

## REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Cuvinte cheie:** Fetească regală, Sauvignon blanc, enzime,  $\beta$ -glicozidaze, pectolitice, aminoacizi, compuși volatili, compuși fenolici, caracteristici senzoriale.

Calitatea generală a vinului, structura și compoziția chimică a acestuia sunt dependente de caracteristicile materiei prime, particularitățile fermentației alcoolice și de tehnologia de vinificație aplicată (Losada ș.a., 2011). Conștientizarea rolului major pe care îl manifestă enzimele în tehnologia de vinificație contribuie la dezvoltarea strategiilor de optimizare a procesului de producție în vederea îmbunătățirii structurii și compoziției chimice a produsului final și implicit a caracteristicilor senzoriale (Boyer, 1970; Falch, 1991; Ugliano, 2009; Wong, 1995).

Numeroase studii (Armada ș.a., 2010; Arnous și Meyer, 2009; Claus și Mojssov, 2018; Kurbanoglu S. ș.a., 2020; Mojssov, 2013; Osete-Alcaraz ș.a., 2019; Ottone ș.a., 2019; Pardo ș.a., 1999) au confirmat impactul pozitiv al utilizării enzimelor la nivel industrial, atât din punct de vedere al calității produselor finale cât și al optimizării tehnologiilor de producție aplicate. În acest sens, scopul stabilit pentru întocmirea prezentului experiment a constat în monitorizarea evoluției calității vinurilor sub acțiunea tratamentelor enzimatiche. Au fost alese enzime comerciale de tipul pectinazelor și  $\beta$ -glicozidazelor, recomandate a fi administrate în diverse etape tehnologice. Lucrarea se focusează pe studiul influenței preparatelor enzimatiche administrate înaintea fermentației alcoolice, chiar dacă majoritatea studiilor analizează utilizarea acestora în diferite stadii ale procesului de vinificare. Produsele oenologice utilizate pentru obținerea probelor îndeplinesc condițiile și amendamentele prevăzute în Codexul Oenologic Internațional al OIV și Codex Alimentarius al FAO. Monitorizarea evoluției unor compuși (aminoacizi, compuși fenolici, compuși volatili) este încă o temă de interes în domeniul cercetării, existând relativ puține studii în acest sens.

Pentru a răspunde scopului propus, teza de doctorat cu titlul „**STUDII PRIVIND INFLUENȚA FOLOSIRII UNOR PREPARATE ENZIMATICE ÎN TEHNOLOGIA DE OBȚINERE A VINURILOR ALBE ÎN PODGORIA IAȘI**” a avut următoarele obiective: elaborarea planului experimental și realizarea propriu-zisă a probelor în conformitate cu acesta; analiza fizico-chimică a musturilor obținute; studiul influenței enzimelor asupra caracteristicilor fizico-chimice ale probelor de vin; studiul acțiunii enzimelor asupra parametrilor cromatici ai probelor experimentale finale; monitorizarea evoluției principalilor compuși fenolici și volatili în timpul fermentației alcoolice; monitorizarea evoluției aminoacizilor din probele experimentale în timpul fermentației alcoolice; studiul modificărilor senzoriale ale vinurilor în funcție de tipul preparatelor enzimatiche administrate; interpretarea statistică a rezultatelor obținute și compararea rezultatelor cu cele din literatura de specialitate.

Teza de doctorat este structurată în 7 capitole principale, după cum urmează:

- **capitolul 1** cuprinde aspecte generale asupra tehnologiei de obținere a vinurilor albe, fiind prezentată tehnologia de obținere a vinurilor albe cât și informații generale privind procesele biochimice desfășurate în timpul fermentației alcoolice.
- **capitolul 2** abordează elemente fundamentale privind compoziția chimică a vinului.
- în **capitolul 3** sunt structurate considerații generale asupra enzimelor.
- **capitolul 4** prezintă informații asupra stadiului actual al cercetării privind utilizarea enzimelor în tehnologia de producere a vinurilor.
- **capitolul 5** descrie cadrul natural, instituțional și organizatoric al cercetării.

