

**UNIVERSITATEA PENTRU ȘTIINȚELE VIETII „ION IONESCU DE
LA BRAD” DIN IAȘI
FACULTATEA DE HORTICULTURĂ**

**ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE INGINEREȘTI
DOMENIUL HORTICULTURĂ
SPECIALIZAREA VITICULTURĂ ȘI OENOLOGIE**

TEZĂ DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat,
Prof. Univ. Dr. Valeriu V. COTEA m.c. AR**

**Doctorand,
Ing. Ioana CĂLIN (BUȚERCHI)**

2022

**IASI UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES
FACULTY OF HORTICULTURE**

**DOCTORAL SCHOOL OF ENGINEERING SCIENCES
DOCTORAL DOMAIN HORTICULTURE
SPECIALIZATION VITICULTURE AND OENOLOGY**

DOCTORAL THESIS

**Scientific coordinator,
Univ. prof. PhD Valeriu V. COTEA m.c. AR**

**PhD student,
Eng. Ioana CĂLIN (BUȚERCHI)**

2022

**UNIVERSITATEA PENTRU ȘTIINȚELE VIETII „ION IONESCU DE
LA BRAD” DIN IAȘI
FACULTATEA DE HORTICULTURĂ**

**ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE INGINEREȘTI
DOMENIUL HORTICULTURĂ
SPECIALIZAREA VITICULTURĂ ȘI OENOLOGIE**

TEZĂ DE DOCTORAT

**CERCETĂRI PRIVIND OPTIMIZAREA TEHNOLOGIILOR
DE PRODUCERE A VINURILOR CU CONȚINUT REDUS
DE DIOXID DE SULF ÎN PODGORIA IAȘI**

**Conducător de doctorat,
Prof. Univ. Dr. Valeriu V. COTEA m.c. AR**

**Doctorand,
Ing. Ioana CĂLIN (BUȚERCHI)**

2022

**IASI UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES
FACULTY OF HORTICULTURE**

**DOCTORAL SCHOOL OF ENGINEERING SCIENCES
DOCTORAL DOMAIN HORTICULTURE
SPECIALIZATION VITICULTURE AND OENOLOGY**

DOCTORAL THESIS

**STUDIES CONCERNING THE OPTIMIZATION OF
TEHNOLOGIES TO PRODUCE LOW SULPHUR DIOXIDE
WINES IN IASI VINEYARD**

Scientific coordinator,

Univ. prof. PhD Valeriu V. COTEA m.c. AR

PhD student,

Eng. Ioana CĂLIN (BUȚERCHI)

2022

CUPRINS

INTRODUCERE	6
REZUMAT.....	12
1. ASPECTE INTRODUCTIVE PRIVIND TEHNOLOGIA DE OBȚINERE A VINURILOR ALBE.....	22
1.1. Generalități privind tehnologia de obținere a vinurilor albe	22
2. UTILIZAREA DIOXIDULUI DE SULF ÎN VINIFICAȚIE	27
2.1. Aspecte generale privind originile și formele dioxidului de sulf.....	27
2.2. Acțiunile utile din punct de vedere tehnologic ale dioxidului de sulf manifestate în must și vin	30
2.3. Legislația privind utilizarea dioxidului de sulf în vinificație și influența manifestată asupra organismului uman	34
3. STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR REFERITOARE LA ALTERNATIVELE DE REDUCERE SAU SUBSTITUIRE A DIOXIDULUI DE SULF ÎN VINIFICAȚIE	37
3.1. Generalități care vizează impactul tratamentelor și metodelor cu caracter antioxidant și antiseptic asupra vinurilor.....	37
3.2. Metode fizice utilizate în scopul obținerii vinurilor cu conținut redus de dioxid de sulf	38
3.2.1. Utilizarea presiunii hidrostatice ridicate	38
3.2.2. Acțiunea ultrasunetelor	40
3.2.3. Utilizarea radiațiilor ultraviolete	42
3.2.4. Utilizarea tehnologiei microundelor	43
3.2.5. Tehnologia câmpului electric pulsatoriu.....	44
3.2.6. Tehnologia curentului electric redus	46
3.3. Metode chimice utilizate în vinificație în scopul reducerii concentrațiilor de dioxid de sulf	46
3.3.1. Lizozima	46
3.3.2. Acidul sorbic	48
3.3.3. Acidul ascorbic	49
3.3.4. Bacteriocinele	49
3.3.5. Antibioticele.....	50
3.3.6. Compuși fenolici.....	50
3.3.7. Hidroxitirosolul.....	51
3.3.8. Nanoparticule de argint.....	52
3.3.9. Chitosanul	53
3.3.10. β -Glucanazele	54
3.4. Administrarea dimetildicarbonatului pentru reducerea concentrațiilor de dioxid de sulf din vinuri.....	55

