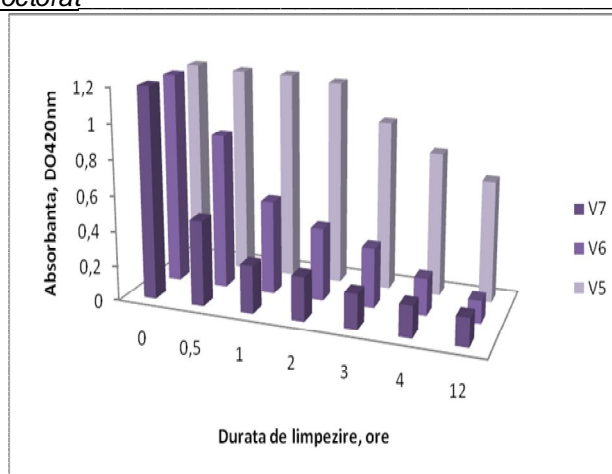
### 5.3.3.3. Influența modului de utilizare a enzimelor asupra limpezirii mustului

Limpezirea mustului se obține atât prin utilizarea enzimelor de macerare cât și a celor de limpezire, dar dinamica acestui proces diferă, datorită momentului adăugării lor cât și datorită compoziției distincte a acestor preparate enzimatice. Întrucât enzimele de macerare se adaugă pe mustuală sau chiar pe struguri, durata de contact dintre enzimă și substrat este mai mare decât în cazul folosirii enzimelor de limpezire, deoarece acestea se adaugă direct în must. Atunci când se folosesc enzime de macerare, faza hidrolizei enzimatice a pectinelor se desfășoară practic în timpul zdrobirii strugurilor (când enzimele se adaugă pe struguri), în timpul scurgerii mustului și presării (când enzimele se adaugă în mustuală), astfel că în timpul operației de deburbare are loc numai faza de floclare și cea de sedimentare a particulelor aflate în suspensie.

Din analiza figurii 5.29 se observă că deja după 30 minute de deburbare, în cazul folosirii enzimelor de macerare (V7), volumul sedimentului a scăzut la 40%. În același interval de timp, prin folosirea enzimelor de limpezire (V6), volumul sedimentului a scăzut la 80%, ceea ce denotă că faza hidrolizei enzimatice a pectinelor nu s-a finalizat.



**Figura 5.29.** Influența modului de adăugare a enzimelor asupra sedimentării mustului (V5-must asamblat limpezit prin sedimentare statică, V6-must asamblat limpezit cu enzime de limpezire Lallzyme HC -1 g/hl, V7- must asamblat limpezit cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/hl) cu enzime adăugate în mustuială)



**Figura 5.30.** Influența modului de adăugare a enzimelor asupra limpezirii mustului (V5-must asamblat limpezit prin sedimentare statică, V6-must asamblat limpezit cu enzime de limpezire Lallzyme HC -1 g/hl, V7- must asamblat limpezit cu enzime de macerare Lallzyme Cuveé Blanc (2 g/hl) cu enzime adăugate în mustuială)

Dacă în cazul utilizării enzimelor de macerare, după aproximativ o perioadă de 3 ore procesul de sedimentare și limpezire poate fi considerat încheiat, în cazul utilizării enzimelor de limpezire aceasta se întâmplă abia după o perioadă de 12 ore.

Însă după acest interval de timp de 12 ore limpiditatea mustului V6 ( $DO_{420nm} = 0,129$ ), este mai avansată decât cea a mustului V7 ( $DO_{420nm} = 0,160$ ), care este mai bogat în compuși ce contribuie la opalescență dar și la extractul acestei fracțiuni de must, deoarece preparatele de macerare conțin enzime "de extracție" a compușilor din bob în must, ele având pe lângă enzime pectolitice și celulaze, hemicelulaze etc. (fig. 5.30).

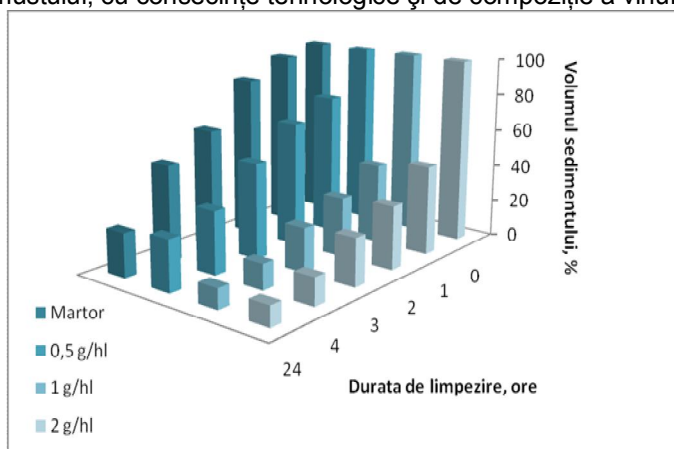
#### 5.3.3.4. Influența dozelor de enzime asupra dinamicii limpezirii mustului

Preparatele enzimatice de macerare a strugurilor sau de limpezire a musturilor, se folosesc în doze ce variază între 1 și 4 g/100 kg struguri sau hl must, în funcție de natura și particularitățile preparatului enzimatic.

Astfel prin mărirea dozei de enzime, crește viteza de sedimentare și implicit cea de limpezire a mustului (fig. 5.31), deoarece același conținut de substanțe pectice, deci de substrat, este scindat de o doză mare de enzime. Cu toate acestea, prin mărirea dozei peste limita maximă indicată de 1g/hl, efectul rămâne constant, deoarece substratul existent este acoperit de cantitatea echivalentă de enzime, și nu mai există altul care să poată fi hidrolizat de excesul de enzime adăugat.

Alegerea dozelor de enzime trebuie judicios stabilită în funcție de mai mulți factori: tipul preparatului enzimatic, conținutul strugurilor și mustului în substanțe pectice și efectul de limpezire dorit.

Astfel, folosirea unor doze prea mari de enzime de macerare va determina o macerare prea avansată a strugurilor și mărirea volumului burbelor. Folosirea unor doze prea mari de enzime de limpezire poate determina o limpezire prea avansată a mustului, cu consecințe tehnologice și de compoziție a vinului ce decurg implicit.



**Figura 5.31.** Influența dozelor de preparate enzimatice de limpezire asupra dinamicii limpezirii mustului

### 5.3.4. Concluzii parțiale

- Dinamica procesului de limpezire a mustului este influențată de mai mulți factori precum natura și cantitatea compușilor coloidal din must, care depinde de soiul de struguri, gradul lor de coacere și de tehnologia de vinificare primară folosită, spectrul enzimelor ce intră în componența preparatelor enzimatice cât și modul de adăugare a enzimelor și dozele utilizate.
- Mustul obținut din soiuri bogate în pectine, precum și musturile de presă, mai ales cele de la preșele continue, conțin cantități mari de coloizi pectici, ce ridică probleme de limpezire prin metodele clasice, care se pot transmite vinului.
- Preparatele ce conțin cantități mai mari de poligalacturonaze și pectinliaze, realizează mai rapid degradarea substanțelor pectice.
- Enzimele de macerare realizează o extracție mai avansată a compușilor structurali din bob, în must, iar adăugarea lor pe struguri permite mărirea timpului de contact între enzimă și substrat și deci mărirea vitezei de sedimentare și limpezire a mustului.
- Prin mărirea dozelor de enzime, viteza de sedimentare și gradul de limpezire crește. O limpezire prea avansată a mustului nu este de dorit datorită întârzierii intrării în fermentație a mustului, perturbarea derulării fermentației alcoolice și scăderii extractivității și corpolenței vinurilor rezultate.
- Stabilirea modului de utilizare a preparatelor enzimatice și a dozelor necesare pentru limpezirea mustului, se va face ținând cont de: tipul preparatului enzimatic (de macerare sau de limpezire) și scopul urmărit optimizarea strict a limpezirii mustului, caz în care se recomandă enzime de limpezire sau îmbunătățirea limpezirii mustului și a calității vinurilor rezultate, situație în care se recomandă folosirea enzimelor de macerare.
- A fost elaborată o schema tehnologică optimizată pentru producerea vinurilor albe aromate de calitate în podgoria Murfatlar din struguri Muscat Ottonel.

## CAPITOLUL 6. STUDII PRIVIND UTILIZAREA TULPINILOR DE DROJDII SELECȚIONATE LA ELABORAREA VINURILOR ALBE AROMATE DE CALITATE

### 6.1. Studiu privind comportamentul drojdiilor selecționate și a celor din microflora epifită în condiții aerobe de cultivare

**6.1.1. Oportunitatea studiului.** Scopul cercetărilor întreprinse în condiții de laborator, a fost de a studia principalele efecte ale utilizării diferitelor tulpini de drojdii selecționate, asupra multiplicării celulelor de drojdie cât și studiul asupra stabilității celulelor de drojdie. Multiplicarea și stabilitatea celulelor de drojdii a fost cuantificată prin: studiul dinamicii de multiplicare a drojdiilor în condiții asincrone; parametrii cinetici de multiplicare: numărul de generații, viteza de multiplicare, timpul de dublare a biomasei; biomasă substanță uscată, g substanță uscată/100 ml mediu fermentativ; gradul de autoliză a celulelor, %Na/Nt

### 6.1.2. Materiale și metode de analiză

**Strugurii materie primă, materialele auxiliare și variantele tehnologice utilizate.** Pentru realizarea acestui studiu, materie primă au fost strugurii din soiul Muscat Ottonel, culeși manual din podgoria Murfatlar, în anul 2010. S-au utilizat trei tulpini de drojdii selecționate din specia *Saccharomyces cerevisiae* sub formă de preparate comerciale provenind de la trei firme diferite, folosite pe plan mondial pentru soiul Muscat Ottonel.

Toate sunt caracterizate în fișele tehnice ca fiind drojdii ce generează metaboliți de fermentare cu arome plăcute florale sau de fructe exotice.

Codificarea celor 3 tulpini de drojdii utilizate în studiu este prezentată în tabelul 6.1.

**Tabelul 6.1.** Codificarea tipurilor de drojdie utilizate la fermentație

Nr. crt.	Tipul de drojdie	Codificare
1	Fermactive Muscat	D1
2	Lalvin QA 23	D2
3	Fermicru AR2	D3

**Fermactive Muscat (D1)** este o drojdie destinată obținerii vinurilor cu grad alcoolic înalt (16-17% vol.). Evidențiază expresia olfactivă tipică fructelor coapte. Întrucât manifestă o capacitate fermentativă superioară în condiții tehnologice restrictive (34 °C și 17 % vol. alc.), această drojdie se recomandă la obținerea vinurilor cu un conținut redus în acizi volatili. Celulele sale au capacitatea de a forma agregate ce facilitează limpezirea și filtrabilitatea vinului, chiar după câteva zile de la finalizarea fermentației alcoolice.

Permite obținerea de rezultate excelente în cazul musturilor bogate în zaharuri, cum sunt cele obținute din recolte supramaturate specifice soiurilor din gama Muscat și din alte soiuri aromate culese la supramaturare. Prin metabolismul său, asigură obținerea de vinuri cu un conținut ridicat în glicerol (6,3-7,3 g/l), cu un caracter olfactiv foarte accentuat și rafinat și un caracter gustativ onctuos și persistent. Doza recomandată este de 25 g/hl must.



**Lalvin QA 23 (D2)** este un preparat de drojdii uscate selecționate *Saccharomyces cerevisiae*. Preparatul prezintă caracter killer față de tulpinile indigene cu efecte nedorite. Temperatura optimă de fermentare a drojdiei este 15-32 °C, drojdia fiind capabilă să fermenteze și musturi din struguri cu un conținut redus în nutrienți precum cele filtrate sau centrifugate. Această drojdie nu produce spumă în timpul fermentării și sedimentează ușor după finalizarea fermentației alcoolice.

Este o drojdie destinată obținerii vinurilor cu grad alcoolic înalt (13-14% vol.), în timpul fermentației alcoolice ducând la acumulări de cantități mici de SO<sub>2</sub> și H<sub>2</sub>S, o aciditate volatilă redusă 0,2 g/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> și foarte puțini metaboliți secundari. Această drojdie produce în timpul fermentării cantități însemnate de β glucozidază care permite eliberarea terpenelor legate la soiurile Muscat, eliberând mai multe arome specifice de soi. Doza recomandată este de 25 g/hl must.

**Fermicru AR2 (D3)** este o drojdie *Saccharomyces cerevisiae* destinată obținerii vinurilor cu grad alcoolic ridicat(13-14%), care prezintă caracter killer față de tulpinile de drojdii sălbatice din must. Temperatura optimă de fermentare a drojdiei este 12-24 °C.

Această drojdie nu produce spumă în timpul fermentării și sedimentează ușor după finalizarea fermentației alcoolice. În timpul fermentației alcoolice se acumulează cantități reduse de SO<sub>2</sub> și H<sub>2</sub>S, o aciditate volatilă redusă 0,2 g/l CH<sub>3</sub>COOH și foarte puțini metaboliți secundari. Producție ridicată de esteri aromatici, în particular fenil etil acetat (trandafir, miere) și glicerol 4-6 g/l. Doza recomandată este de 20 g/hl must.

#### **Condiții de cultivare a drojdiilor pentru evaluarea parametrilor cinetici de multiplicare**

În vederea evaluării parametrilor cinetici de multiplicare, inițial drojdiile au fost reactivitate pe must proaspăt de struguri din soiul Muscat Ottonel, cu o concentrație în zaharuri de aproximativ 190 g/l și un pH = 3,5, în culturi pe agitator la 200 rpm, la o temperatură de 25 °C pe o perioadă de timp de 24 de ore.

Volumele transferate în mediile de fermentare au fost calculate în așa fel încât concentrația inițială de celule de drojdii să fie de  $1 \times 10^7$  celule viabile/ml.

Pentru evaluarea parametrilor cinetici de multiplicare, în damigene de 10 litri se aduce un volum de 8 litri must proaspăt de struguri cu o concentrație în zaharuri de aproximativ 190 g/l și un pH = 3,5 și inoculul având o concentrație inițială de  $1 \times 10^7$  celule viabile/ml. Damigenele prevăzute cu dopuri din tifon pentru a favoriza accesul oxigenului sunt menținute la o temperatură de 25 °C timp de 48 de ore. Periodic agitarea damigenelor s-a realizat manual.

Numărul de celule viabile și viteza de multiplicare au fost evaluate după 6, 12, 24, 36 și 48 h. Testul de viabilitate a fost realizat prin numărarea directă a celulelor de drojdie viabile la microscop în prezența indicatorului albastru de metilen, cu ajutorul camerei Thoma. Metoda se bazează pe capacitatea drojdiilor viabile de a reduce indicatorul redox din forma oxidată (albastru), în forma redusă (leuco-derivat incolor). Astfel celulele viabile vor apare la microscop necolorate sau foarte slab colorate, iar celulele neviabile vor fi colorate în albastru.

**Numărarea cu camera Thoma.** Celulele de drojdii se pot număra prin examen microscopic direct, cu ajutorul citometrelor. Un citometru este o lamă de sticlă groasă, prevăzută cu trei platforme separate între ele prin rigole în sticlă. Platforma centrală este denivelată față de celelalte două cu o înălțime de 0,1 - 0,2 mm (înscrisă pe fiecare cameră). Pe platforma centrală este gravată o rețea de linii perpendiculare, care delimitează o anumită suprafață divizată de către linii perpendiculare în microcelule de formă pătratică (pătrățele elementare). Diferențierea dintre tipurile de citometre constă în mărimea variabilă a suprafeței unui pătrățel elementar.

În cazul citometrului Thoma, suprafața de 1 mm<sup>2</sup> este divizată în 400 de pătrățele elementare cu latura de 1/20 mm. Numărul de celule prezente într-un cm de suspensie de analizat se determină cu formula:

$$N = n \cdot 4 \cdot 10^6 \cdot d$$

în care: n - este numărul mediu de celule pe un pătrățel elementar; d - coeficient de diluție.

#### **Calculul parametrilor cinetici de multiplicare a drojdiilor**

În funcție de particularitățile creșterii și reproducerii celulelor microbiene se poate stabili dinamica de creștere prin numărul de celule sau prin studiul vitezei de acumulare a biomasei în raport cu unitatea de volum a mediului.

