

## REZUMAT

Vinul este considerat un organism viu fiind într-o continuă evoluție dar această particularitate necesită o monitorizare permanentă a tuturor etapelor începând cu recoltarea materiei prime-strugurii și până la obținerea produsului final-vinul. Cererea consumatorilor pentru alimente cu un aport nutrițional ridicat și de calitate, sigure din punct de vedere al sănătății a crescut, determinând companiile din industria alimentară să adopte noi tehnici de conservare a alimentelor ca alternative moderne față de cele tradiționale.

Utilizarea dioxidului de sulf pentru conservare datează încă de la sfârșitul secolului al XVIII-lea administrat cu precădere în diverse produse alimentare în special pentru conservarea sucurilor de fructe și băuturilor cu pH scăzut obținute prin procesul de fermentație (Santos ș.a., 2012). Datorită faptului că în unele cazuri acest conservant nu poate asigura în totalitate protecție din punct de vedere microbiologic s-a aprobat utilizarea unor antiseptici și antioxidanți care pot completa acțiunea dioxidului de sulf și pot preveni denaturările cauzate de microorganisme sau de procesele chimice existente sau declanșate.

Cercetările efectuate au demonstrat aportul și impactul pozitiv al tratamentelor cu dioxid de sulf și dimetildicarbonat asupra calității globale a vinurilor și implicit pentru optimizarea tehnologiilor de obținere a vinurilor cu conținut redus de dioxid de sulf realizate de Ough, 1975;1988; Lisanti ș.a., 2014; Santos ș.a., 2019; Lisanti ș.a., 2019; Yildirim și Darici, 2020; Muñoz García ș.a., 2021, etc.

Trendul actual al producătorilor este direcționat spre obținerea produselor alimentare obținute cu concentrații reduse sau fără dioxid de sulf astfel că scopul pentru care s-au realizat cele două experimente a vizat monitorizarea evoluției calității vinurilor în urma administrării tratamentelor și identificarea efectelor produse de acestea. Gradul de noutate al acestor studii vizează studiul influenței diferitelor scheme de tratamente cu dioxid de sulf și dimetildicarbonat asupra microorganismelor introduse în mod voit în vinuri și implicit, efectele produse asupra calității acestora. În special, a fost testată capacitatea DMDC-ului asupra activității levurilor inoculate în vinurile experimentale și identificarea modificărilor provocate de acestea. Schemele de tratamente utilizate pentru elaborarea celor două studii au fost în conformitate cu legislația în vigoare a Organizației Internaționale a Viei și Vinului.

Principalele obiective care răspund scopului menționat, au în vedere implementarea protocoalelor experimentale și obținerea variantelor pentru cele două experimente, influența utilizării dimetildicarbonatului în tehnologia de producere a vinurilor în scopul reducerii cantității de SO<sub>2</sub> și capacitatea de a inhiba dezvoltarea microorganismelor, studiul influenței dimetildicarbonatului și SO<sub>2</sub> asupra parametrilor fizico-chimici, cromatici, compușilor volatili, monitorizarea eficacității antimicrobiene a dimetildicarbonatului și a dioxidului de sulf prin comparare cu rezultatele obținute în literatura de specialitate și monitorizarea profilului de aromă al probelor.

Experimentele au fost realizate în cadrul stației micro pilot din cadrul Laboratorului de Oenologie al USV Iași. Au fost obținute câte 45 probe aferente fiecărui experiment în parte. Primul experiment a fost realizat în anul 2018 prelucrându-se struguri din colecția ampelografică a universității, din soiurile Muscat Ottonel și Fetească regală. Procesul de vinificație utilizat a fost specific vinurilor albe cu administrarea tratamentelor de protecție antioxidantivă și antimicrobiană, respectiv dioxid de sulf (40, 80 160 mg/L) și dimetildicarbonat (100, 200 mg/L) și inocul de levuri

precum *Schizosaccharomyces pombe*, *Brettanomyces bruxellensis* în diverse concentrații (30/100 UFC/mL vin). Pentru cel de-al doilea experiment realizat în anul 2020, a fost luat în studiu un vin din soiul Grüner Veltliner, care a fost tratat în acest caz cu 20,40,80 mg/L SO<sub>2</sub> și 100/200 mg/L DMDC iar inoculul de levuri folosit a fost reprezentat de *Brettanomyces bruxellensis* și *Saccharomyces cerevisiae*, 30/100 UFC/mL vin. Probele obținute pentru ambele experiențe au fost păstrate în condiții optime până la efectuarea diverselor analize de laborator.