- **capitolul 6** prezintă scopul și obiectivele cercetării, materialul și metodologia de cercetare aplicate.

- **capitolul 7** cuprinde rezultate obținute și discuții în urma analizării influenței tratamentelor enzimaticе asupra parametrilor fizico-chimici, cromatici, concentrației compușilor fenolici, volatili și aminoacizilor, dar și asupra caracteristicilor senzoriale ale vinurilor albe.

În final, teza de doctorat prezintă concluziile trasate în urma realizării experimentului.

Probele experimentale au fost realizate în cadrul Laboratorului de Oenologie al Facultății de Horticultură, din cadrul Universității pentru Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași, în anul 2018. Pentru realizarea cercetării propuse au fost alese soiurile Fetească regală și Sauvignon blanc, extrem de răspândite în podgoriile României și apreciate de consumatori. Determinarea parametrilor fizico-chimici, cromatici, senzoriali, precum din monitorizarea evoluției aminoacizilor din probele obținute s-a realizat în cadrul Laboratorului de Oenologie a Facultății de Horticultură, Universitatea pentru Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași. Monitorizarea evoluției compușilor fenolici și a constituenților volatili a avut loc în cadrul Universității de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” din Cluj-Napoca. Determinările de laborator s-au efectuat conform normelor și metodelor acreditate și indicate de legislația în vigoare și în literatura de specialitate, precum și a celor impuse de către Organizația Internațională a Viei și Vinului (OIV, 2020).

În cadrul prezentei lucrări au fost monitorizați următorii parametri: concentrația de zaharuri fermentabile a strugurilor în momentul recoltării (metoda refractometrică); aciditatea titrabilă a musturilor și vinurilor obținute din acestea (metode titrimetice); pH-ul musturilor și al vinurilor (cu ajutorul unui pH metru); densitatea vinurilor rezultate (metoda densimetrică); concentrația alcoolică a probelor finale (metoda distilării simple); aciditatea volatilă a vinurilor (prin titrimetrie); conținutul dioxidului de sulf liber și total din vinuri (metoda iodometrică); nivelul de zaharuri reducătoare al probelor experimentale (metoda Luff Schroll); extractul sec total și nereducător al probelor finale; concentrațiile de acid malic și lactic din vin; parametrii cromatici ai vinurilor obținute (cu ajutorul spectrofotometriei UV-VIS); conținutul principalilor compuși fenolici în diferite stadii ale fermentației alcoolice (prin cromatografie lichidă); concentrația principalilor compuși volatili în diferite etape ale fermentației alcoolice (prin cromatografie gazoasă); conținutul de aminoacizi în diferite momente ale fermentației alcoolice (cu ajutorul cromatografiei de lichide de înaltă performanță); analiza senzorială a probelor experimentale obținute.

Administrarea tratamentelor enzimaticе a prezentat o influență minoră asupra proprietăților fizico-chimice ale probelor finale, obținându-se multiple grupuri omogene, între care nu a existat o diferență statistică semnificativă ( $p > 0,05$ ). Rezultate comparabile au fost obținute și de Moroșanu ș.a. (2016), Samoticha ș.a. (2016).