În tabelul 6.2 sunt prezentați parametrii cinetici de evaluare a multiplicării drojdiilor în faza exponențială de creștere.

**Tabelul 6.2. Parametrii cinetici de evaluare a multiplicării drojdiilor**

Parametru	Notăție	Unitate de măsură	Calcul
Numărul de generații, număr de celule pe unitate de volum	n	UFC/mL	$n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2}$
Viteza de multiplicare, viteza specifică de creștere	μ	h <sup>-1</sup>	$\mu_m = \frac{\ln N - \ln N_0}{t - t_0}$
Timpul în care se realizează dublarea populației, timpul de dublare	t <sub>g</sub>	h	$t_g = \frac{0,693}{\mu}$

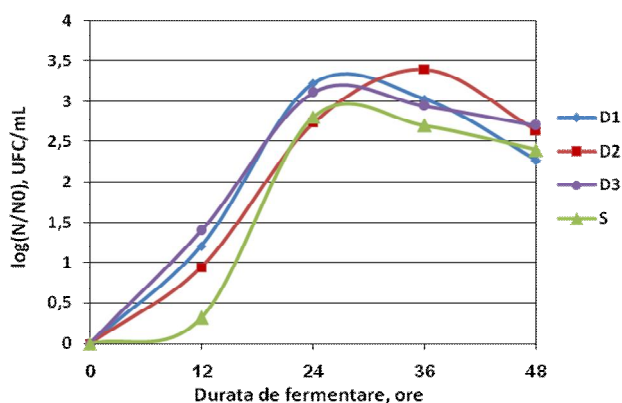
În tabelul 6.3. sunt prezentate variantele experimentale la nivel de laborator:

**Tabelul 6.3.** Variantele tehnologice realizate pentru studiul comportamentului tulpinii de drojdie în condiții aerobe de cultivare

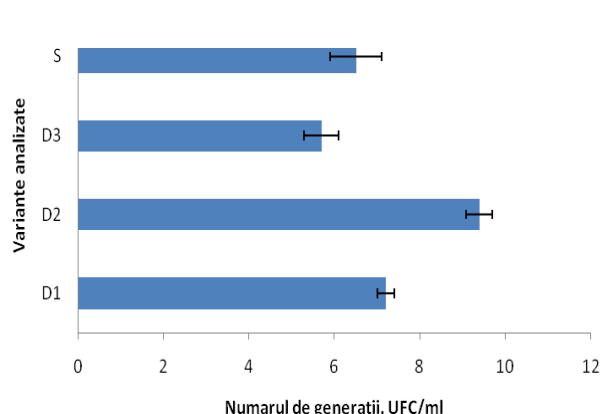
Varianta	Variante tehnologice
Varianta 1 (V1)	must fermentat spontan, sub acțiunea microflorei epifite S
Varianta 2 (V2)	must fermentat cu drojdii selecționate D1
Varianta 3 (V3)	must fermentat cu drojdii selecționate D2
Varianta 4 (V4)	must fermentat cu drojdii selecționate D3

### 6.1.3. Rezultate și discuții

În figura 6.1. este prezentată curba de multiplicare a tulpinilor de drojdii selecționate D1, D2 și D3 cât și a drojdiilor din microflora epifită S. Durata de monitorizare a multiplicării drojdiilor a fost de 48 de ore. Curba tipică de dezvoltare (fig. 6.1) comportă următoarele faze: faza de latență, faza de pomire a creșterii, faza de creștere exponențială, faza de încetinire a creșterii și faza staționară de creștere. Celulele care au fost inoculate se aflau în faza activă de creștere, motiv pentru care adaptarea constând în faza de latență a fost relativ redusă.



**Figura 6.1.** Dinamica multiplicării drojdiilor prin cultivare submersă



**Figura 6.2.** Numărul de generații determinat pentru drojdiile studiate

Celulele au început să se multiplice cu viteză din ce în ce mai mare atingând o valoare maximă a vitezei de multiplicare  $\mu_{max}$  pentru condițiile specifice în care se desfășoară procesul fermentativ.

Din punct de vedere matematic faza exponențială de creștere poate fi descrisă prin două metode: o metoda ce ia în calcul cantitatea de biomasă și o a doua metodă ce ține cont de numărul de celule (Waites și colab., 2001). Cunoscând numărul de celule la începutul fazei exponențiale ( $N_0$ ) și cel de la finalul acesteia ( $N_t$ ) se poate calcula *numărul de generații* ( $n$ ) conform relației 6.1:

$$N = N_0 \cdot 2^n \quad (6.1)$$

Din ecuația 6.1. se poate calcula *numărul de diviziuni* aplicând logaritmul natural:

$$n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2} \quad (6.2)$$

Cunoscând perioada de timp corespunzătoare fazei exponențiale de creștere ( $t$ ) și numărul de generații ( $n$ ) se poate calcula  *timpul de dublare a populației* (conform ecuației 6.3):

$$t_g = \frac{t}{n} = \frac{t \cdot \ln 2}{\ln N - \ln N_0} \quad (6.3)$$

În timpul fazei exponențiale de creștere există o legătură directă între numărul de celule și concentrația de biomasă. Aceasta din urmă crește după o ecuație exponențială de tip (6.4):

$$x = x_0 \cdot e^{\mu t} \quad (6.4)$$

Considerând  $t = t_g$  când  $x = 2 \cdot x_0$  ecuația 6.4 devine 6.5:

$$2x_0 = x_0 \cdot e^{\mu t_g} \quad (6.5)$$

Din ecuația 6.5 se poate stabili corelația dintre timpul de dublare a biomasei  $t_g$  și viteza specifică de creștere a celulelor  $\mu$  (6.6):

$$t_g = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,693}{\mu} \quad (6.6)$$

În faza exponențială de creștere  $\mu = \mu_{max}$  unde:

$\mu_{max}$  - viteza maximă de creștere a celulelor de drojdie,  $h^{-1}$ ;

Pe baza acestor calcule au fost obținute valorile corespunzătoare celor patru fermentații testate la nivel de laborator. Analizând datele se observă că numărul maxim de generații este de 7,20 pentru drojdia D1 (Fermactive Muscat), numărul de generații pentru drojdia D2 (Lalvin QA 23) a fost de 9,38 și mai redus pentru drojdiile D3 (Fermicru AR2). Drojdiile din microflora spontană au prezentat un număr de generații de 6,49.

O explicație pentru drojdiile a căror număr de generații a fost mai redus ar fi că adaptarea celulelor a fost mai lungă fapt susținut și de numărul de celule înregistrat în primele 12 h la jumătate față de celelalte variante analizate.

Numărul de generații calculat pentru drojdiile utilizate în experiment prezintă valori cuprinse între 5,68 în cazul drojdiei D3 (Fermicru AR2) și 9,38 în cazul drojdiei D2 (Lalvin QA 23) (figura 6.2).

Valoarea maximă a vitezei specifice de multiplicare  $\mu$  este atinsă în primele 24 h pentru variantele D1 (Fermactive Muscat), D3 (Fermicru AR2) și S în timp ce drojdia D2 (Lalvin QA 23) necesită aproximativ 36 h, probabil datorită faptului că aceste celule necesită un timp mai lung de separare, mobilizare și sinteză a compușilor necesari adaptării la mediul proaspăt în care pătrund.

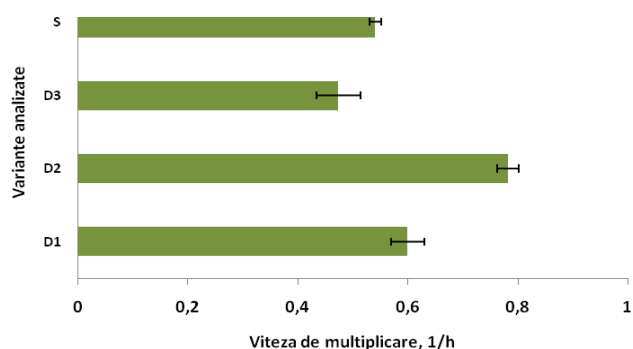


Figura 6.3. Viteza de multiplicare a drojdiilor studiate

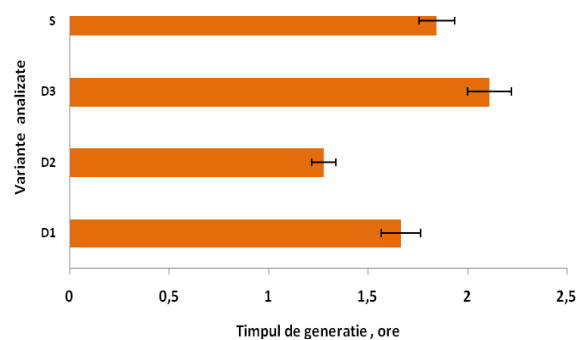


Figura 6.4. Timpul de generație determinat pentru drojdiile studiate

Cea mai mare viteză de multiplicare, a prezentat-o drojdia D2 (Lalvin QA 23), iar cea mai mică viteză de multiplicare s-a obținut în cazul drojdiei D3 (Fermicru AR2) (figura 6.3).

Evoluția timpului de dublarea a biomasei se corelează perfect cu rezultatele obținute anterior, ceea ce exprimă fidelitate acestora (figura 6.4).

Astfel, se observă că valorile cele mai bune ale parametrilor cinetici de multiplicare sunt cele obținute pentru drojdia D2 (Lalvin QA23) urmată de D1 (Fermactive Muscat). Pentru tulpina de drojdie D2 (Lalvin QA23), numărul de generații a fost 9,38 viteza specifică de creștere  $0,78 \text{ (h}^{-1}\text{)}$ , iar timpul de dublare a biomasei 1,27 (h). Parametrii cinetici de multiplicare a drojdiilor cu valorile cele mai mici au fost obținute în cazul drojdiei D3 (Fermicru AR2), iar valorile cele mai bune pentru parametrii cinetici au fost obținute în cazul drojdiilor D2 (Lalvin QA 23) și D1 (Fermactive Muscat). Prin studiul stabilității metabolice a drojdiilor (figura 6.5), se observă că cel mai redus grad de autoliză cu o valoare de 70,37%, după 48 de ore de la începutul fermentației alcoolice se obține la drojdia D1 (Fermactive Muscat), urmată de D2 (Lalvin QA 23) și D3, diferențele dintre celelalte două drojdi D2 (Lalvin QA 23) și D3 (Fermicru AR2) fiind foarte mici. Gradul de autoliză cu valoarea cea mai mare după 48 de ore a fost înregistrat în cazul fermentației cu drojzii din microflora epifită a strugurilor.

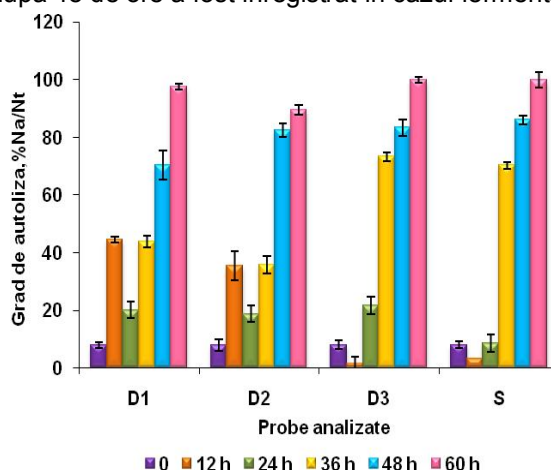


Figura 6.5. Stabilitatea metabolică a drojdiilor

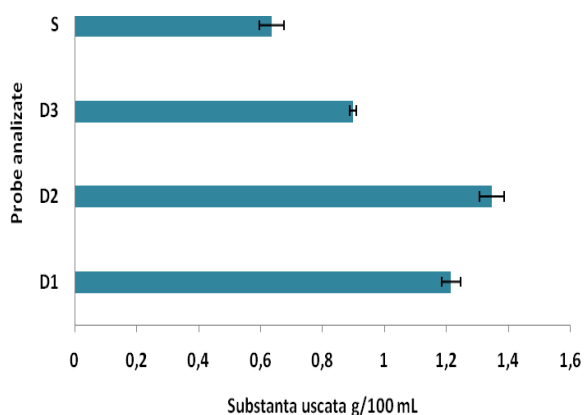


Figura 6.6. Cantitatea de biomasă substanță uscată



**Tabelul 6.5.** Variantele tehnologice realizate pentru studiul influenței tulpinii de drojdie la vinificarea strugurilor din soiul Muscat Ottonel

Varianta	Variante tehnologice
Varianta 1 (V1)	must fermentat spontan, sub acțiunea microflorei epifite S
Varianta 2 (V2)	must fermentat cu drojdii selecționate D1
Varianta 3 (V3)	must fermentat cu drojdii selecționate D2
Varianta 4 (V4)	must fermentat cu drojdii selecționate D3

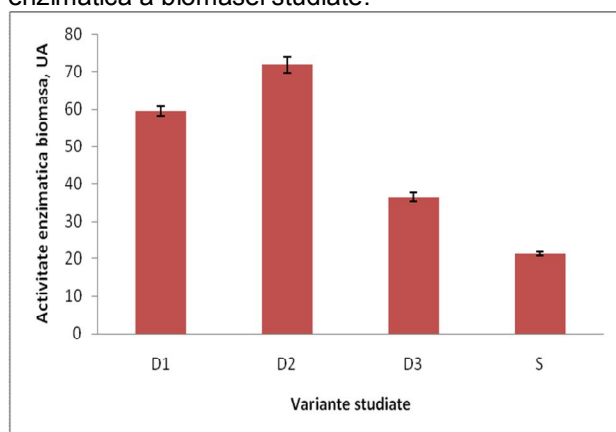
**Dozarea glucozei-glicozilate.** Dozarea cantitativă a glucozei glicozilate s-a realizat în trei etape și anume prima dată se trece eșantionul de vin printr-un cartuș C18 (Williams și colab., 1995; Williams și Francis, 1996; Sanchez Palomo și colab., 2006). Este vorba despre o cromatografie de separare în faza inversă unde eluția se realizează cu etanol. Glucozele-glicozilate separate se hidrolizează printr-o hidroliză acidă în prezența acidului sulfuric și la cald (70-80°C) care permite eliberarea moleculelor de glucoză. Glucoza eliberată se dozează prin metoda enzimatică.

**Determinarea glucozei prin metoda enzimatică.**

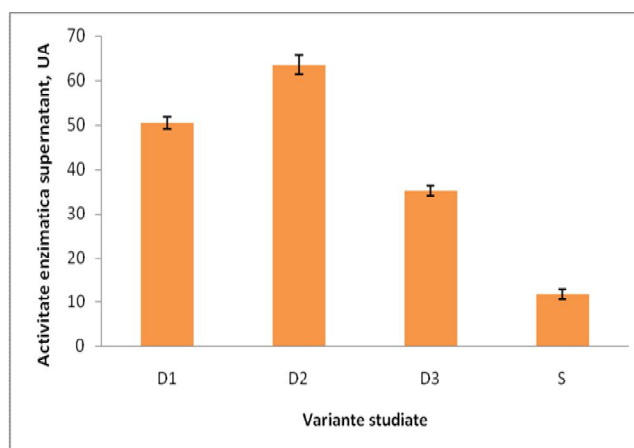
### 6.2.3. Rezultate și discuții

#### 6.2.3.1. Determinarea activității $\beta$ -glucozidazice a drojdiilor

Au fost testate mai multe tulpini de drojdii selecționate din punct de vedere al prezenței și intensității activității  $\beta$ -glucozidazice. S-a constatat că activitatea  $\beta$ -glucozidazică este prezentă în proporții inegale în supernatant cât și în biomasă. În toate situațiile studiate activitatea enzimatică a supernatantului a fost mai mică decât activitatea enzimatică a biomasei studiate.



**Figura 6.7.** Activitatea  $\beta$ -glucozidazică intracelulară în funcție de tulpina de drojdie



**Figura 6.8.** Activitatea  $\beta$ -glucozidazică extracelulară în funcție de tulpina de drojdie

În urma studiului efectuat în cazul biomasei și a supernatantului, s-a constatat că cea mai puternică activitate  $\beta$ -glucozidazică prezintă tulpina D2 (Lalvin QA 23), urmată de D1 (Femactive Muscat), D3 (Fermicru AR2) și în final S (drojdiile din microflora spontană), după cum se observă în graficele din figurile 6.7 și 6.8.