4. CERCETĂRI PRIVIND INFLUENȚA DIOXIDULUI DE SULF ȘI A DIMETILDICARBONATULUI ASUPRA COMPOZIȚIEI FIZICO-CHIMICE ȘI MICROBIOLOGICE A VINURILOR.....	58
5. DESCRIEREA CADRULUI NATURAL, ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL AL CERCETĂRII.....	61
5.1. Descrierea cadrului natural destinat cercetărilor experimentale	61
5.2. Descrierea cadrului organizatoric și instituțional al cercetării	62
5.2.1. Descrierea Centrului de Cercetări pentru Oenologie Iași-Copou și a Laboratorului de Oenologie al Universității pentru Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad din Iași.....	62
5.2.2. Descrierea Laboratorului de Microbiologie din cadrul Universității pentru Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași.....	63
6. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII, MATERIALELE ȘI METODOLOGIA DE CERCETARE.....	65
6.1. Scopul și obiectivele cercetării.....	65
6.2. Descrierea soiurilor folosite pentru obținerea probelor experimentale	66
6.3. Protocolul experimental de obținere al vinurilor cu conținut redus de dioxid de sulf.....	68
6.4. Descrierea metodelor de analiză utilizate.....	75
6.4.1. Determinarea caracteristicilor fizico-chimice ale probelor experimentale	75
6.4.2. Identificarea compușilor volatili din vinurile realizate prin intermediul cromatografiei gazoase	76
6.4.3. Descrierea metodei spectrofotometrice de determinare a parametrilor cromatici pentru vinurile studiate	77
6.4.4. Descrierea protocolului microbiologic aplicat în cadrul experimental	78
6.4.5. Descrierea sușelor levuriene utilizate în cadrul experimentelor	83
6.4.6. Analiza senzorială a probelor experimentale	86
6.4.7. Prelucrarea și interpretarea datelor prin intermediul testelor statistice	87
7. REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	88
7.1. Analiza influenței tratamentelor administrate asupra parametrilor fizico-chimici ai vinurilor obținute.....	88
7.2. Cuantificarea compușilor volatili din vinurile obținute	97
7.3. Identificarea parametrilor cromatici ai variantelor experimentale	114
7.4. Studiul modificărilor de natură microbiologică din probele de vin experimentale.....	130
7.5. Evaluarea caracteristicilor senzoriale a probelor de vin studiate	142
CONCLUZII.....	167
BIBLIOGRAFIE	175
ANEXA 1. LISTA TABELELOR.....	191
ANEXA 2. LISTA FIGURILOR.....	194
ANEXA 3. LISTA DE LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE	196

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION.....	9
ABSTRACT	12
1. GENERAL ASPECTS REGARDING THE WHITE WINES TECHNOLOGY.....	22
1.1. General information on the technology of obtaining white wines.....	22
2. SULPHUR DIOXIDE IN WINEMAKING.....	27
2.1. General information on the origins and forms of sulphur dioxide.....	27
2.2. Technologically useful actions of sulphur dioxide manifested in must and wine.....	30
2.3. Legislation on the use of sulphur dioxide in winemaking and its influence on the human body	34
3. CURRENT STATE OF RESEARCHES REGARDING THE ALTERNATIVES FOR REDUCE OR REPLACEMENT SULPHUR DIOXIDE IN WINEMAKING	37
3.1. General information on the impact of antioxidant and antiseptic treatments and methods on wines	37
3.2. Physical methods used to obtain wines with a low sulphur dioxide content.....	38
3.2.1. Use of high hydrostatic pressure	38
3.2.2. Ultrasound action	40
3.2.3. Use of ultraviolet radiation	42
3.2.4. Use of microwave technology.....	43
3.2.5. Pulsed electric field technology	44
3.2.6. Low power technology.....	46
3.3. Chemical methods used in winemaking to reduce the concentration of sulphur dioxide.....	46
3.3.1. Lysozyme	46
3.3.2. Sorbic acid	48
3.3.3. Ascorbic acid	49
3.3.4. Bacteriocins.....	49
3.3.5. Antibiotics.....	50
3.3.6. Phenolic compounds	50
3.3.7. Hydroxytyrosol	51
3.3.8. Silver nanoparticles.....	52
3.3.9. Chitosan	53
3.3.10. β -Glucanases.....	54
3.4. Administration of dimethyldicarbonate to reduce the concentrations of sulphur dioxide in wines.....	55
4. RESEARCHES CONCERNING THE INFLUENCE OF SULPHUR DIOXIDE AND DIMETHYL DICARBONATE ON THE PHYSICAL-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL COMPOSITION OF WINES.....	58