Rezultatele obținute evidențiază diferențe semnificative între valorile parametrilor cromatici ai probelor analizate, în funcție de tratamentul enzimatic administrat. Toate probele de Fetească regală au prezentat o valoare ridicată a **clarității**, cu nuanțe predominante de galben și roșu, cu excepția probei V1, care a fost definită prin culoarea verde și galben. Nivelul clarității în cazul variantei V1 este semnificativ mai ridicată față de restul eșantioanelor studiate ( $p < 0,05$ ). Probele de Fetească regală au prezentat cea mai mare diferență colorimetrică și de tonalitate ( $p < 0,05$ ) în cazul variantei V1 comparativ cu proba martor. Pentru cea de-a doua categorie de probe, valorile  $\Delta E$  au manifestat scăderi semnificative ( $p < 0,05$ ). La soiul Sauvignon blanc, cea mai mare diferență colorimetrică și de tonalitate a fost obținută la proba V5 comparativ cu proba martor. Se observă ca tratamentul cu bentonită a determinat o reducere a principalilor parametrii cromatici (**claritate, cromaticitate, saturație**), dar și o creștere a valorilor în cazul tonalității. Astfel, pe baza datelor obținute, este confirmată acțiunea majoră a tratamentului cu bentonită asupra limpidității și aspectului vinului. Rezultate similare privind acțiunea majoră a enzimelor asupra caracteristicilor cromatice ale vinurilor

albe au fost publicate și de [Ducasse ș.a. \(2010\)](#), [El Darra ș.a. \(2016\)](#), [González-Neves ș.a. \(2013\)](#), [Kelebek ș.a. \(2007\)](#), [Kelebek ș.a. \(2009\)](#), [Main și Moriss \(2007\)](#).

Probele analizate au prezentat variații diferite ale conținutului în **compuși fenolici**, atât în funcție de tipul de enzimă administrat cât și de soiul strugurilor utilizați la vinificare. Majoritatea vinurilor Fetească regală s-au caracterizat printr-un conținut ridicat în acid protocatehic și cafeic. Concentrațiile cele mai ridicate au fost obținute la varianta V1, probele martor înregistrând cea mai mică concentrație în compuși fenolici. Probele de vin care au fost tratate prin cleire cu bentonită au înregistrat o diminuare semnificativă a concentrațiilor compușilor fenolici comparativ cu celelalte variante, cu excepția acidului ferulic, ale cărui concentrații au crescut. Probele Sauvignon blanc s-au caracterizat printr-un conținut ridicat în acid protocatehic, caftaric, dar și în *trans*- și *cis*-resveratrol. Variantele condiționate prin administrarea de bentonită au înregistrat reduceri ale concentrațiilor compușilor analizați comparativ cu variantele fără bentonită. Administrarea tratamentelor enzimatică a determinat diferențe semnificative între concentrațiile principalilor compuși fenolici identificați ( $p < 0,05$ ) (cu excepția acidului *p*-cumaric, ferulic și quercitinei), fiind respinsă ipoteza nulă, conform căreia toate variabilele ar prezenta valori egale. Efectele tratamentelor enzimatică asupra compoziției chimice a vinurilor au fost studiate pe scară largă; numeroase cercetări care au urmărit influența unor produse oenologice similare ([Bartwosky ș.a., 2004](#); [Bautista-Ortin ș.a., 2011](#); [Fernández González ș.a., 2005](#); [Lengyel 2014](#); [Masino ș.a., 2008](#); [Pardo ș.a., 1999](#)) au raportat creșteri semnificative ale compoziției fenolice a vinului.

În ceea ce privește concentrația în aminoacizi, vinurile Fetească regală s-au caracterizat printr-un conținut ridicat în prolină, arginină și alanină. Similar, unii autori ([Agustini ș.a., 2014](#); [Castor și Archer, 1955](#); [Herbert ș.a., 2000](#); [Stines ș.a., 2000](#); [Valero ș.a., 2003](#)) au obținut concentrații ridicate în prolină și arginină. Cei doi compuși nu se consumă în timpul fermentației alcoolice datorită condițiilor anaerobe și ca urmare a metabolismului argininei. [Beltran ș.a. \(2004\)](#) au raportat cantități comparabile ale compusului asparagină (aproximativ 45 mg/L), lizină (16 mg/L) și prolină (aproximativ 500 mg/L). Vinurile Sauvignon blanc s-au remarcat printr-un conținut ridicat în aminoacizii prolină, alanină, acid glutamic, acid aspartic și respectiv, serină. De cealaltă parte, cele mai mici cantități au fost înregistrate în cazul cistinei și cisteinei.