Din figurile 6.7 și 6.8 se observă că tulpina de drojdie D2 a avut o activitate enzimatică  $\beta$  glucozidazică intracelulară și extracelulară ridicată de 71,8 UA și respectiv 63,4 UA.

Activitatea  $\beta$  glucozidazică intracelulară a tulpinilor D1, D3 și S a fost cu 17,2%, 49,5% și respectiv cu 70,4% mai redusă decât activitatea  $\beta$  glucozidazică intracelulară a drojdiei D2. Activitatea  $\beta$  glucozidazică extracelulară pentru tulpinile de drojdii D1, D2, D3 și S a fost cu 15,2%, 11,7%, 3,5% și respectiv 44,9% mai reduse, decât activitățile enzimatică  $\beta$  glucozidazice intracelulare. Din datele prezentate se observă că cea mai mare putere de exorbție a prezentat-o drojdia D3, lucru extrem de util în vinificație. Cea mai redusă putere de exorbție a enzimelor a fost înregistrată pentru drojdiile din microflora spontană S.

#### 6.2.3.2. Evaluarea impactului tulpinii de drojdie asupra hidrolizei glucozei-glicozilate G-G

După finalizarea fermentației alcoolice, care a durat în jur de 15 zile s-a determinat cantitatea de precursori de arome prin cuantificarea cantității de glucoză glicozilată. Rezultatele care reprezintă cantitatea de glucoză glicozilată relativă (%) sunt prezentate în figura 6.9. Analiza cantitativă a precursorilor de aromă determinați atât înainte cât și la sfârșitul fermentației alcoolice a mustului de struguri cu tulpina de drojdie D2, demonstrează că aceasta exercită o capacitate de hidroliză foarte puternică comparativ cu celelalte tulpini de drojdie.

Pentru obținerea unor vinuri aromate de calitate trebuie să se adopte o strategie de procesare corespunzătoare și anume: tulpina de drojdie selecționată pentru caracterul fermentativ și odorant trebuie să prezinte capacitate ridicată de a hidroliza macromoleculele de G-G; hidroliza enzimatică sub acțiunea drojdiilor, poate atinge maxim 50% din conținutul existent de precursori de arome G-G. Din acest motiv se impune utilizarea culturilor starter de drojdii selecționate ce asigură intensificarea caracterului olfactiv aromat prin creșterea conținutului de molecule odorante.

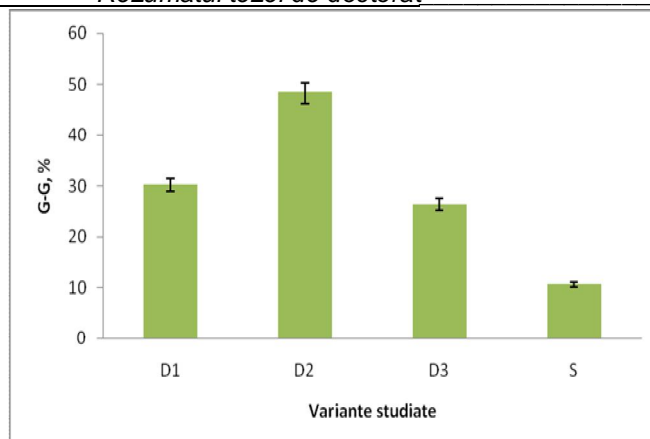


Figura 6.9. Impactul tulpinii de drojdie asupra hidrolizei G-G

#### 6.2.4. Concluzii parțiale

- Activitatea  $\beta$  glucozidazică intracelulară pentru tulpinile de drojdii studiate, a fost mai mare decât activitatea  $\beta$  glucozidazică extracelulară.
- Prezența activității  $\beta$ -glucozidazice este în funcție de tulpina de drojdie utilizată, iar drojdia D2 (Lalvin QA 23) prezintă importanță pentru activitatea sa  $\beta$ -glucozidazică.
- Unele tulpini ale drojdiei *Saccharomyces cerevisiae* testate sunt capabile să hidrolizeze macromoleculele de G-G prezente în mustul de struguri în cursul fermentației alcoolice, deoarece prezintă activități enzimice  $\beta$ -glucozidazice.

#### 6.3. Sinergia dintre culturile de drojdii selecționate și preparatele enzimatiche cu activitate $\beta$ glucozidazică

**6.3.1. Oportunitatea studiului.** Preparatele enzimatiche cu activitate enzimatică  $\beta$ -glucozidazică sunt obținute cu precădere din mucegaiul *Aspergillus niger* (Cabaroglu și colab., 2003). Selecția tulpinii de *Aspergillus niger* necesară producerii de  $\beta$ -glucozidaze este o etapă importantă la obținerea de preparate enzimatiche echilibrate, folosite la eliberarea compușilor aromatici (odoranți) din macromoleculele de G-G (Spagna și colab., 1998).

Tratamentul cu preparate enzimatiche exogene permite hidroliza glucozei glicozilate. Experimentele efectuate au demonstrat că intensitatea hidrolizei enzimatiche depinde atât de soi cât și de eficacitatea preparatului enzimatic utilizat (Park, 1996).

În general, proporția diferitelor glucozide variază în funcție de condițiile climaterice, de poziția geografică a arealului viticol și de starea de maturitate a recoltei (Colagrande și colab., 1994, Maicas și Mateo, 2005). Rezultatele demonstrează că  $\beta$ -D-glucozidazele provenite de la drojdiile *Saccharomyces cerevisiae* nu sunt inhibitate de către glucoză. În schimb, stabilitatea acestor enzime la pH coborât este limitată. Datorită acestui inconvenient legat de valoarea pH-ului mustului aflat în fermentație, a apărut ideea de a studia dacă există o acțiune sinergică între activitatea  $\beta$ -glucozidazică a unei tulpini de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* și aceeași activitate a unui preparat enzimatic exogen. Scopul acestui studiu a fost de a evidenția existența unui sinergism între activitatea enzimatică  $\beta$  glucozidazică a drojdiilor și preparatele enzimatiche cu activitate enzimatică  $\beta$  glucozidazică.

#### 6.3.2. Materiale și metode de analiză

**Struguri, drojdii, preparate enzimatiche și variantele tehnologice utilizate.** Pentru realizarea acestui studiu, ca materie primă s-au folosit struguri din soiul Muscat Ottonel, culeși manual din podgoria Murfatlar în anul 2010. În tabelul 6.6. sunt prezentate variantele experimentale și tehnologia de vinificație aplicată pentru obținerea acestora la nivel de microvinificație. Toate variantele au avut în comun adaosul de dioxid de sulf în concentrație de 50 mg SO<sub>2</sub>/l aplicat pe mustul la macerare, deburbarea gravitațională și sulfitearea cu 50 mg SO<sub>2</sub>/l după încheierea fermentației alcoolice.

Tabelul 6.6. Variantele tehnologice realizate pentru studiul influenței utilizării unor produse oenologice la vinificarea strugurilor din soiul Muscat Ottonel

Varianta	Variante tehnologice
Varianta 1 (V1)	Vinificare cu macerare 6 ore, deburbare gravitațională, fermentare spontană
Varianta 2 (V2)	Vinificare cu macerare enzimatică (Lalzyme Cuve Blanc, 2 g/hl) 6 ore, deburbare gravitațională, fermentare spontană și adaos de Lalzyme $\beta$ imediat după finalizarea fermentației alcoolice (5 g/hl)
Varianta 3 (V3)	Vinificare cu macerare enzimatică (Lalzyme Cuve Blanc, 2 g/hl) 6 ore, deburbare gravitațională, fermentare cu drojdie D1 (20 g/hl), și adaos de Lalzyme $\beta$ imediat după finalizarea fermentației alcoolice (5 g/hl)

Varianta 4 (V4)	Vinificare cu macerare enzimatică (Lallzyme Cuve Blanc, 2 g/hl) 6 ore, deburbare gravitațională, fermentare cu drojdie selecționată D2 (20 g/hl), și adaos de Lallzyme $\beta$ imediat după finalizarea fermentației alcoolice (5 g/hl)
Varianta 5 (V5)	Vinificare cu macerare enzimatică (Lallzyme Cuve Blanc, 2 g/hl) 6 ore, deburbare gravitațională, fermentare cu drojdie selecționată D3 (20 g/hl), și adaos de Lallzyme $\beta$ imediat după finalizarea fermentației alcoolice (5 g/hl)

Diferența dintre variante a fost modul de deburbare (gravitațional sau enzimatic-gravitațional) și utilizarea sau nu a unor tulpini de drojdii selecționate pentru realizarea fermentației alcoolice. Pentru fiecare variantă, experimentele s-au repetat de câte trei ori. Fiecare repetiție s-a realizat cu mustuală omogenă provenită din struguri de pe o singură parcelă. Pentru macerarea enzimatică s-a folosit un preparat enzimatic pectolitic, care prezintă și activitate enzimatică betaglucozidazică, Lallzyme Cuvee Blanc, produs ce a dat rezultate foarte bune atât în în practică cât și în testările anterioare. Pentru fermentare s-au folosit trei tulpini drojdii selecționate dintre cele mai folosite pe plan mondial pentru soiul Muscat Ottonel din specia *Saccharomyces cerevisiae* sub formă de preparate comerciale provenind de la trei firme diferite. Toate sunt caracterizate în fișele tehnice, ca fiind drojdii ce generează metaboliți de fermentare cu arome plăcute florale sau de fructe exotice.

Pentru eliberarea aromelor legate s-a utilizat preparatul enzimatic cu activitate  $\beta$  glucozidazică, Lallzyme Beta (Lallemmand Inc Quebec, Canada) imediat după finalizarea fermentației alcoolice.

Pentru evaluarea existenței unui sinergism între activitatea enzimatică  $\beta$  glucozidazică a drojdiilor și preparatele enzimatică cu activitate enzimatică  $\beta$  glucozidazică a fost dozată glucoza glicozilată prin metoda în trei etape descrisă în subcapitolul anterior.

#### **Identificarea și cuantificarea terpenelor libere conform subcapitolului 5.2.2.**

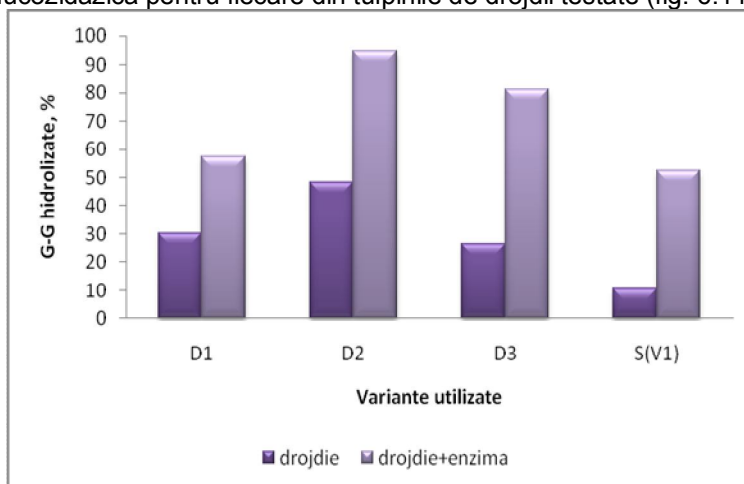
#### **Caracterizarea fizico-chimică a vinului se face conform subcapitolului 5.2.2.**

**Analiza senzorială a vinurilor.** Analiza senzorială a vinurilor a fost realizată de un panel format din 10 persoane 8 bărbați și 2 femei, toate persoanele fiind atestate ca degustători autorizați membri ai Asociației Degustătorilor Autorizați din România. În cazul vinurilor aromate descriptorii aleși pentru analiză au fost intensitatea olfactivă, calitatea purității aromatice, fructuozitate, caracter floral, caracter vegetal, caracter mineral, amăreala, intensitatea buchetului, onctuoșitate (rotunjime), echilibru gustativ, persistența gustativă. Punctajul maxim acordat a fost de 5 puncte pentru calificativul excelent, 4 puncte pentru calificativul foarte bine, 3 puncte pentru calificativul bine, 2 puncte pentru calificativul slab, 1 punct pentru calificativul insuficient.

#### **6.3.3. Rezultate și discuții**

##### **6.3.3.1. Efectul sinergic al tulpinii de drojdie și preparatului enzimatic cu activitate enzimatică $\beta$ glucozidazică asupra aromei vinului**

În figura 6.11 este reprezentat procentul de precursori de arome hidrolizat cu și fără adaos de preparat enzimatic cu activitate  $\beta$  glucozidazică. Rezultatele obținute demonstrează că adaosul de enzimă exogenă mărește activitatea  $\beta$ -glucozidazică pentru fiecare din tulpinile de drojdii testate (fig. 6.11).



**Figura 6.11.** Efectul corelativ al drojdiei și enzimei asupra hidrolizei glucozei glicozilate

Conținutul în terpeni libere crește și mai evident în cazul utilizării drojdiei QA 23 atunci când este asociată cu o enzimă de macerare și cu o enzimă cu activitate ridicată  $\beta$  glucozidazică.

Asocierea drojdiei QA 23, cu Lallzyme  $\beta$  (preparat enzimatic cu concentrații ridicate atât în glucozidazele ce acționează în prima etapă a mecanismului enzimatic cât și în  $\beta$ -glucozidaza ce acționează în a doua etapă a mecanismului enzimatic) determină creșteri spectaculoase ale concentrațiilor în terpenoli volatili.

Valorile analitice ale compușilor odoranți terpenici puși în libertate la soiul Muscat Ottonel, depind de natura drojdiei utilizată la fermentația alcoolică, dar și de conținutul în  $\beta$ -glucozidază al preparatului enzimatic utilizat la

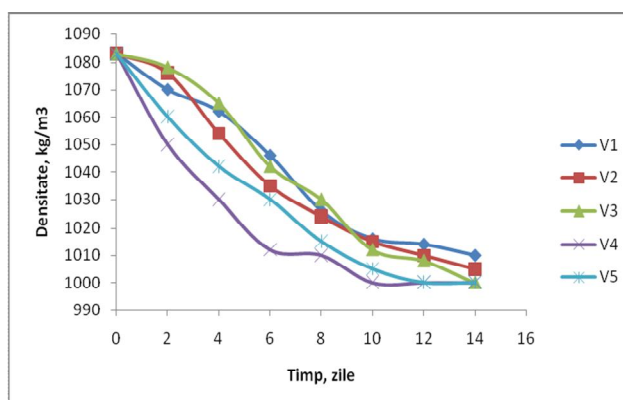
sfârșitul fermentației alcoolice (tabelul 6.7). Din analiza datelor din tabelul 6.7 se evidențiază următoarele aspecte: folosirea drojdiei Fermactive Muscat (D1) determină creșteri ale conținuturilor în terpenoli liberi la soiul Muscat Ottonel, care ajung până la cca. 40% pentru hotrienol, responsabil de aroma de floare de tei și zambilă; până la 74% în cazul linaloolului, responsabil de aroma de coriandru și floare de portocal și chiar până la 235% în cazul geraniolului, responsabil de aroma de trandafir și ceară.

**Tabel 6.7. Conținutul în agliconi eliberați pentru variantele studiate**

Compuși terpenici, $\mu\text{g/l}$	V1	V2	V3	V4	V5
Linalool	107,2	114,6	186,1	332,4	201,4
Hotrienol	91,6	104,1	128,3	155,6	125,1
$\alpha$ Terpinol	53,3	68,6	81,7	96,6	72,9
Citronelol	60,2	71,4	92,8	104,3	112,5
Nerol	urme	urme	69,5	129,5	54,7
Geraniol	31,6	61,6	106,2	267,2	127,1
Acid geranic	22,7	39,4	117,3	209,3	157,2
Total compuși terpenici	366,6	459,7	781,9	1294,9	850,9

### 6.3.3.2. Efectul tulpinilor de drojdie asupra dinamicii fermentației alcoolice

Alegerea drojdiei pentru fermentare trebuie judicios corelată cu durata fermentării. O fermentare prea lentă ar putea influența negativ vinul obținut prin declanșarea altor procese fermentative și îmbogățirea acestuia în compuși volatili nedoriti.



**Figura 6.12. Dinamica fermentației alcoolice a mustului pentru variantele studiate**

De asemenea, există situații atunci când datorită limpezirii prea severe a mustului se impune folosirea activatorilor de fermentare. Prin studierea dinamicii fermentației alcoolice a mustului fermentat în cele cinci variante s-a urmărit stabilirea modului în care tulpina de drojdie selecționată influențează derularea acestui proces fermentativ.