În vederea determinării analizelor fizico-chimice s-a urmărit evoluția concentrației alcoolice prin distilare simplă, a acidității volatile și acidității titrabile prin titrimetrie, pH-ului cu ajutorul unui pH-metru, a densității cu densimetrul, a dioxidului de sulf liber și total prin metoda iodometrică, a zaharurilor din musturi prin metoda refractometrică iar în cazul vinurilor prin metoda Luff Schrool. Evoluția parametrilor cromatici s-a realizat prin intermediul spectrofotometriei UV-VIS, a compușilor volatili prin intermediul gacromatografiei iar analiza senzorială cu ajutorul specialiștilor în domeniul Oenologiei pe baza unor fișe de degustare. Aceste determinări 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, conform normelor și metodelor acreditate și indicate de legislația în vigoare, precum și a celor reglementate de către OIV-Organizația Internațională a Viei și Vinului (OIV, 2020). În ceea ce privește analizele microbiologice, acestea s-a desfășurat în cadrul laboratorului de Microbiologie al USV Iași. Determinările au fost efectuate periodic, din trei în trei luni, în triplicat sau duplicat, pentru ambele experimente cu scopul de a monitoriza evoluția probelor pe timpul depozitării și păstrării.

În ceea ce privește determinările fizico-chimice pentru variantele experimentului I (V1-V45), se poate constata că nu există diferențe majore între variantele studiate, în urma administrării celor două tratamente cu dioxid de sulf și dimetildicarbonat. Cu toate acestea, variantele fără tratament de DMDC s-au prezentat ca fiind instabile din punct de vedere fizico-chimic, valorile parametrilor analizați variind între perioadele de analiză. În schimb, o bună stabilitate au prezentat variantele V31-V45 a căror schemă de tratamente a fost cea cu 160 mg/L SO<sub>2</sub> și DMDC valorile fiind similare între probele analizate.

Analizând datele din punct de vedere statistic se constată că metoda ACP (analiza componentelor principale) poate fi aplicată pe rezultatele analizei compușilor volatili, evidențiindu-se astfel corelațiile existente între variabilele studiate, la un interval de încredere de 95 %. Conform acestor date, s-au obținut corelații înalte pozitive între compușii identificați: lactat de etil – acetat de etil și 2-metil-1-propanol – 1-propanol ( $r > 0,8$ ). De asemenea, au fost evidențiate astfel corelații pozitive între compuși precum: lactat de etil – acetat de etil; lactat de etil – 1 – butanol; acetat de izoamil – metanol; acetat de izoamil – 2-metil-1-propanol; acetat de izoamil – 1-propanol, etc. În schimb, corelații negative s-au obținut între perechile de compuși: lactat de etil – acetaldehidă; acetat de etil – acetaldehidă; 1-butanol – acetaldehidă.

Administrarea tratamentelor s-a dovedit a fi optimă pentru variantele analizate evidențiind concentrațiile compușilor volatili de interes pentru acest studiu (metanol și acetaldehidă) în limitele legislative și de asemenea stagnarea creșterii excesive a compușilor care pot deprecia vinurile dacă concentrațiile acestora depășesc pragurile sensibile de detecție (acetat de etil, acetat de izoamil etc.) Astfel, se demonstrează eficacitatea tratamentelor cu dioxid de sulf și dimetildicarbonat, care au asigurat stabilitate vinurilor și au inhibat dezvoltarea microorganismelor patogene.

Analiza statistică în cazul primului set de determinări, a indicat o creștere a parametrului  $L^*$  proporțională cu nivelul de dioxid de sulf administrat, pentru primul grup de probe V1-V15. În ceea ce privește parametrul  $a^*$ , în cazul probelor cu dioxid de sulf-40 mg/L cu/fără DMDC valoarea medie a prezentat cea mai mare intensitate, fiind descendentă odată cu creșterea concentrației de dioxid de sulf. Astfel, se poate constata că vinurile nu au culoarea specifică, spre verde, când parametrul „ $-a^*$ ” ar trebui să aibă valori negative. Intensitatea culorii a variat în funcție de gradul de oxidare, varianta cea mai deschisă la culoare fiind stabilă din punct de vedere cromatic, iar proba cu cea mai închisă culoare, cărămizie fiind oxidată.

De asemenea, indicatorul  $b^*$  a prezentat valori invers proporționale nivelului de dioxid de sulf administrat. Astfel, pentru grupul de variante cu dioxid de sulf - 40 mg/L cu/fără DMDC, s-a obținut o valoare medie, de aproape 4 ori mai mică pentru probele cu dioxid de sulf - 80 mg/L cu/fără DMDC și de circa 6 ori mai mică pentru cele cu dioxid de sulf-160 mg/L cu/fără DMDC.