Numeroși autori au monitorizat nivelul compușilor cu azot și variația acestuia în timpul procesului de vinificație ([Carrau ș.a., 2008](#); [Bergdahl ș.a., 2012](#); [Jules ș.a., 2004](#); [Pinu ș.a., 2014](#); [Zhang ș.a., 2003](#)). Unii aminoacizi, cum ar fi tirozina, glicina sau ariginina, nu au fost consumați de către levurile *Saccharomyces cerevisiae* administrate în timpul fermentației alcoolice a probelor Sauvignon blanc, ceea ce confirmă observațiile anterioare făcute asupra vinurilor albe de către [Valero ș.a. \(2003\)](#) și [Pinu ș.a. \(2014\)](#). În conformitate cu datele prezentate de [Cosme ș.a. \(2016\)](#), sinteza aminoacizilor în struguri are loc, de obicei, la finalul etapei de maturare a acestora, prolină și arginină fiind principalii compuși cu azot identificați, urmați de alanină, acid aspartic și glutamic, în cantități mai reduse. În concluzie, datele obținute ilustrează o variație importantă a profilului de aminoacizi în funcție de soiul de struguri și de tratamentul enzimatic aplicat.

În urma analizelor realizate prin cromatografie de gaze, în probele experimentale obținute au fost identificați peste 65 de compuși volatili, diferențiat, în funcție de soi. Astfel, în cazul variantelor de Fetească regală, au fost identificați: 25 esteri, 12 alcooli, 12 hidrocarburi, 11 acizi, și alți compuși (compuși carbonilici, terpene, compuși cu azot, fenoli volatili etc.). De cealaltă parte, la probele Sauvignon blanc au predominat compușii din clasa esterilor (20), urmați de alcooli (15), hidrocarburi (16), acizi (7) și alți compuși. Compușii volatili identificați pot proveni din materia primă, fiind transferați în must în timpul procesului de vinificare sau se pot forma în timpul fermentației alcoolice, în urma reacțiilor biochimice care au loc în vin. Administrarea tratamentelor enzimatică a determinat diferențe semnificative între concentrațiile compușilor volatili identificați ( $p < 0,05$ ), fiind respinsă ipoteza nulă, conform căreia toate variabilele ar prezenta valori egale. Cele mai ridicate concentrații

pentru majoritatea compușilor au fost obținute în cazul variantei V1 la ambele soiuri analizate. Numeroase studii au indicat îmbogățirea profilului de aromă al vinurilor în urma administrării de diferite preparate enzimaticice (Armada ș.a., 2010; Masino ș.a., 2008; Rocha Silvia ș.a. 2005; Roland ș.a., 2012; Rusjan ș.a., 2009; Tominaga ș.a., 1998; Visan ș.a., 2017).

Tratarea vinurilor cu bentonită a determinat modificări ale proporțiilor compușilor volatili în funcție de clasa compușilor, soiul și tratamente enzimaticice administrate.

În ceea ce privește nivelul compușilor carbonilici în vinurile Sauvignon blanc, administrarea tratamentului cu bentonită a determinat o creștere a ponderei acetoinei (3-hidroxi-2-butanonă) și benzaldehidei. Alți autori au raportat, de asemenea, modificări ale acestor compuși (Vela ș.a., 2017; Vincenzo ș.a. 2015). Numeroși autori au studiat impactul tratamentului cu bentonită asupra esterilor alcoolului etilic. Vincenzo ș.a. (2015) au raportat o tendință descrescătoare a proporției esterilor alcoolului etilic datorată faptului că acești compuși sunt legați de proteine. Lambri ș.a. (2010) au raportat o diminuare a conținutului butiratului de etil și hexanoatului de etil la soiul Chardonnay. Sanborn ș.a. (2010) au obținut o scădere a nivelului decanoatului de etil și acetatului de feniletil la soiul Gewürztraminer și nicio modificare nu a fost semnalată la soiul Chardonnay. În cazul probelor experimentale obținute, această ipoteză a fost confirmată în cazul compușilor: butanoat de etil și dodecanoat de etil la probele Sauvignon blanc și hexanoat de etil, octanoat de etil, 3-hidroxibutanoat de etil, decanoat de etil și 4-hidroxibutanoat de etil la majoritatea variantelor de Fetească regală.