Diagramele cu evoluția densității mustului fermentat cu cele trei tulpini de drojdie sunt prezentate în figura 6.12. Din figura 6.12 se observă că fermentarea mustului limpezit enzimatic V2, sub acțiunea microflorei epifite, se declanșează mai târziu, de aceea în acest timp trebuie asigurată protecția antioxidantă a mustului, dar durează mai puțin decât la varianta V1. Fermentarea este mai liniștită și mai uniformă.

Atunci când se folosesc drojdii selecționate la variantele V3, V4 și V5 amorsarea fermentației este mult mai rapidă, iar durata de fermentare este mai scurtă. Aceasta nu se impune ca o consecință a utilizării limpezirii enzimatice, putând fi folosită doar pentru avantajele pe care o fermentație cu drojdii selecționate le poate aduce: temperaturi de fermentare mai scăzute, producerea de cantități mai mici de acizi volatili, spectrul diferit al produșilor secundari ai fermentației alcoolice responsabili de "aroma de fermentație", folosirea unor goluri de aer la fermentare mai mici datorită spumării mai reduse în timpul fazei de fermentație tumultuoasă etc.

### 6.3.3.3. Efectul tulpinilor de drojdie asupra calității vinurilor

Pentru a studia cum se reflectă utilizarea diferitelor tulpini de drojdie pentru fermentare, asupra compoziției fizico-chimice și senzoriale a vinurilor, s-au determinat principalii parametri fizico-chimici ai acestora (tabelul 6.8 și 6.9).

Analizând datele din tabel se observă că raportul de combinare a dioxidului de sulf este mai bun la variantele fermentate cu drojdii selecționate.

Conținutul de acizi volatili și de acetaldehidă au valori minime la variantele fermentate dirijate, pe seama particularităților de metabolism ale drojdiilor folosite. Prelucrarea statistică (analiza varianței) a rezultatelor analizelor fizico-chimice a arătat că nu există diferențe statistice semnificative între probe din punctul de vedere al concentrației finale în alcool micile diferențe rezultând din variabilitatea inerentă dintre probe. Conținutul de



*Rezumatul tezei de doctorat*

zahăr rezidual la probele limpezite enzimatic este ușor superior marilor. La probele fermentate cu drojdii selecționate, acesta a fost mai mic 0,98 g/l; 1,65 g/l și respectiv 1,8 g/l, decât în cazul fermentației spontane, lucru datorat probabil existenței unor drojdii mai puțin performante în microflora epifită.

Extractul vinurilor obținute din strugurii macerați enzimatic (variantele V2, V3, V4 și V5), este superior variantei V1, pe seama unei mai bune extracții a compușilor solubili din bob, participanți la extractul vinurilor.

Drojdii selecționate folosite sunt producătoare de glicerol, determinând o creștere a conținutului acestuia cu 40,0-50,0 % față de martor. Se observă că și vinurile macerate enzimatic au, față de martor, o concentrație sporită de glicerol, deci formarea compușilor secundari în cursul fermentației alcoolice în aceste condiții este influențată în mod benefic.

**Tabelul 6.8.** Compoziția fizico-chimică a vinurilor Muscat Ottonel - anul de recoltă 2010, Murfatlar

Varianta	SO <sub>2</sub> , mg/l		Alcool, % vol.		Aciditate totală, g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l	Aciditate volatilă g acid acetic/l
	liber	total	dobândit	potențial		
V 1	10,5	85,00	11,56	11,9	4,80	0,50
V 2	12,5	82,50	11,88	11,9	4,84	0,41
V 3	17,5	70,50	12,31	12,1	5,10	0,34
V 4	22,5	74,50	12,26	11,9	5,30	0,22
V 5	18,5	77,50	12,46	12,1	4,95	0,25

**Tabelul 6.9.** Compoziția fizico-chimică a vinurilor Muscat Ottonel - anul de recoltă 2010, Murfatlar

Varianta	Extract redus, g/l	Zahăr rezidual, g/l	Glicerol, g/l	Esteri, g/l	Acet- aldehidă, mg/l	Alcool metilic, mg/l	Polifenoli totali, mg/l
V 1	18,60	2,56	4,72	0,324	47,2	49	238
V 2	19,50	2,70	5,18	0,355	42,4	54	251
V 3	20,70	1,65	8,30	0,448	28,7	65	197
V 4	20,93	0,98	9,44	0,399	22,5	58	180
V 5	20,52	1,80	7,82	0,441	34,6	73	210

Conținutul în esteri al vinurilor fermentate cu drojdii selecționate (V3, V4 și V5) este superior variantelor V1 și V2, pe seama produșilor de metabolism ai drozdiilor în timpul fermentației alcoolice.

La vinurile macerate enzimatic se constată o creștere a conținutului în metanol. Aceasta este rezultatul activității pectinesterazelor din preparatele enzimatic utilizate. Creșterea însă nu este semnificativă, neinfluențând practic calitatea vinului.

Deburarea rapidă a mustului determină diminuarea extracției compușilor fenolici în must, precum și a activității polifenoxidazei, care este îndepărtată odată cu părțile solide ale strugurilor, unde se află localizată. Vinurile fermentate cu drojdii selecționate, au conținuturi mai mici de polifenoli decât cele macerate enzimatic dar fermentate spontan, probabil datorită absorbției diferite a acestor compuși de către celulele drozdiilor.

Vinurile obținute din cele cinci variante au fost analizate senzorial, utilizând următoarele criterii de apreciere: intensitatea olfactivă, calitatea purității aromatice, fructuozitate, caracter floral, vegetal, mineral, amăreala, intensitatea buchetului, onctozitate, rotunjime, echilibru gustativ, persistența gustativă.

Profilul aromatic al vinurilor rezultate din variantele V1, V2, V3, V4 și V5 în urma analizei senzoriale de către un panel de degustători autizați este reprezentat în diagrama radar din figura 6.13.

Vinul obținut din mustul tratat cu preparat enzimatic de macerare Lallzyme Cuveé Blanc, fermentat cu drojdie selecționată Lalvin QA 23 și tratat cu preparat enzimatic Lallzyme β, imediat după finalizarea fermentației alcoolice, varianta V4 prezintă caracteristici senzoriale superioare celorlalte variante.

Intensitatea aromatică se accentuează prin utilizarea acestui preparat enzimatic care conține concentrații ridicate atât în glicozidazele ce acționează în prima etapă a mecanismului enzimatic, cât și în β-glucozidaza ce acționează în a doua etapă a mecanismului enzimatic, de eliberare a constituenților aromatici.

De asemenea se observă o potențare a caracterului aromatic în prezența unor tulpini de drojdii selecționate capabile să sintetizeze β glucozidază. De aceea din punct de vedere senzorial, vinurile obținute astfel sunt mai armonioase, mai expresive, mai copolente și dovedesc cel mai bun echilibru, intensitate și tipicitate a aromei.

Vinurile obținute din musturi fermentate cu drojdii selecționate, prezintă o aroma varietală mai atenuată, aroma de fermentație fiind mai evoluată și mai evidentă.

Astfel, vinul rezultat din mustul fermentat cu drojdie selecționată Lalvin QA 23 este mai apreciat decât vinurile obținute în celelalte variante experimentale. Acest vin a prezentat un caracter olfactiv intens și complex, dominat de senzații agreabile de fructe și mirodenii însoțit de un echilibru remarcabil în cavitatea bucală (fără urme de duritate finală), dominat de o persistență gustativă accentuată.

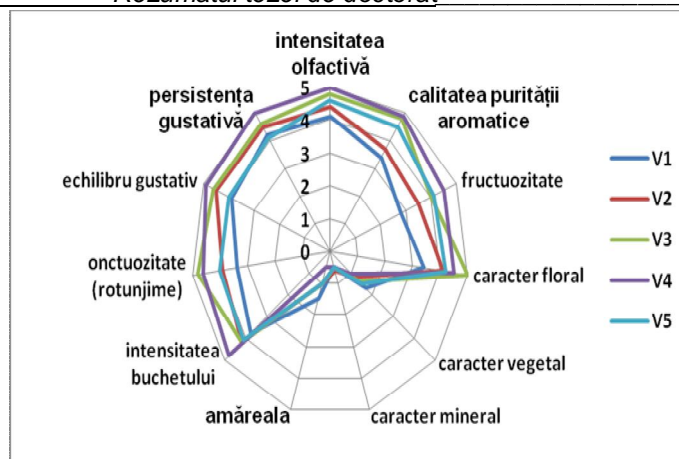


Figura 6.13. Profilul aromatic al vinurilor în urma analizei senzoriale

Intensitatea aromatică și fructuozitatea acestui vin (V4) s-au accentuat prin utilizarea preparatului enzimatic Lallzyme  $\beta$ , imediat după finalizarea fermentației alcoolice. Vinul rezultat din mustul fermentat cu tulpina Fermicru AR2 (D3) a fost unanim mai slab cotate de către juriu. Acest vin a prezentat un caracter olfactiv intens dominat de mirodenii, dar mai puțin fructuos și mai vegetal. Caracterul gustativ este net inferior, iar persistența este mai slabă. Aceste evaluări senzoriale efectuate la stadiul de vin tânăr evidențiază intensități aromatice mai ridicate la tulpinile Lalvin QA 23 și Fermactiv Muscat.

#### 6.3.4. Concluzii parțiale

- Asocierea tulpinii de drojdie ce este capabilă să sintetizeze  $\beta$  glucozidază cu un preparat enzimatic cu concentrații ridicate, atât în glucozidazele ce acționează în prima etapă a mecanismului enzimatic cât și în  $\beta$ -glucozidaza ce acționează în a doua etapă a mecanismului enzimatic, determină creșteri spectaculoase ale concentrațiilor în terpenoli volatili.
- În cazul folosirii tulpinilor de drojdie selecționate amorsarea fermentației este mult mai rapidă, iar durata de fermentare este mai scurtă.
- Conținutul în glicerol și esteri al vinurilor fermentate cu drojdie selecționate este superior variantelor fermentate spontan, pe seama produșilor de metabolism ai drojdiilor în timpul fermentației alcoolice.
- Pentru o mai bună caracterizare aromatică a soiului Muscat Ottonel, în scopul evidențierii tipicității aromatice a soiului este foarte importantă alegerea tulpinii de drojdie selecționată, gestionarea corectă a procesului de vinificație și utilizarea de preparate enzimatice cu activitate  $\beta$  glucozidazică.

## CAPITOLUL 7. STUDII PRIVIND UTILIZAREA DIFERITELOR ECHIPAMENTE LA OBTINEREA VINURILOR ALBE AROMATE DE CALITATE

### 7.1. Influența operației de macerare asupra calității vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel

**7.1.1. Oportunitatea studiului.** Scopul acestui studiu a fost de a testa mai multe condiții de desfășurare a operației de macerare prefermentativă în vederea obținerii vinurilor albe aromate de calitate.

#### 7.1.2. Materiale și metode de analiză

##### Strugurii materie primă și variantele tehnologice utilizate

Pentru realizarea acestui studiu, ca materie primă s-au folosit struguri din soiul Muscat Ottonel, culeși manual din podgoria Murfatlar în anul 2009. În tabelul 7.1. sunt prezentate variantele experimentale și tehnologia de vinificație aplicată pentru obținerea acestora la nivel de macrovinificație.

Toate variantele au avut în comun adaosul de dioxid de sulf în concentrație de 50 mg  $\text{SO}_2/\text{l}$  aplicat pe mustuală la macerare, deburbarea gravitațională și sulfitearea cu 50 mg  $\text{SO}_2/\text{l}$  după finalizarea fermentației alcoolice.

Tabelul 7.1. Variantele tehnologice realizate pentru studiul influenței macerării la vinificarea strugurilor din soiul Muscat Ottonel

Varianta	Variante tehnologice	
	Influența temperaturii de macerare	
Varianta 1 (V1)	Vinificare cu macerare 12 ore în cisterne verticale la temperatura de 15 °C, deburbare gravitațională, fermentare spontană	
Varianta 2 (V2)	Vinificare cu macerare 12 ore în cisterne verticale la temperatura de 15 °C, deburbare gravitațională, fermentare cu drojdie selecționată Lalvin QA23 (20 g/hl)	
Varianta 3 (V3)	Vinificare cu macerare 12 ore în cisterne verticale la temperatura de 20 °C, deburbare gravitațională, fermentare spontană	

### Rezumatul tezei de doctorat

Varianta 4 (V4) Vinificare cu macerare 12 ore în cisterne verticale la temperatura de 20 °C, deburbare gravitațională, fermentare cu drojdie selecționată Lalvin QA23 (20 g/hl)

#### Influența duratei de macerare

Varianta 1 (V1) Vinificare cu macerare 12 ore în cisterne verticale la temperatura de 15 °C, deburbare gravitațională, fermentare spontană

Varianta 2 (V2) Vinificare cu macerare 12 ore în cisterne verticale la temperatura de 15 °C, deburbare gravitațională, fermentare cu drojdie selecționată Lalvin QA23 (20 g/hl)

Varianta 5 (V5) Vinificare cu macerare 24 ore în cisterne verticale la temperatura de 15 °C, deburbare gravitațională, fermentare spontană

Varianta 6 (V6) Vinificare cu macerare 24 ore în cisterne verticale la temperatura de 15 °C, deburbare gravitațională, fermentare cu drojdie selecționată Lalvin QA23 (20 g/hl)

#### Influența utilajului folosit la macerare

Varianta 1 (V1) Vinificare cu macerare 12 ore în cisterne verticale la temperatura de 15 °C, deburbare gravitațională, fermentare spontană

Varianta 2 (V2) Vinificare cu macerare 12 ore în cisterne verticale la temperatura de 15 °C, deburbare gravitațională, fermentare cu drojdie selecționată Lalvin QA23 (20 g/hl)

Varianta 7 (V7) Vinificare cu macerare 12 ore în prese pneumatice la temperatura de 15 °C, deburbare gravitațională, fermentare spontană

Varianta 8 (V8) Vinificare cu macerare 12 ore în prese pneumatice la temperatura de 15 °C, deburbare gravitațională, fermentare cu drojdie selecționată Lalvin QA23 (20 g/hl)

Utilajele pentru macerare au fost sistemele metalice (din inox) (fig. 7.1) verticale și presele pneumatice discontinue (fig.7.2). Macerarea în prese discontinue a funcționat ca macerare în cisterne ROTO. Diferența dintre variante a fost temperatura de macerare, durata de macerare, utilajul în care s-a realizat macerarea, cât și utilizarea sau nu a unor tulpini de drojdie selecționate pentru realizarea fermentației alcoolice. Pentru fiecare variantă, experimentele s-au repetat de două ori. Fiecare repetiție s-a realizat cu mustuiul omogenă provenită din struguri de pe o singură parcelă.



Figura 7.1. Cisterne verticale pentru macerare fermentare



Figura 7.2. Presă cu membrană închisă

**Determinarea terpenelor libere și legate conform subcapitolului 5.1.2.**

**Caracterizarea fizico-chimică a vinului conform subcapitolului 5.1.2.**

**Analiza senzorială a vinurilor conform subcapitolului 5.1.2.**

**Prelucrarea statistică a datelor**

### 7.1.3. Rezultate și discuții

#### 7.1.3.1. Efectul temperaturii de macerare asupra extracției terpenelor din piețile strugurilor

Sunt prezentate cantitățile de terpeni libere și terpeni legate în cazul mustuii macerate la temperatura de 15 °C și 20 °C în cisterne verticale din inox timp de 12 ore. Așa cum se observă în figura 7.4, conținutul în terpeni libere a fost mai mic comparativ cu conținutul în terpeni legate.