În ceea ce privește al doilea set de analize se constată că probele V1-V15 au un grad de oxidare ridicat, culorile vinurilor având nuanțe cărămizii ceea ce demonstrează că tratamentul cu 40 mg/L  $SO_2$  a fost insuficient și nu a oferit protecție antioxidantă pe o perioadă mai lungă de timp. Pentru indicatorul cromatic  $L^*$ , se remarcă o creștere considerabilă a valorii odată cu creșterea concentrației de dioxid de sulf și DMDC administrată (de la 60 pentru setul de variante dioxid de sulf - 40 până la 99 pentru dioxid de sulf - 160). În cazul indicatorului  $a^*$ , valorile obținute au fost cu mult mai reduse la probele tratate cu cantități mai mari de dioxid de sulf. Se observă astfel o bună stabilitate a vinurilor oferită de tratamentele cu  $SO_2$  și DMDC. În cazul parametrului  $b^*$ , valorile medii au scăzut invers proporțional cu nivelul de dioxid de sulf administrat. În schimb, indicatorii croma, tonalitate și intensitate au variat în funcție de doza de dioxid de sulf administrată în urma valorilor rezultate în cele două perioade de analize.

În acest caz, se poate constata că cele mai bune rezultate s-au evidențiat în cazul variantelor tratate cu doza maximă de 160 mg/L  $SO_2$  și DMDC, schema de tratament propusă asigurând vinurilor o stabilitate din punct de vedere cromatic și implicit protecție antioxidantă.

Comparând rezultatele primului set de analize cu cele obținute în setul al doilea, se poate constata că probele cu doza 40 mg/L  $SO_2$  și/fără DMDC nu au prezentat stabilitate din punct de vedere cromatic, variantele V1-V15 fiind remarcate printr-un grad ridicat de oxidare. Probele cu 80, respectiv 160 mg/L  $SO_2$  și DMDC sunt lipsite de efectele oxidării direct proporțional cu creșterea dozelor de  $SO_2$  și DMDC.

În urma analizelor microbiologice a probelor tratate cu 40 mg  $SO_2$ /L cu/fără DMDC (V1-V15), nu au fost puse în evidență levurile *Schizosaccharomyces pombe* și *Brettanomyces bruxellensis*, indiferent de doza de DMDC utilizată și nici în cazul probelor în care tratamentul nu a fost administrat. Totuși s-au identificat specii bacteriene care aparțin grupului de bacterii lactice, cu forme morfologice sferice (coci) și cilindrice (bacili), vinul a prezentat depozit la baza buteliei, modificări de culoare (mai închisă) și a spumat puternic datorită acumulării de  $CO_2$ . În ceea ce privește probele tratate cu 80 mg/L  $SO_2$  și/fără DMDC se constată o îmbunătățire a culorii vinurilor și un grad de refermentare mai scăzut, dar și absența levurilor menționate în cazul probelor tratate doar cu DMDC. Cele mai bune rezultate pot fi puse pe seama concentrațiilor maxime de 160 mg/L  $SO_2$  și DMDC, în acest caz vinurile au prezentat stabilitate microbiologică, limpiditate ridicată, și o culoare specifică soiurilor din care au fost obținute, lipsit de oxidare și refermentare.

În urma aplicării testului Anova One Way, au fost evidențiate descriptorii senzoriali care au prezentat diferențe semnificative ( $\text{sig.} < 0,05$ ) pentru majoritatea variantelor analizate și anume: caracterul vegetal, aroma de fructe coapte, piersici, prune, fructe verzi, flori de câmp, gustul de marmeladă, de trufe, senzația de acid, amar, sărat, fenolic, onctuos, dar și caracterul de refermentat și respectiv, oxidat. În schimb, în raport cu tratamentul administrat, excepții s-au remarcat pentru notele fructate de mango, grapefruit, măr verde, miere, caracterul dulce, onctuos și de oxidat care nu au înregistrat diferențe statistice semnificative. Rezultatele cele mai bune s-au remarcat pentru grupul de variante V31-V45 tratate cu 160 mg/L SO<sub>2</sub> și DMDC, vinurile fiind cele mai apreciate, echilibrate în gust și arome confirmând și în acest caz eficacitatea tratamentelor asupra vinurilor obținute. Rezultatele obținute sunt puse pe seama potențialului pe care îl manifestă DMDC-ul, de a îmbunătăți și conserva calitatea vinului, de a inhiba dezvoltarea microorganismelor patogene și în principal, de a menține profilul de aromă al acestuia.

În ceea ce privește rezultatele fizico-chimice ale probelor P1-P45 (experimentul II), acestea confirmă faptul că tratamentele cu 20/40 mg/L SO<sub>2</sub> și/fără DMDC variază de la o schemă de tratament la alta, iar cele obținute în urma tratamentului cu 80 mg/L SO<sub>2</sub> și DMDC oferă stabilitate fizico-chimică între parametrii studiați.