Analiza olfactivă conferă informații importante asupra calității produselor alimentare și băuturilor. În cazul probelor experimentale analizate, se pot observa diferențe organoleptice majore în funcție de tipul de tratament administrat dar și de particularitățile soiului. Toate vinurile rezultate au fost apreciate ca fiind echilibrate, cu o aciditate excelentă, imprimând astfel prospețime și o bună textură.

În cazul soiului Fetească regală, proba martor s-a caracterizat prin arome bogate de flori de câmp, fructe verzi, fân și discrete note vegetale. Varianta V1 s-a remarcat prin gust fructat (fructe coapte) și note de flori de câmp, cu o aciditate și textură excelente. Notele de citrice au fost dominante în proba V2, cu nuanțe fructate (fructe exotice, fructe coapte) și florale (flori de câmp), gust ușor fenolic și o aciditate ridicată. Variantele V3 și V4 s-au remarcat prin arome fructate (fructe coapte, fructe uscate), cu note de fân proaspăt cosit și o bună aciditate. Aroma de fructe verzi a fost bine evidențiată la proba V5, cu nuanțe de fructe exotice și citrice, o bună textură și onctuozitate, dar și aciditate ridicată.

În corelație cu substanțele volatile identificate în probele obținute, se poate considera că profilul organoleptic al vinurilor Fetească regală este definit în special de prezența compușilor: octanoat de etil, acetat de 3-metilbutil, acid hexanoic, acetat de 2-propanil, decanoat de etil ș.a.

La probele obținute din soiul Sauvignon blanc, caracterul vegetal și mineral au fost predominante la varianta V2, urmată de V6, iar cele mai reduse nivele au fost percepute în cazul probei V1. Varianta V3 s-a remarcat prin cele mai intense note fructate (de citrice, fructe exotice, fructe verzi), condimentate, onctuozitate ridicată, gust ușor fenolic, o bună aciditate și textură. Caracterul floral (aroma de trandafir) și fructat (fructe uscate) a fost apreciat la proba V5. Varianta V6 a fost apreciată pentru note dulci de miere, parfum de flori de câmp și fân proaspăt cosit. Conform datelor înregistrate prin gaz cromatografie, compușii 3-metil-1-propanol, 1,6-anhidro-2,3,4-trimetilgalactoză, 3-metil-1-butanol, butandioat de dietil, 1-fenil etanol și acid acetic prezintă ponderi importante, contribuind în cea mai mare măsură la definirea profilului senzorial al vinurilor Sauvignon blanc.

Probele tratate cu bentonită au indicat o reducere a intensității aromelor și a acidității probelor analizate.

În concordanță cu rezultatele obținute, [Bakker ș.a. \(1999\)](#) a raportat, de asemenea, o creștere semnificativă a intensității descriptorilor senzoriali la probele tratate cu enzime pectolitice comparativ cu proba martor.

Varianta V1 a prezentat cele mai mari concentrații ale aminoacizilor, compușilor fenolici și volatili identificați, indiferent de soi.

În concluzie, rezultatele contribuie la dezvoltarea strategiilor de optimizare a procesului de producție în vederea îmbunătățirii structurii și compoziției chimice a produsului final și implicit a caracteristicilor senzoriale. Altfel spus, datele contribuie la dezvoltarea strategiilor de optimizare a procesului de producție în vederea îmbunătățirii calității produsului final.