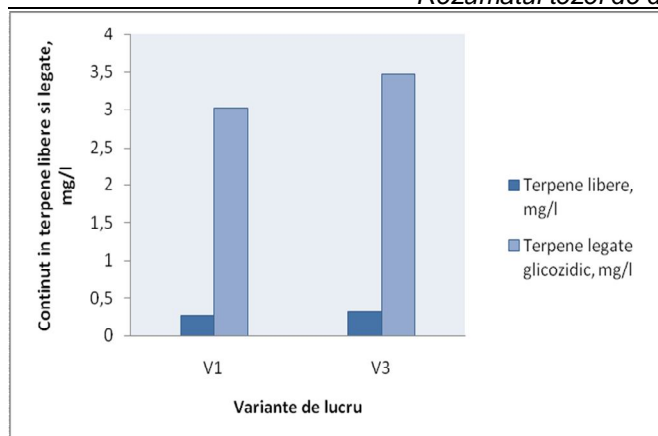


Figura 7.4. *Influența temperaturii de macerare asupra conținutului în terpeni liberi și legați din must*

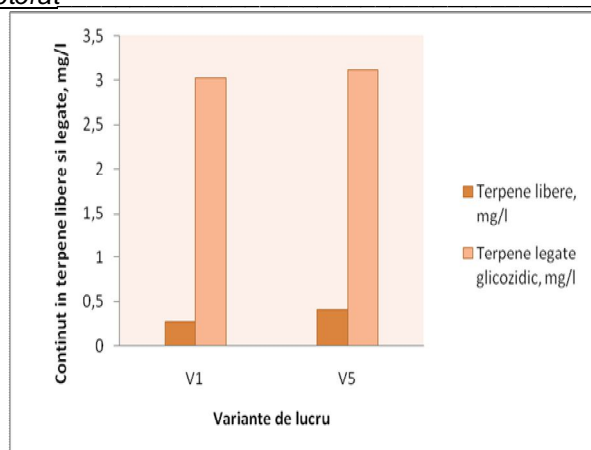


Figura 7.5. *Influența duratei de macerare asupra conținutului în terpeni liberi și legați din must*

Astfel, în mustul macerat la temperatura de 15 °C (variante V1) conținutul în terpeni liberi a fost de 0,270 mg/l linalool, iar la mustul la temperatura de 20 °C (variante V3), conținutul în terpeni liberi a fost ușor mai mare de 0,347 mg/l linalool, datorită temperaturii mai mari utilizată la operația de macerare.

Raportul dintre terpenii legați și liberi în probele variantelor V1 și V3 au avut valori de 11,22 pentru V1 și 10,77 pentru V3.

Prin utilizarea unei temperaturii mai mari la operația de macerare conținutul în precursori a crescut cu 11,93 % pentru varianta V3.

#### 7.1.3.2. *Efectul duratei de macerare asupra extracției terpenilor liberi și legați din piețile strugurilor*

În tabelul 7.5. sunt prezentate cantitățile de terpeni liberi și terpeni legați în cazul mustuielii macerate la temperatura de 15 °C timp de 12 ore și 24 de ore în cisterne verticale din inox.

Așa cum se observă în figura 7.5, conținutul în terpeni liberi a fost mai mic comparativ cu conținutul în terpeni legați.

Astfel, în mustul macerat la temperatura de 15 °C timp de 12 ore (variante V1) conținutul în terpeni liberi a fost de 0,270 mg/l linalool, iar la mustul la temperatura de 15 °C timp de 24 ore (variante V5), conținutul în terpeni liberi a fost ușor mai mare de 0,412 mg/l linalool, datorită duratei mai mari utilizată la operația de macerare de 24 de ore.

Raportul dintre terpenii legați și liberi în probele variantelor V1 și V5 au avut valori de 11,22 pentru V1 și 7,57 pentru V5. Acest lucru se explică prin durata mai mare de macerare, timp în care o parte din terpenii legați au fost hidrolizate de către enzimele cu activitate  $\beta$  glucozidazică prezente în struguri.

Prin utilizarea unei durate mai mari la operația de macerare conținutul în terpeni liberi a crescut cu 65,53 % pentru varianta V5 comparativ cu varianta V1.

#### 7.1.3.3. *Influența utilajelor folosite la operația de macerare asupra extracției terpenilor liberi și legați din piețile strugurilor*

În tabelul 7.6. sunt prezentate cantitățile de terpeni liberi și terpeni legați în cazul mustuielii macerate la temperatura de 15 °C timp de 12 ore în cisterne verticale din inox și în prese pneumatice.

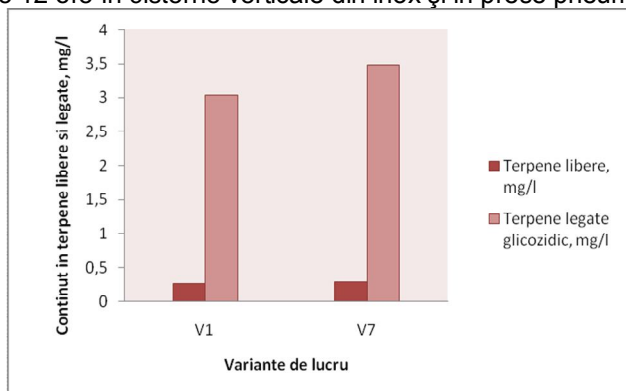


Figura 7.6. *Influența utilajelor folosite la macerare asupra conținutului în terpeni liberi și legați din must*

Macerarea în cisternele de inox este statică, pe când macerarea în presele pneumatice este dinamică, presele având posibilitatea rotirii și implică realizarea unei omogenizări mai bune a mustuielii în timpul macerării.

Așa cum se observă în figura 7.6, conținutul în terpeni liberi a fost mai mic comparativ cu conținutul în terpeni legați.

În mustul macerat la temperatura de 15 °C timp de 12 ore (variantele V1) în cisterna de inox conținutul în terpeni liberi a fost de 0,270 mg/l linalol, iar la mustul la temperatura de 15 °C timp de 12 ore (variantele V7) în presa pneumatică, conținutul în terpeni liberi a fost ușor mai mare de 0,291 mg/l linalol, datorită faptului că în presă s-a putut realiza un contact mai bun între faza solidă și cea lichidă prin rotirea presei pneumatice.

Raportul dintre terpenii legați și liberi în probele variantelor V1 și V7 au avut valori de 11,22 pentru V1 și 11,99 pentru V7. Prin utilizarea presei pneumatice la operația de macerare conținutul în terpeni liberi a crescut cu 7,21 % pentru varianta V7, comparativ cu varianta V1, iar conținutul în terpeni legați a crescut cu 1,15% pentru varianta V7, comparativ cu varianta V1.

#### 7.1.3.4. Efectul temperaturii, duratei și a utilajelor folosite la macerare asupra calității vinurilor

Pentru a studia cum se reflectă diferiți factori precum temperatura, durata și utilajul folosit la operația de macerare, asupra compoziției fizico-chimice și senzoriale a vinurilor, s-au determinat principalii parametri fizico-chimici ai acestora (tabelul 7.7 și 7.8).

Analizând datele din tabel se observă că raportul de combinare a dioxidului de sulf este mai bun la variantele fermentate cu drojii selecționate și anume la variantele V2, V4, V6 și V8. Conținutul de acizi volatili și de acetaldehidă au valori minime la variantele fermentate dirijate, pe seama particularităților de metabolism ale drojdiilor folosite. Cea mai mică valoare a acidității volatile s-a obținut pentru varianta V2, acest lucru s-a datorat și faptului că macerarea s-a efectuat la temperatura scăzută și anume la 15 °C.

**Tabelul 7.7.** Compoziția fizico-chimică a vinurilor Muscat Ottonel - anul de recoltă 2009, Murfatlar

Varianta	SO <sub>2</sub> , mg/l		Alcool, % vol.		Aciditate totală, g H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /l	Aciditate volatilă, g acid acetic/l
	liber	total	dobândit	potențial		
V 1	12,5	85,50	11,86	12,0	4,85	0,42
V 2	18,5	78,50	12,15	11,9	4,88	0,18
V 3	10,5	80,50	11,95	12,1	5,15	0,48
V 4	22,5	70,50	12,28	11,9	5,27	0,22
V 5	16,4	87,50	12,10	12,2	4,99	0,51
V 6	20,6	69,3	12,3	12,1	5,05	0,28
V 7	9,8	77,6	11,98	12,0	5,10	0,44
V 8	25,0	72,4	12,25	11,9	5,12	0,20

**Tabelul 7.8.** Compoziția fizico-chimică a vinurilor Muscat Ottonel - anul de recoltă 2009, Murfatlar

Varianta	Extract redus, g/l	Zahăr rezidual, g/l	Glicerol, g/l	Esteri, g/l	Acet- aldehidă, mg/l	Alcool metilic, mg/l	Polifenoli totali, mg/l
V 1	18,68	2,50	4,82	0,315	48,1	44	188
V 2	19,56	1,88	5,45	0,385	22,4	54	173
V 3	20,84	2,65	6,30	0,368	48,7	48	202
V 4	21,17	1,98	7,44	0,415	25,5	56	186
V 5	21,44	2,44	7,80	0,440	49,6	51	252
V 6	21,93	2,05	8,65	0,474	30,1	65	221
V 7	21,27	2,15	6,53	0,427	42,3	47	215
V 8	21,84	1,66	7,99	0,463	21,8	58	201

Valoarea cea mai mare a acidității volatile a fost de 0,51 g/l acid acetic și s-a obținut la varianta V5, în care vinificarea s-a realizat cu macerare 24 ore în cisterne verticale la temperatura de 15 °C, deburbare gravitațională și fermentare spontană sub acțiunea microflorei epifite a strugurilor.

Prelucrarea statistică (analiza varianței) a rezultatelor analizelor fizico-chimice a arătat că nu există diferențe statistice semnificative între probe din punctul de vedere al concentrației finale în alcool, micile diferențe rezultând din variabilitatea inerentă dintre probe.

Conținutul de zahăr rezidual a fost mai redus la probele fermentate cu drojii selecționate și anume 1,88 g/l pentru varianta V2, 1,98 g/l pentru varianta V4 și 1,66 pentru varianta V8. Probele fermentate cu drojii din microflora epifită au înregistrat valori mai mari pentru zahărul rezidual, maximum fiind înregistrat pentru varianta V3 în valoare de 2,65 g/l. Extractul vinurilor obținute din strugurii macerați la diferite temperaturi (15 °C și 20 °C), durate diferite 12 ore și 24 de ore și în echipamente diferite (cisterne de inox și prese pneumatice discontinue), a avut valori mai mari atunci când durata de macerare a fost mai mare (24 de ore) și atunci când s-a realizat macerarea în presa pneumatică discontinuă (datorită unei mai bune omogenizări a părților solide cu mustul), pe seama unei mai bune extracții a compușilor solubili din bob, participanți la extractul vinurilor.

Drojdiile selecționate folosite sunt producătoare de glicerol, determinând o creștere a conținutului acestuia, valoarea cea mai mare fiind înregistrată pentru varianta V6. Conținutul în esteri al vinurilor fermentate cu drojdii selecționate (V2, V4, V6 și V8) este superior variantelor V1, V3, V5 și V7, pe seama produșilor de metabolism ai drojdiilor în timpul fermentației alcoolice. La vinurile la care durata de macerare a fost mai mare de 24 de ore se constată o creștere a conținutului în metanol. Aceasta este rezultatul activității pectinesterazelor din boabele de struguri. Această creștere însă nu este semnificativă, neinfluențând practic calitatea vinului. Vinurile fermentate cu drojdii selecționate, au conținuturi mai mici de polifenoli, decât cele macerate enzimatic, dar fermentate spontan, probabil datorită absorbției diferite a acestor compuși de către celulele drojdiilor.

Vinurile obținute din cele opt variante au fost analizate senzorial, utilizând următoarele criterii de apreciere: intensitatea olfactivă, calitatea purității aromatice, fructuozitate, caracter floral, vegetal, mineral, amăreala, intensitatea buchetului, onctuoșitate, rotunjime, echilibru gustativ, persistența gustativă.

Profilul aromatic al vinurilor rezultate din variantele V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7 și V8 în urma analizei senzoriale de către un panel de degustători autorizați este reprezentat în diagrama radar din figura 7.7, 7.8 și 7.9.

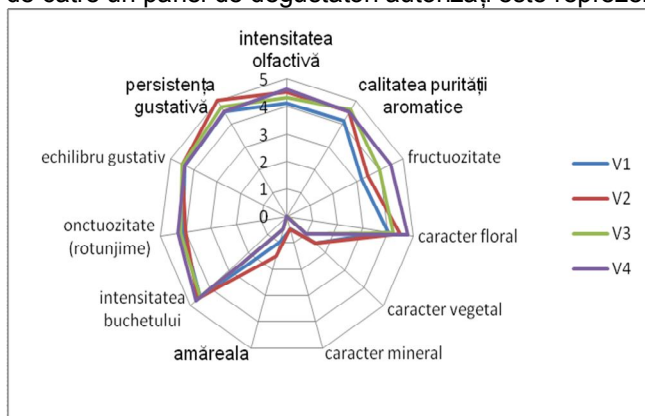


Figura 7.7. Profilul aromatic al vinurilor variantele V1, V2, V3 și V4 în funcție de temperatura de macerare

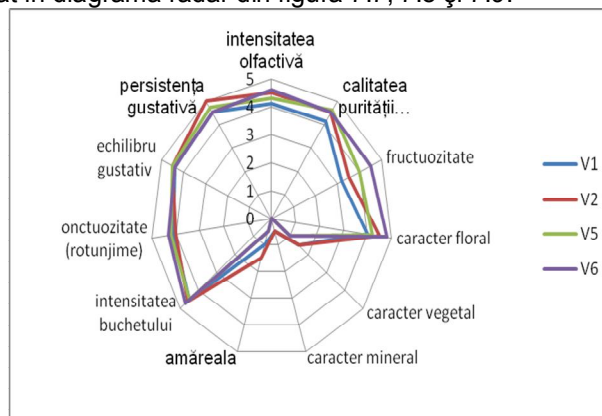


Figura 7.8. Profilul aromatic al vinurilor variantele V1, V2, V5 și V6 în funcție de durata de macerare

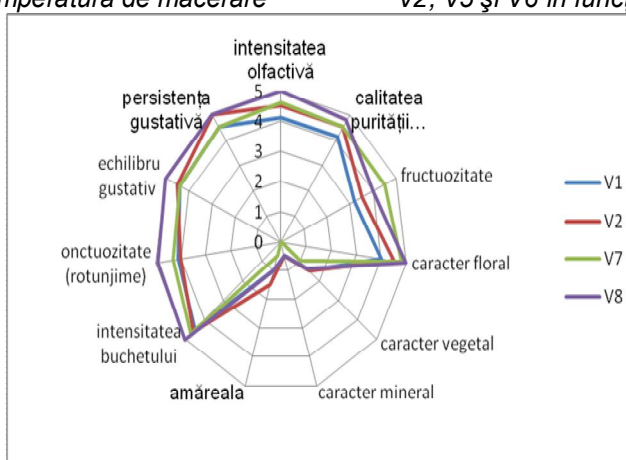


Figura 7.9. Profilul aromatic al vinurilor variantele V1, V2, V7 și V8 în funcție de utilajul folosit la macerare

Vinul obținut din varianta V4, fermentat cu drojdie selecționate Lalvin QA 23 prezintă caracteristici senzoriale superioare celorlalte variante analizate V1, V2 și V3 chiar dacă macerarea acestuia a avut loc la temperatura de 20 °C. Acest vin s-a evidențiat printr-un caracter floral mai pronunțat și o fructuozitate mai potențată.

De aceea, din punct de vedere senzorial, vinurile obținute prin macerare la 20°C sunt mai armonioase, mai expresive, mai corpolente și dovedesc cel mai bun echilibru, intensitate și tipicitate a aromei.

Vinurile obținute din musturi fermentate cu drojdii selecționate, prezintă o aroma varietală mai atenuată, aroma de fermentație fiind mai evoluată și mai evidentă.

Astfel, vinul rezultat din mustul macerat la 20 °C și fermentat cu drojdie selecționată Lalvin QA 23 este mai apreciat decât vinurile obținute în celelalte variante experimentale. Acest vin a prezentat un caracter olfactiv intens și complex, dominat de senzații agreabile de fructe și mirodenii însoțit de un echilibru remarcabil în cavitatea bucală (fără urme de duritate finală), dominat de o persistență gustativă accentuată. În funcție de durata de macerare, vinul obținut din mustul la care durata de macerare a fost mai mare a prezentat o intensitate olfactivă și intensitatea buchetului mai intense, decât varianta la care durata de macerare a fost mai redusă.

De asemenea fructuozitatea acestui vin (V6) s-a accentuat prin utilizarea unei durate de macerare mai mare.

În figura 7.9. este prezentat profilul aromatic al vinurilor obținute prin variantele V7 și V8. Varianta V8, la care macerarea s-a realizat în presa pneumatică a prezentat o persistență gustativă mai intensă și o aromă mai pură decât varianta V7.