Conform analizei în componente principale (ACP) s-au obținut corelații medii ( $r > 0,6$ ) între grupurile de compuși: acetat de etil – 2-metil-1-propanol; acetat de etil – acetat de izoamil; acetat de izoamil – acetaldehidă; 1-butanol – 1-propanol.

Corelații negative pot fi observate între perechile de compuși: acetat de etil – lactat de etil; acetaldehidă – 1-pentanol; metanol – acetat de izoamil, metanol-acetat de etil, 1-pentanol – 2-metil-1-propanol etc. De asemenea, dispunerea grupurilor omogene în sistemul axelor factoriale a evidențiat o corelație pozitivă între majoritatea variantelor experimentale studiate (ex. P40-P42-P17-P34-P7-P1, P27-P36-P16-P45-P31-P19, P39-P13-P23-P12-P20, etc).

În ceea ce privește parametrii cromatici studiați, valorile indicatorului **L\*** au fost ascendente pe măsura creșterii concentrației de dioxid de sulf cu/fără DMDC. Indicatorul **a\*** s-a evidențiat în probele P1-P15 cu valori cuprinse între -0,21 (proba martor P1) și -0,54 (P12) semnul negativ reprezentând intensitatea culorii verde. Din punct de vedere statistic, indicatorul **b\*** care sugerează intensitatea nuanței de galben având valori pozitive, a arătat valori descrescătoare și semnificativ diferite, odată cu majorarea cantității de dioxid de sulf, ( $\text{sig.} < 0,05$ ). În urma acestor rezultate se constată că, în cazul vinurilor obținute pentru experimentul al doilea, pe parcursul creșterii dozelor de tratamente a fost vizibilă îmbunătățirea cromatică, luminozitatea atingând valorile maxime (100), efect pus pe seama eficacității tratamentelor asupra menținerii și stabilității cromatice a vinurilor.

În cazul probelor tratate cu 20, 40, 80 mg/L SO<sub>2</sub> cu/fără DMDC se pot observa diferențe cu privire la evoluția și activitatea microorganismelor pe parcursul păstrării vinurilor. În primele 7 zile de la efectuarea experimentului s-au remarcat levurile inoculate doar în probele martor, fără DMDC, tratate în acest caz cu 20/40 mg/L SO<sub>2</sub>. În schimb, în probele cu adaos de 80 mg/L cu/fără DMDC nu au fost identificate specii, tratamentul având acțiune imediată datorată efectului de sinergie cu SO<sub>2</sub> fiind remarcat în acest caz. Pe de altă parte, în ceea ce privește următoarele etape de analize, după 3 luni, și după 6 luni se pot observa multiplicări ale levurilor în toate probele tratate cu dozele cele mai mici, respectiv 20/40 mg/L SO<sub>2</sub> dar și cu DMDC. În schimb, probele tratate cu 80 mg/L SO<sub>2</sub> și DMDC au prezentat cea mai bună stabilitate în toate perioadele de

analiză, levurile fiind identificate doar în probele martor, fără DMDC. Rezultate similare au fost obținute și de Threlfall și Morris, 2002, eficacitatea tratamentelor administrate asupra concentrațiilor levuriene fiind pusă pe seama sinergiei dintre acestea.

Un impact din punct de vedere senzorial au confirmat tratamentele administrate manifestând acțiune semnificativă asupra indicatorilor senzoriali analizați, cu excepția caracterului vegetal, dulce, dar și crocant. Astfel s-au obținut corelații pozitive între perechile de descriptori: piersici - fructe coapte, piersici - grapefruit, fructe coapte - grapefruit, fructe verzi - flori de câmp, flori de câmp - vegetal etc. Corelații negative s-au evidențiat între indicatorii fenolic - fructe coapte, fenolic - piersică, fenolic - grapefruit, sărat - fructe coapte, sărat - piersică, sărat - grapefruit etc. Observând distribuția variantelor experimentale, s-au evidențiat numeroase corelații pozitive între probele: P10-P1-P13-P4-P11, P33-P32-P44, P21-P24-P30, P19-P28-P16, etc. De cealaltă parte, corelații negative s-au obținut între probele P33-P1 sau P42-P2. Pe baza acestor rezultate se constată că acțiunea sinergică dintre dioxid de sulf și dimetildicarbonat este evidentă și promițătoare pentru cercetările ulterioare, fiind alternative cu rezultate optime pentru stabilitatea microbiologică și antioxidativă a vinurilor.

În concluzie, rezultatele menționate contribuie la optimizarea strategiilor de obținere a vinurilor cu concentrații minime de dioxid de sulf și cu adaos de dimetildicarbonat, respectiv, la îmbunătățirea structurii, compoziției chimice și implicit a caracteristicilor senzoriale.