Vinurile fermentate spontan au prezentat un caracter olfactiv intens dominat de mirodenii, dar mai puțin fructuos și mai vegetal. Caracterul gustativ este net inferior, iar persistența este mai slabă față de cele fermentate cu drojii selectate.

#### 7.1.3.5. Prelucrarea statistică a datelor

Condițiile pentru optimizarea obținerii vinurilor cu un conținut ridicat în compuși terpenici au fost prelucrate statistic prin analiza factorială utilizând metoda suprafeței de răspuns.

Rezultatele obținute și detaliate anterior au evidențiat faptul că cele mai relevante variabile cu efect direct asupra obținerii etanolului au fost temperatura ( $X_1$ ) și durata de macerare ( $X_2$ ).

Astfel, a fost utilizat un model factorial pentru a investiga efectul simultan al celor 2 factori asupra răspunsului și anume asupra cantității de terpeni liberi ( $Y$ ).

Matricea valorilor studiate este redată în tabelul 7.9.

Ecuatia care descrie modelul pătratic este:

$$Y = a + b \cdot X_1 + c \cdot X_2 + d \cdot X_1^2 + eX_2^2 + f \cdot X_1 \cdot X_2$$

Semnificația fiecărui coeficient determinat prin regresie nelineară a fost analizată cu ANOVA. Pentru estimarea coeficienților s-a utilizat programul statistic STATISTICA 8.

Modelul suprafeței de răspuns a utilizat tipul compoziție centrală de modelare (Central Composite Design), utilizând 2 factori, 2 niveluri (+1, -1), 1 punct central (model experimental factorial  $2^3 + 1$  punct central), 1 bloc (o singură serie de experimente). Modelul experimental a conținut 9 experimente conform tabelului 7.9.

$R^2 = 0,99441$ ;  $R^2$  ajustat = 0,98883; MS Rezidual = 149,0678

Modelul corespunde atât unei ecuații liniare cât și pătratice.

**Tabelul 7.9. Matricea valorilor**

Nr. crt.	T, °C $X_1$	t $X_2$	Terpeni libere, µg/L Y
1	10	12	342,1
2	10	24	426,8
3	10	36	465,3
4	15	12	521,4
5	15	24	634,3
6	15	36	651,1
7	20	12	523,3
8	20	24	654,8
9	20	36	659,1

Atat modelul liniar cat si cel patratric sunt adecvate pentru descrierea fenomenului  $p < 0,05$ .

ANOVA; Var.:Var3; R-sqr=,99441; Adj.:98883 (Spreadsheet1) 2 3-level factors, 1 Blocks, 9 Runs; MS Residual=149,0678 DV: Var3					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1)Var1 (L)	60601,5	1	60601,50	406,5365	0,000036
Var1 (Q)	16332,3	1	16332,27	109,5627	0,000471
(2)Var2 (L)	25181,3	1	25181,28	168,9250	0,000202
Var2 (Q)	4035,0	1	4035,01	27,0683	0,006504
Error	596,3	4	149,07		
Total SS	106746,3	8			

Coeficientii ecuației sunt cei din tabelul. Graficul suprafață de răspuns tridimensional obținut este o reprezentare grafică pentru studiul interacțiunii dintre cei doi factori selectați pentru determinarea concentrației optime în vederea atingerii concentrației maxime de terpeni liberi. Optimumul de producție sau de extracție a terpenilor se înregistrează la 18°C în intervalul 28 – 34 ore când se obține un maxim.

Graficul mediilor marginale și a coeficienților limită prezintă o concentrație maximă de 650 micrograme/l terpeni pentru un timp de 36 minute sau ore în intervalul de temperatura 16 -21°C.

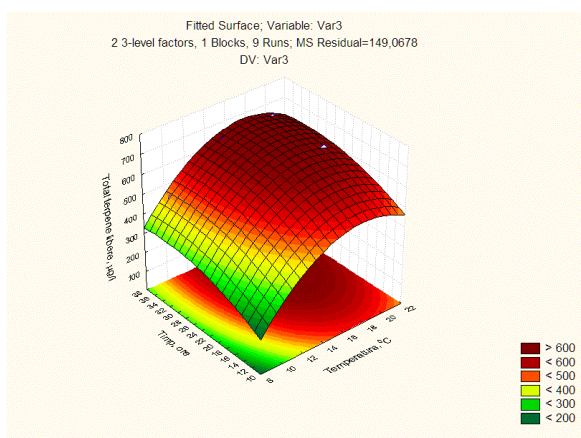
Valoarea lui  $p < 0,05$  indică termenii semnificativi ai modelului. Graficul Pareto confirmă faptul că pentru modelul pătratic și liniar atât temperatura cât și durata au influență asupra procesului de extracție a terpenilor.

Comparația dintre valorile concentrației în terpeni liberi obținută experimental și valorile predicționate de modelul de regresie, sugerează faptul că acesta poate fi folosit pentru a predicționa viitoarele valori ale răspunsului Y (conținut în terpeni liberi) corespunzătoare valorilor particulare ale variabilelor de regresie.

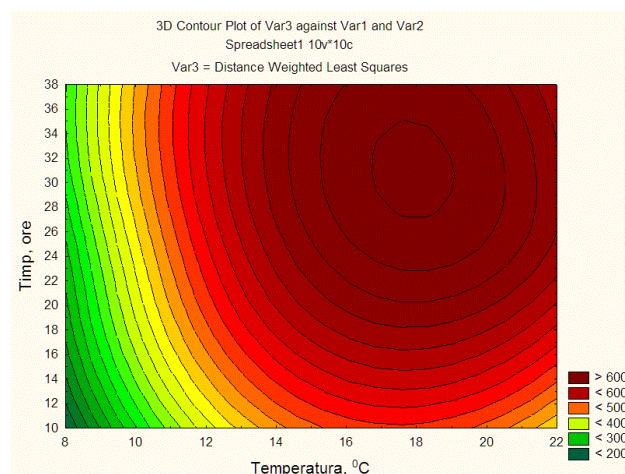
**Rezumatul tezei de doctorat**

Gruparea valorilor experimentale și a celor calculate de model în apropierea dreptei de regresie demonstrează că modelul ales este cel adecvat.

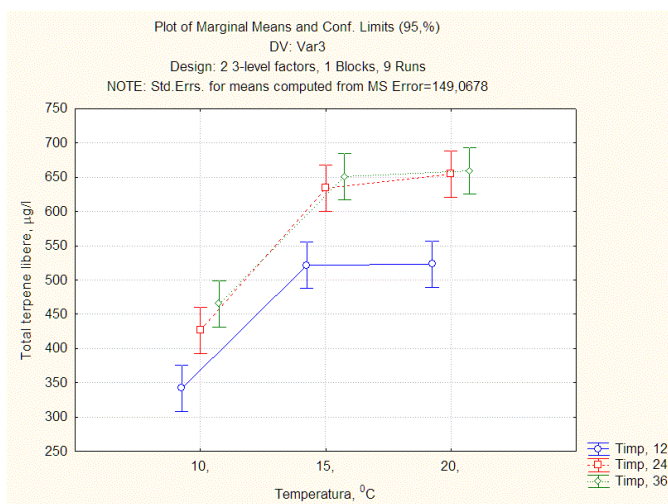
Effect Estimates; Var.:Var3; R-sqr=1, (Spreadsheet1 10v*10c) 2 3-level factors, 1 Blocks, 9 Runs DV: Var3		
Factor	Effect	Coeff.
Mean/Interc.	542,0222	542,0222
(1)Var1 (L)	201,0000	100,5000
Var1 (Q)	90,3667	45,1833
(2)Var2 (L)	129,5667	64,7833
Var2 (Q)	44,9167	22,4583
1L by 2L	6,3000	3,1500
1L by 2Q	20,2500	10,1250
1Q by 2L	0,1000	0,0500
1Q by 2Q	2,3500	1,1750



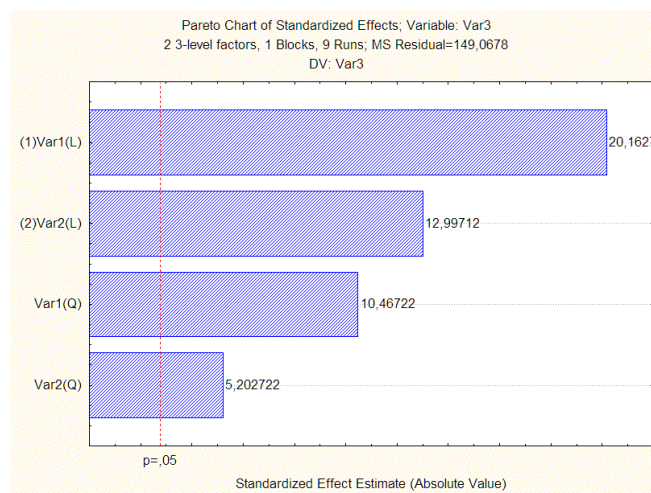
**Figura 7.10.** Suprafața de răspuns ce descrie variația conținutului în terpeni liberi în funcție de temperatură și durata de macerare pe baza modelului adoptat



**Figura 7.11.** Diagrama de contur privind efectul temperaturii și duratei de macerare asupra conținutului în terpeni liberi cât și efectul corelativ al celor doi parametri

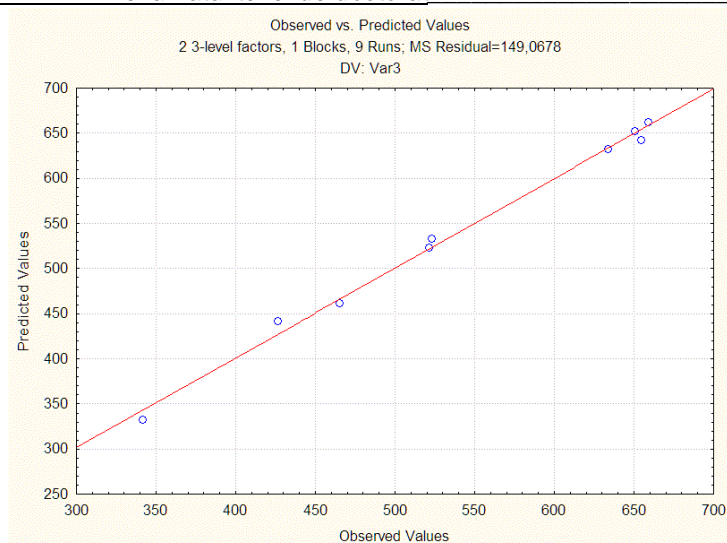


**Figura 7.12.** Diagrama mediilor marginale și a coeficienților limită



**Figura 7.13.** Diagrama pareto pentru determinarea factorilor semnificativi care influențează procesul de macerare





**Figura 7.14.** Corelația dintre valorile estimate și cele obținute experimental ale conținutului în terpeni liberi în funcție de temperatură și durată

#### 7.1.4. Concluzii parțiale

- Extracția terpenilor liberi și a celor legați din pielețele strugurilor este condiționată de temperatura de macerare, durata de macerare și utilajul în care are loc operația de macerare.
- Contactul dintre pielețele strugurilor la temperaturi controlate 15°C timp de 12 ore sau 24 de ore în timpul macerării, conduce la obținerea caracterului floral al vinurilor cât și la accentuarea notelor de prospețime și fructozitate precum și corpolență atât de apreciate la vinurile albe aromate.
- Macerația mustuielii a condus la extracția terpenilor legați din pielețe în cantități mai mari, iar prin asocierea macerării cu tratamentul enzimatic, cu enzime cu activitate enzimatică  $\beta$  glucozidazică se vor obține vinuri cu un potențial aromatic mai evident.
- Conținutul în glicerol și esteri al vinurilor fermentate cu drojzii selecționate este superior variantelor fermentate spontan, pe seama produșilor de metabolism ai drojdiilor în timpul fermentației alcoolice.
- Pentru o mai bună caracterizare aromatică a soiului Muscat Ottonel, în scopul evidențierii tipicității aromatice a soiului este foarte importantă gestionarea corectă a procesului de vinificație, în special a operației de macerare cât și alegerea tulpinii de drojdie selecționată pentru fermentație.
- S-a elaborat și verificat un model matematic liniar și pătratic care descrie extracția terpenilor liberi sub efectul corelat al factorilor temperatură și durata de macerare.
- Relevanța modelului este certificată de gradul ridicat de suprapunere ale valorilor predicționate și cele obținute experimental ce descriu extracția terpenilor liberi în funcție de temperatură și durata de macerare.

## 7.2. Influența operației de presare asupra calității vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel

**7.2.1. Oportunitatea studiului.** În ultimii ani, utilizarea preselor pneumatice cu membrane a fost progresiv introdusă în procesarea strugurilor albi și obținerea vinurilor albe de calitate. Utilizarea corespunzătoare a acestor prese în tehnologia de obținere a vinurilor albe de calitate presupune cunoașterea condițiilor care influențează randamentul de obținere a mustului cât și calitatea acestuia. Este evident faptul că prin presare trebuie să se realizeze o extracție controlată a fenolilor (atunci când acest lucru este necesar pentru tip special de vin), iar mustul rezultat să aibă o turbiditate minimă.

### **Operația de presare și calitatea mustului obținut**

O presare de înaltă calitate ar trebui să permită obținerea unor musturi cu un conținut minim de polifenoli. Setările pentru operația de presare constau în extracția acestuia cu o creștere lentă a presiunii pentru evitarea zdrobirii părților solide ale boabelor și limitarea activității enzimatice oxidazice (Alexandre și Garcia, 1993). Calitatea mustului rezultat în urma presării se reflectă într-o valoare a turbidității cuprinsă între 50 și 150 de unități nefelometrice (NTU) (Berger, 1991) și, în general, o densitate optică la 420 nm scăzută și de asemenea, un nivel scăzut al indicelui de polifenoli totali la 280 nm. De asemenea, pH-ul și aciditatea totală a mustului trebuie să fie adecvate pentru vin alb. Liniile de producție utilizate la producerea vinurilor albe de calitate trebuie astfel manageriate, astfel încât calitatea mustului și implicit a vinului să fie cât mai bună.

Conform diferitelor studii, presarea adecvată a mustuielii favorizează obținerea finală a vinurilor de calitate (Boulton și colab., 1996). Există diferite tipuri constructive de prese: prese verticale și orizontale, continue și

discontinui. În presele verticale părțile solide tind să se acumuleze paralel cu suprafața de presare și astfel mustul se filtrează prin stratul solid. În presele continui presarea este rapidă și mustul separat prezintă turbiditate mare, deoarece nu există practic acea autofiltrare. În presele orizontale cu membrană, presiunea este exercitată prin umplerea membranei cu aer comprimat, sau cu apă sub presiune.

**Ciclurile de presare și caracteristicile mustului.** Compoziția diferitelor fracțiuni de must obținute în urma presării a fost studiată de diferiți autori (Arfelli și colab., 1992; Aleixandre și Garc, 1993; Vera și colab., 1993).

Structura internă a boabelor de struguri este eterogenă și cuprinde trei zone: zona centrală unde componenții majoritari sunt glucidele și acidul malic, zona intermediară unde componenții majoritari sunt glucidele și acidul tartric și zona periferică unde sunt prezenți polifenolii și sărurile minerale. Această distribuție eterogenă a compușilor are repercusiuni tehnologice în operația de presare. Când strugurii sunt supuși unor presiuni sau la macerare, primul must este eliberat din zona de intermediară, iar ultima fracțiune de must va proveni din zona periferică.

Dacă se consideră un program de presare care permite extragerea progresivă a mustului în trepte, odată cu creșterea presiunii, primele fracțiuni de must vor conține suc din zona intermediară bogată în zaharuri și acid tartric. Frațiunile ulterioare de must vor fi mai bogate în acid malic și ultima fracțiune de must în polifenoli și săruri minerale. Scopul acestui studiu a fost de a evalua influența modului de presare asupra calității vinurilor albe aromate de calitate. S-a realizat o comparație între două metode diferite de presare a strugurilor albi în vederea obținerii vinurilor albe de calitate prin folosirea preselor pneumatice cu membrană. Prima metodă constă în presarea directă a strugurilor desciorchițați și zdrobiți, iar a doua metodă constă în macerarea mustuielii în presă.

#### 4.2. Materiale și metode de analiză

**Strugurii materie primă și variantele tehnologice utilizate.** Pentru realizarea acestui studiu, ca materie primă s-au folosit struguri din soiul Muscat Ottonel, culeși manual din podgoria Murfatlar în anul 2009.

Au fost comparate două sisteme de presare: (a) presa cu membrană semi-deschisă, cu un cilindru perforat, care nu permite contactul dintre must și boștină (fig. 7.15) și (b) presă cu membrană închisă, în care este posibil contactul dintre must și boștină (fig. 7.16).

Testele au fost efectuate la nivel de macrovinificație. Fiecare fracțiune de must obținută, a fost analizată și s-au evaluat următorii parametri fizico-chimici cum ar fi pH-ul, aciditatea totală prin titrare cu NaOH 0,1N în prezența fenolftaleinei ca indicator, substanța uscată cu refractometrul și implicit conținutul în glucide, densitatea optică la 420 nm (OD), conținutul în polifenoli totali și turbiditatea.



Figura 7.15. Presă cu membrană semi-deschisă



Figura 7.16. Presă cu membrană închisă

**Indicele de polifenoli totali IPT (280 nm)** reprezintă conținutul mustului în compuși fenolici. Pentru determinări s-a măsurat spectrofotometric absorbanta la  $\lambda = 280 \text{ nm}$  în cuvă de cuarț de 10 mm.

Turbiditatea mustului s-a determinat prin citire la turbidimetrul Turb 550 IR (fig. 7.17). Aceste rezultate au fost folosite pentru a caracteriza diferențele dintre fiecare fracțiune de must obținută în urma presării și sistemul de presare.

În sistemul de presare semi-deschis, mustul ravac și diferitele fracțiuni obținute în urma presării, sunt obținute în conformitate cu urmatorul program: prima fracțiune de până la  $0,5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$  (0,5 bar), a doua fracțiune până la  $0,7 \cdot 10^5 \text{ Pa}$  (0,7 bar) și a 3-a fracțiune până la  $1,5 \cdot 10^5 \text{ Pa}$  (1,5 bar), (Fig. 7.18).

În sistemul de presare închis, mustuala a fost întâi răcită la  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  și macerată ulterior în presă timp de 12 ore, la temperatura de  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ . Cu acest sistem de presare întâi a fost separat mustul ravac, prima fracțiune de până la  $0,4 \cdot 10^5 \text{ Pa}$  (0,4 bar), a doua fracțiune până la  $0,6 \cdot 10^5 \text{ Pa}$  (0,6 bar) , a- 3-a fracțiune până la  $0,8 \cdot 10^5 \text{ Pa}$  (0,8 bar), a-4-a fracțiune până la  $1,1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$  (1,1 bar) și a-5-a fracțiune până la  $1,6 \cdot 10^5 \text{ Pa}$  (1,6 bar), (Fig. 7.19).



Figura 7.17. Turbidimetru Turb 550 IR

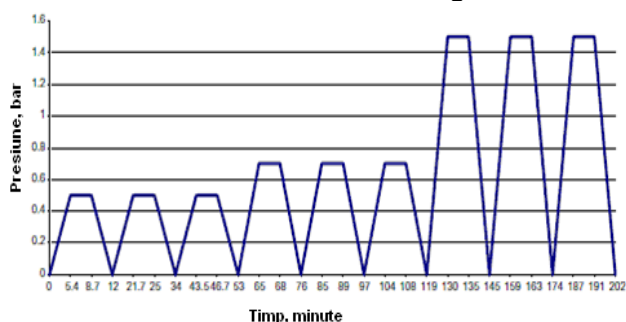


Figura 7.18. Program presare varianta (a)

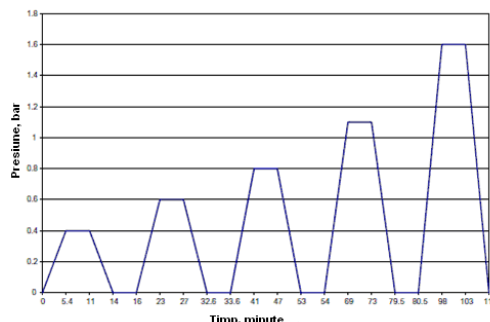


Figura 7.19. Program presare varianta (b)

### 4.3. Rezultate și discuții

Evoluția conținutului în glucide pentru diferitele fracțiuni de must, în cazul ambelor sisteme de presare fără și cu macerarea prealabilă a mustuielii este reprezentată în fig 7.20. În ambele situații a fost observată o scădere a conținutului în glucide de la mustul ravac până la ultima fracțiune de must obținută.

Așa cum se observă, cantitatea cea mai mare în glucide este prezentă în cazul mustului ravac și în cazul mustului fracțiunea 1.

Pe măsură ce presiunea crește a fost extras suc din partea centrală și periferică a boabelor de struguri și anume mustul care conține o cantitate mai redusă de glucide.

Variația acidității totale și a pH-ului a înregistrat diferențe remarcabile în cazul celor două procedee de presare. În general, mustul cu aciditatea cea mai mare este mustul ravac. Aciditatea fracțiunilor de must scade odată cu creșterea presiunii (fig. 7.21).

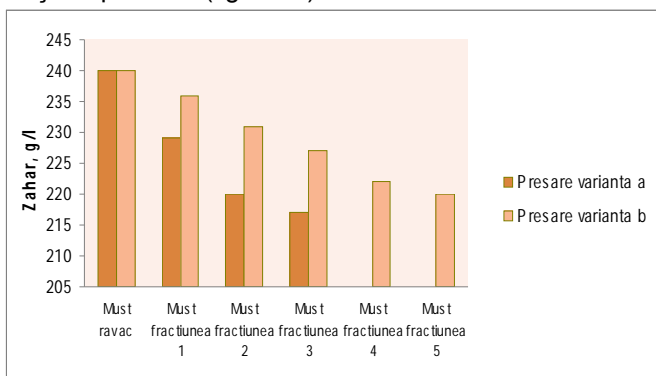


Figura 7.20. Conținutul în glucide a fracțiunilor de must pentru ambele variante de presare

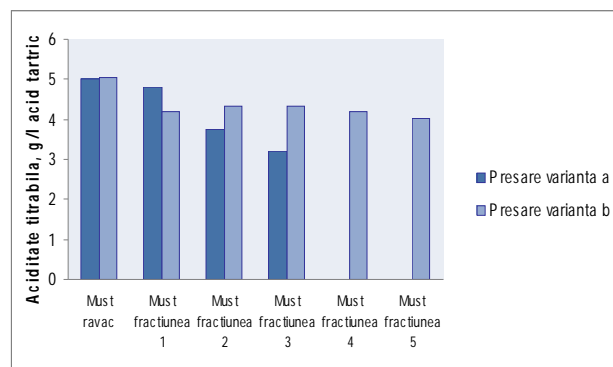


Figura 7.21. Aciditatea fracțiunilor de must pentru ambele variante de presare

În cazul macerării mustuielii, aciditatea fracțiunii 1 scade după care rămâne constantă pentru fracțiunea 2 și fracțiunea 3 și mai scade ușor la fracțiunea 4 și 5.

Prin presarea directă aciditatea scade gradual odată cu creșterea presiunii de presare.

Cum era de așteptat variația pH-ului este inversă față de aciditate. Între valoarea pH-ului mustului ravac și a mustului fracțiunea 1 este o creștere a pH-ului de 0,2-0,3 unități (fig. 7.22).

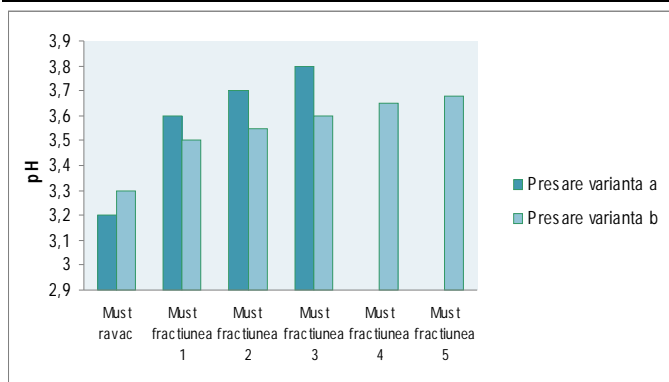


Figura 7.22. pH-ul fracțiunilor de must pentru ambele variante de presare

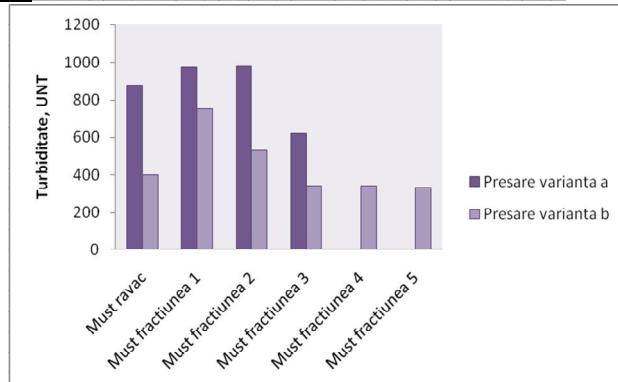


Figura 7.23. Turbiditatea fracțiunilor de must pentru ambele variante de presare

A fost de asemenea observat faptul că mustul ravac este mai limpede decât mustul fracțiunea 1, iar ultimele fracțiuni prezintă o turbiditate mai redusă. Mustul ravac macerat a avut o turbiditate mai redusă (400–650 NTU-unități nefelometrice de turbiditate), față de mustul ravac nemacerat (850–1000 NTU) obținut prin varianta de presare directă (fig. 7.23).

Densitatea optică măsurată la 420 nm este corelată cu conținutul în polifenoli a mustului și implicat cu starea de oxidare a vinului (Singleton și colab., 1980), perioada de macerare (Darias-Martin și colab., 2000).

Se observă că DO 420 nm crește la fracțiunile de must obținute prin mărirea valorii presiunii în ambele cazuri.

Creșterea valorii densității optice este corelată direct cu extracția compușilor polifenolici în special a catechinelor și flavonolilor, prin contactul dintre must și părțile solide (semințe și pielile strugurilor).

Între cele două sisteme de presare au fost observate diferențe semnificative. Mustul ravac macerat are  $DO_{420\text{ nm}} = 0,2-0,6$  iar mustul ravac nemacerat are valori mult mai mici  $DO_{420\text{ nm}} = 0,01-0,02$  (fig. 7.24).

Se cunoaște faptul că mustul se îmbogățește în compuși polifenolici în timpul operației de macerare (Darias-Martin și colab., 2000).

În acest caz macerarea mustuielii în presă conduce la obținerea unui must cu un conținut mai mare de fenoli. Pe măsură ce crește presiunea, fracțiunile de must se îmbogățesc în polifenoli din părțile solide ale strugurelui (pielile și semințe).

Conținutul în polifenoli totali este mai mare în cazul mustului ravac macerat, decât pentru mustul ravac nemacerat (fig. 7.25).

Prin evaluarea randamentului în must ravac în cazul celor două sisteme de presare, se observă că prin macerarea mustului cantitatea de must ravac este superioară, probabil datorită activității enzimelor pectolitice endogene din boabele de struguri, decât cantitatea de must ravac obținută prin presare directă (fig. 7.26).

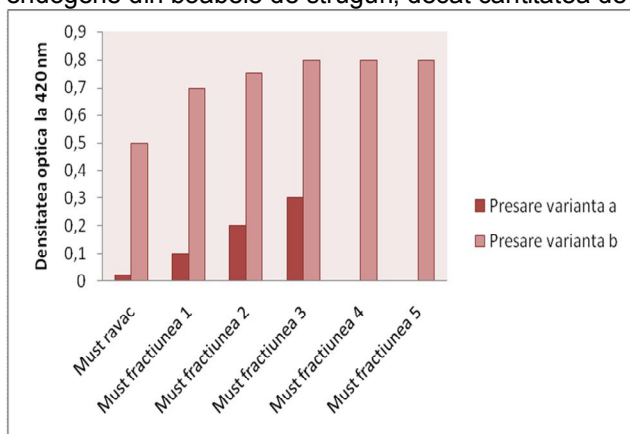


Figura 7.24. Intensitatea culorii a fracțiunilor de must pentru ambele variante de presare

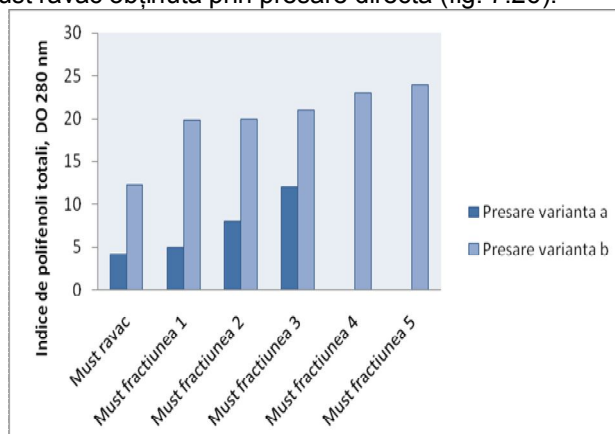


Figura 7.25. Indicele de polifenoli totali a fracțiunilor de must pentru ambele variante de presare

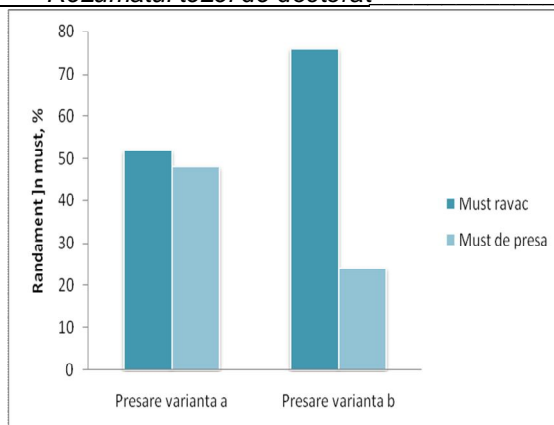


Figura 7.26. Randamentul în must pentru ambele variante de presare

#### 7.2.4. Concluzii parțiale

- Conținutul de zahăr al mustului nu a fost diferit în cele două sisteme de presare, o scădere fiind înregistrată odată cu creșterea presiunii.
- Aciditatea totală scade cu creșterea presiunii, mai ales în cazul presării directe a mustuielii. pH-ul crește cu fiecare fracțiune de presare, într-adevăr, la un nivel de calitate necorespunzător pentru vinificare.
- Macerarea a condus la obținerea unui must ravac mai puțin tulbure. Turbiditatea a fost drastic redusă prin mărirea presiunii la fracțiunile finale de must. Macerarea a condus la obținerea unui must ravac cu un conținut fenolic mai ridicat monitorizat prin DO la 420 nm și la DO 280nm.
- Cu toate acestea, prin controlul timpului de macerare și a temperaturii se poate reduce DO la 420nm, a mustului ravac.
- Conținutul în polifenoli al mustului ravac crește la varianta cu macerare, cunoscându-se efectul benefic al acestora asupra sănătății umane.
- Macerarea mustuielii înainte fermentării conduce la obținerea unei cantități mai mari de must ravac.
- Din aceste motive macerarea strugurilor înainte de presare, în presa discontinuă poate fi o alternativă pentru obținerea vinurilor aromate de calitate.

### CAPITOLUL 8. Concluzii finale

1. Calitatea vinurilor este un concept foarte complex ca mod de exprimare precum și ca mod de formare a acestei caracteristici și își are originea în calitatea strugurilor și este puternic influențată de modul de conducere a fiecărei faze tehnologice ce marchează formarea și evoluția vinurilor. Între aceste etape generale de obținere, vinificația primară are un impact hotărâtor asupra evoluției și stabilității vinurilor.
2. Utilizarea preparatelor enzimatice în vinificație, caută să optimizeze aproape toate operațiile vinificației primare zdrobirea strugurilor, macerarea mustuielii - în tehnologia vinurilor aromate, scurgerea mustului, presarea mustuielii, limpezirea musturilor și a vinurilor.
3. Pentru ca efectele utilizării acestei variante biotehnologice de obținere a vinurilor, să fie cât mai remarcabile, preparatele enzimatice de uz oenologic s-au specializat foarte mult, adaptându-se caracteristicilor sortimentului de struguri, particularităților unor operații tehnologice și scopurilor urmărite.
4. Dacă unele preparate enzimatice măresc eficiența unor operații tehnologice sau determină îmbunătățirea calității vinurilor (culoare, aromă, extractivitate), alte preparate enzimatice aduc rezolvarea unor probleme tehnologice care până acum nu puteau fi soluționate cu variantele clasice. Un astfel de caz, este limpezirea vinurilor provenite din struguri botritizați, care nu cedează la tratamentele clasice de limpezire, ceea ce afectează evoluția și stabilitatea acestor vinuri.
5. Modul de utilizare a preparatelor enzimatice trebuie ales în coreșpondență cu multitudinea factorilor ce influențează desfășurarea operațiilor tehnologice din vinificație. El trebuie corelat cu compoziția strugurilor în momentul recoltării, cu nivelul tehnologiei folosite și cu caracteristicile vinurilor ce se vor obține.
6. Studiile efectuate până acum, au urmărit efectele utilizării preparatelor enzimatice, efecte obținute în special în momentul vinificării. Nu s-au putut trage încă concluzii asupra evoluției și stabilității acestor efecte în timp, atât datorită diversificării și specializării producerii preparatelor enzimatice de uz oenologic cât și a faptului că în ultima perioadă tendința consumatorilor este orientată către vinuri tinere.
7. Stabilirea corectă a tehnologiilor de vinificare cu ajutorul preparatelor enzimatice, este încă un deziderat, care însă reușește să capteze interesul tehnologilor care doresc să obțină vinuri de marcă.

8. Prin alegerea corectă a drojdiei selecționate, potrivită soiului și zonei de producție a strugurilor Muscat Ottonel, se pot obține rezultate corespunzătoare tipicității zonei (fără diferențe majore la aromă și structură a vinului), dar cu un plus în ceea ce privește finețea gustativă și olfactivă; acest lucru este important, deoarece tehnologul poate utiliza în mod frecvent aceste drojdii selecționate indiferent de condițiile climaterice, pentru a obține o calitate relativ constantă a vinurilor.
9. Pentru musturile din același areal care provin din același soi de struguri (Muscat Ottonel, Murfatlar), indiferent de parcela din vie, din care provin strugurii, nu există o influență majoră din punct de vedere al cineticii fermentării în funcție de drojdiile selecționate utilizate, acestea comportându-se relativ constant din punct de vedere a vitezei de fermentare.
10. Indiferent de tehnologia de vinificație (tradițională sau modernă) există posibilitatea ca prin alegerea judicioasă a drojdiei selecționate pentru fermentație, ce produce mulți compuși de aromă, tipicitatea aromatică a soiului, gustul și corpolența sa fie puternic influențate.
11. Există posibilitatea de a intensifica aromele considerate tipice soiului Muscat Ottonel (coriandru, trandafir, flori de portocal, flori de tei) utilizând o drojdie selecționată ce generează o cantitate mare de arome de fermentare, dar vinificatorul trebuie să fie atent pentru a nu modifica tipicitatea aromatică și a nu accentua anumite arome (de ex. aromele vegetale) ce pot fi considerate neplăcute de către consumatori.
12. Conținutul în glicerol și esteri al vinurilor fermentate cu drojdiei selecționate este superior variantelor fermentate spontan, pe seama produșilor de metabolism ai drojdiilor în timpul fermentației alcoolice.
13. În cazul în care solicitările consumatorilor se îndreaptă spre vinuri mai aromate, acest lucru este realizabil din punct de vedere tehnologic, prin utilizarea unei deburbări enzimatică a mustului și prin utilizarea unor drojdii selecționate adaptate producerii unei cantități mai mari de metaboliți aromatici de fermentație.
14. Extracția terpenelor libere și a celor legate din pielețele strugurilor este condiționată de temperatura de macerare, durata de macerare, cât și de utilajul în care are loc operația de macerare.
15. Operația de presare alături de operația de macerare are o influență majoră asupra calității mustului și implicit asupra vinului obținut.
16. Pentru o mai bună caracterizare aromatică a soiului Muscat Ottonel, în scopul evidențierii tipicității aromatice a soiului este foarte importantă gestionarea corectă a procesului de vinificație, în special a operației de macerare și presare cât și alegerea tulpinii de drojdie selecționată pentru fermentație.
17. A fost elaborată o schema tehnologică optimizată pentru producerea vinurilor albe aromate de calitate în podgoria Murfatlar din struguri Muscat Ottonel.

### **9. Contribuții și perspective de continuare a cercetărilor**

Producerea vinurilor albe aromate de calitate este un domeniu de activitate cu o vechime considerabilă. În permanență specialiștii s-au străduit să aducă contribuții noi la îmbunătățirea calității aromatice a vinului produs finit. Astfel, având în vedere acest obiectiv, pe parcursul studiului s-au realizat studii asupra modului de obținere a vinurilor albe de calitate în funcție de condițiile de macerare utilizate și utilajele în care se realizează operația, a tulpinii de drojdie utilizate, cât și a preparatelor enzimatică utilizate.

Originalitatea cercetărilor efectuate, în conformitate cu obiectivele științifice ale tezei de doctorat, se concretizează printr-o serie de elemente de noutate, care sporesc valoarea științifică a studiilor realizate.

În baza rezultatelor experimentale originale obținute în teză se pot evidenția drept contribuții științifice și practice următoarele:

- s-au evaluat caracteristicile fizico-chimice ale strugurilor din soiul Muscat Ottonel din podgoria Murfatlar în perioada 2007-2010;
- s-a studiat utilizarea enzimelor de macerare și a enzimelor cu activitate  $\beta$ -glucozidazică în elaborarea vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel;
- s-a evaluat dinamica procesului de limpezire a mustului sub acțiunea preparatelor enzimatică;
- s-a studiat evaluarea comportamentul drojdiilor selecționate și a celor din microflora epifită în condiții aerobe de cultivare;
- s-a realizat selecția tulpinii de drojdie dotată cu activitate enzimatică  $\beta$  glucozidazică în vederea elaborării vinurilor albe aromate din struguri soiul Muscat Ottonel;
- s-a cuantificat sinergia dintre culturile de drojdie selecționate și preparatele enzimatică cu activitate  $\beta$  glucozidazică;
- s-a studiat influența operației de macerare asupra calității vinurilor albe aromate din struguri din soiul Muscat Ottonel;

În acest fel s-au relevat modalități practice de obținere vinurilor albe aromate de calitate foarte bună, lucru care se reflectă într-o eficiență economică ridicată.

Toate acestea au fost posibile datorită existenței unor echipamente moderne de procesare cât și datorită dotării corespunzătoare a laboratorului cramei și nu în ultimul rând a calificării superioare a personalului.

Pe parcursul elaborării tezei de doctorat rezultatele obținute au fost comunicate la diverse manifestări științifice și publicate. Originalitatea studiilor realizate constă în evaluarea și monitorizarea tuturor factorilor care influențează direct calitatea vinurilor albe aromate obținute din struguri Muscat Ottonel.

Rezultatele cercetărilor experimentale obținute pot constitui o bază de date științifice, care pot fi punctul de plecare în vederea continuării cercetărilor cu privire la utilizarea biotehnologiilor moderne pentru obținerea vinurilor albe aromate din struguri Muscat Ottonel de calitate foarte bună.

Dar, după cum se știe, orice lucrare nu poate oferi totul, aceasta fiind doar o secveță a unui studiu care poate continua.

#### 10. Concretizarea rezultatelor obținute în urma cercetărilor pe tematica tezei de doctorat

##### Articole/studii publicate în reviste din țară recunoscute de CNCIS

- Itu N., Râpeanu G., Hopulele T., 2011, *Assessment of free and potentially volatile monoterpenes in Muscat Ottonel grapes variety*, Ovidius University Annals of Chemistry, Volume 22(1), 27-31. [http://www.univ-ovidius.ro/anale-chimie/chemistry/2011-1/5\\_Itu.pdf](http://www.univ-ovidius.ro/anale-chimie/chemistry/2011-1/5_Itu.pdf)
- Itu N., Răpeanu G., Hopulele T., 2011, *Effect of maceration enzymes addition on the aromatic white winemaking*, The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI – Food Technology, ISSN 1843 - 5157, New Series, Year III (XXXIII), in press [http://www.ann.ugal.ro/tpa/in\\_press.htm](http://www.ann.ugal.ro/tpa/in_press.htm)
- Itu N., Răpeanu G., 2011, *The use of commercial enzymes in white grape must clarification*, Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, in press.

##### Articole publicate în reviste indexate în baze de date internaționale BDI

- Itu N., 2008, *Synergy between selected yeast and  $\beta$ -glucosidase activity of enzymatic preparations used to obtain flavored wine*, Innovative Romanian Food Biotechnology, 2, 40-47.

##### Participari la manifestări științifice internaționale

- Itu N., Răpeanu G., 2011, *Assessment of free and potentially volatile monoterpenes in Muscat Ottonel grapes variety*, International Conference CHIMIA 2011 "New trends in applied chemistry", June 9-10, Constanta, Romania.
- Itu N., Răpeanu G., 2010, *Enhancement of aroma in Muscat Ottonel white wines by using  $\beta$ -glucosidase enzyme preparations*, International Symposium Euro – aliment 2011, Bridging Education and Research with Engineering and Industry, 6-7 octombrie 2011, Galati, Romania.

##### Alte publicații

- Croitoru C., Nedjma M., Mencinicopschi Gh., Sabalyrolles J.M., Carapid P., Busuioc O.P., Itu N., s.a., 2005 - Fermentația alcoolică. Optimizarea nutriției drojdiilor, Simpozionul Național „Biotehnologii noi utilizate în vinificația modernă pentru îmbunătățirea calității senzoriale a vinurilor”, Predeal, 01-02 Iulie 2005, 3-9.
- Croitoru C., Nedjma M., Mencinicopschi Gh., Moutonet M., Carapid P., Busuioc O.P., Itu N., s.a., 2005, Enzime și derivați de origine levuriană. Valificarea și stabilizarea potențialului aromatic (odorant) al vinurilor, Simpozionul Național „Biotehnologii noi utilizate în vinificația modernă pentru îmbunătățirea calității senzoriale a vinurilor”, Predeal, 01-02 Iulie 2005, 10-21.
- Croitoru C., Nedjma M., Mencinicopschi Gh., Herve A., Carapid P., Busuioc O.P., Itu N., s.a., 2005, Profilul aromatic al vinurilor. Sinergia dintre drojzii și enzimele  $\beta$  glicozidazice, Simpozionul Național „Biotehnologii noi utilizate în vinificația modernă pentru îmbunătățirea calității senzoriale a vinurilor”, Predeal, 01-02 Iulie 2005, 34-52.
- Croitoru C., Nedjma M., Mencinicopschi Gh., Herve A., Carapid P., Itu N., Horșia C., Dorneanu D., Busuioc P.O., Codreși C.C., Roșu C., Popovici L., Marin I., Stoica G., s.a., 2006, Valorizarea potențialului aromatic varietal al vinurilor în urma hidrolizei constituentilor glicozil-glicozilati prin procedee biotehnologice". Sesiunea științifică anuală a I.C.D.V.V. Valea Călugărească, 06 septembrie 2006, Analele LC.D.V.V. vol. XIX, LS.S.N. 0277-829a, Ed. Ceres București.

##### Bibliografie selectiva

- Aleixandre J. L., Garcia, Ma. J., 1993, *Influencia del prensado en la calidad del vino*. Viticultura y Enologia Profesional, 24, 31-37.
- Alliata, P., 1995, *Extraction de polyphenols avec enzyme, en vinification en rouge*, Vignevine, 22(7/8), 54-56.
- Amrani, J.K., Glories, Y., 1995, *Les tanins et les anthocyanes dans le raisin localisation et technics d'extaction*, Revue Francaise d'Oenologie, 153, 28-31.
- Andrades M.S., González-SanJose M.L., 1995, *Influencia climática en la maduración de la uva de vinificación: estudio de cultivares de la Rioja y de Madrid*, Zubia monográfico 7, 79-102.
- Țârdea C., 2007, *Chimia și analiza vinului*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași.
- Țârdea C., Sârbu Ghe., Țârdea A., 2010, *Tratat de vinificație*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași.

### Rezumatul tezei de doctorat

- Arfelli G., Chiavari G., Castellari M., Amati A., 1992, *Influenza della tecnica di vinificazione sul contenuto di sostanze polifenoliche di vini ottenuti da uve di cultivars diverse*. Vignevini, 6, 53–57.
- Arozarena I., Ayestaran B., Cantalejo M.A., Navarro M., Vera M., Abril I., Casp A., 2002, *Anthocyanin composition of Tempranillo, Garnacha and Cabernet Sauvignon grapes from high- and low-quality vineyards over two years*. Eur. Food Res. Tech., 214-303.
- Avramescu, M., Varga, M., 1998, *Cercetari asupra activității peroxidazei din struguri în centrul viticol Valea Călugărească*, Anale I.C.V.V., vol XV, 385-394.
- Bayonove, C., Günata, Z., 1989, *Precursorii de aroma din struguri- studiul hidrolizei enzimatică a glicozizilor terpenici*, Al 6-lea Colocviu de Oenologie Român-Francez: "Noi realizari în domeniul productiei de vinuri", Minis, 29 iunie.
- Biotechnology*, Harwood Academic Publishers, Philadelphia; published by Graham H. Fleet Editure, 477-506.
- Canal-Llauberes, R.M., 2002, *Les enzymes de macération en vinification en rouge - Influence d'une nouvelle préparation sur la composition des vins*, Revue des Oenologues, 104, 29-31.
- Castino, M., 1995, *Le molteplici possibilità offerte dall'impiego degli enzimi nella biotecnologia della vinificazione*, Biotecnologie applicate all'industria enologica, Accademia Italiana della Vite e del Vino, Firenze, 37-56.
- Castro Vázquez, L., Pérez-Coello, M.S., Cabezudo, M. D., 2002, *Effects of enzyme treatment and skin extraction on varietal volatiles in Spanish wines made from Chardonnay, Muscat, Airén, and Macabeo grapes*, Analytica Chimica Acta, 458(1), 39-44.
- Clemente-Jimenez J.M., Mingorance-Cazorla L., Martínez-Rodríguez S., Heras-Vázquez F.J.L., Rodríguez-Vico F., 2005, *Influence of sequential yeast mixtures wine fermentation*. Int. J. Microbiol., 98, 301-308.
- Darias-Martin, J. J., Rodriguez, O., Diaz, E., Lamuela-Raventos, R. M., 2000, *Effect of skin contact on the antioxidant phenolics in white wine*. Food Chemistry, 71, 483–487.
- Dubourdieu D., Tominga T., Masneuf I., Peyrot des Gachons C., Murat M.L., 2000, *The role of yeasts in grape flavor development during fermentation: the example of Sauvignon Blanc*. Rantz, J., ed. Proceedings of the 50th Anniversary Annual Meeting of the American Society for Enology and Viticulture; Seattle, Washington; June 19–23 2000. Davis, CA: American Society for Enology and Viticulture; 196–202.
- Fenoll J, Manso A, Hellín, P, Romero A, Ruiz M, Molina MV, Flores, P. 2008. *Evolución de alcoholes terpénicos en uva moscatel de Hamburgo durante la maduración*. Cuadernos de fitopatología, 95, 25- 31.
- Günata, Z., Dugelay, I., Sapis, J.C., Baumes, R., Cordonnier, R., 1992, *Role of the enzymes in the use of the flavour potential from grape glycosides in winemaking*. International Symposium On Flavour Precursors. University of Würzburg, Allemagne, Sept 30-Oct 2. In: Progress in Flavours Precursors Studies; Schreier P., Winterhalter P., Eds ; Allured : Wheaton (Etats-Unis), 219-234, 1993.
- Mendes-Ferreira A., Mendes-Faia A., Leao C., 2002, *Survey of hydrogen sulphide production by wine yeasts*. J. Food Prot. 65, 1033–1037.
- Spiropoulos A., Tanaka J., Flerianos I., Bisson L.F., 2000, *Characterization of hydrogen sulfide formation in commercial and natural wine isolates of Saccharomyces*. Am. J. Enol. Vitic. 51, 233–48.
- Villettaz, J.C., 1996, *Utilisation des enzymes en oenologie pour l'extraction de la couleur et pour l'extraction et la revelation des arômes*, Bulletin de l' O.I.V., 69, 843-860.