5. DESCRIPTION OF THE NATURAL, ORGANIZATIONAL AND INSTITUTIONAL FRAMEWORK OF RESEARCH	61
5.1. Description of the natural environment for experimental research	61
5.2. Description of the organizational and institutional framework of the research ..	62
5.2.1. Description of the Iași-Copou Oenological Research Center and the Oenology Laboratory of the Ion Ionescu de la Brad University of Life Sciences in Iași.....	62
5.2.2. Description of the Microbiology laboratory within the "Ion Ionescu de la Brad" University of Life Sciences in Iași	63
6. RESEARCH PURPOSE AND OBJECTIVES RESEARCH, MATERIALS AND METHODOLOGY	65
6.1. Purpose and objectives of the research	65
6.2. Description of the varieties used to obtain the experimental samples.....	66
6.3. Experimental protocol for obtaining wines with low sulphur dioxide content ...	68
6.4. Description of the methods of analysis used	75
6.4.1. Determination of physico-chemical characteristics of experimental samples	75
6.4.2. Identification of volatile compounds in wines by gas chromatography.....	76
6.4.3. Description of the spectrophotometric method for determining the chromatic parameters for the studied wines.....	77
6.4.4. Description of the microbiological protocol applied in the experimental framework.....	78
6.4.5. Description of the yeast strains used in the experiments	83
6.4.6. Sensory analysis of experimental samples	86
6.4.7. Data processing and interpretation through statistical tests	87
7. RESULTS AND DISCUSSIONS	88
7.1. Analysis of the influence of the administered treatments on the physico-chemical parameters of the obtained wines	88
7.2. Quantification of volatile compounds in wines obtained	97
7.2. Identifying the chromatic parameters of the experimental variants	114
7.3. Study of microbiological changes in experimental wine samples	130
7.4. Evaluation of the sensory characteristics of the studied wine samples	142
CONCLUSIONS	171
BIBLIOGRAPHY	175
ANNEX 1. LIST OF TABLES.....	191
ANNEX 2. LIST OF FIGURES	194
ANNEX 3. LIST OF SCIENTIFIC ARTICLES	196

INTRODUCERE

Vinul este cunoscut ca fiind un aliment complex, cu importante și numeroase componente ce contribuie în totalitate la calitatea sa finală (Morgan, 2019). Pentru a obține un produs de calitate este necesar să se aplice un ansamblu de tratamente de condiționare și stabilizare utile în vinificație, pentru a asigura și menține vinul „curat” și pentru a proteja caracteristicile acestuia, culoarea, gustul și aromele definitorii până în momentul consumului (Cotea, 1985). De asemenea, stabilitatea microbiologică a vinului este un criteriu fundamental pentru evaluarea calității. Un vin poate fi stabil din punct de vedere microbiologic prin utilizarea diverselor tratamente chimice, fizice dar și termice, capabile să inhibe proliferarea microorganismelor, să le suprimă sau să le îndepărteze fizic, din compoziția sa. Cel mai frecvent și eficient conservant chimic utilizat cu precădere de oenologi a fost și este dioxidul de sulf. Cu toate acestea, substanța manifestă și unele inconveniente astfel că sunt supuse cercetărilor diverse metode de reducere a cantității de SO₂, alternative de substituie, sau creștere a efectului antiseptic, o provocare pentru industria vinicolă modernă și, prin urmare, pentru cercetarea oenologică (Arriagada-Carrazana ș.a., 2005; Lisanti, 2014).

O importanță majoră prezintă și relațiile care se creează între microorganisme și produsele alimentare, astfel că acestea pot fi utile când ajută la obținerea alimentelor de natură fermentativă (pâine, lactate, vin, bere, oțet) sau negative când activitățile celor patogene modifică starea sanitară a alimentului (Lipșa și Ulea, 2017).

Levurile și bacteriile sunt de fapt, pionii principali în procesul de obținere a vinurilor, transformând zaharurile prezente în compoziția chimică a strugurilor în etanol, de asemenea producând și diverși compuși care contribuie la profilul de aromă al unui vin. Majoritatea vinificatorilor adaugă în mod voit microorganisme comerciale în musturi, pentru a asigura o fermentație reușită și un complex de arome previzibil profilului unui vin cu o anumită specificitate, dintr-o anumită podgorie. Cu toate acestea, unii vinificatori examinează abordări minimaliste de intervenție pe parcursul etapelor de vinificație, care pot include adaosul unui număr redus de substanțe chimice, cum ar fi dioxidul de sulf și permit microorganismelor native din podgorie și cramă să conducă etapa de fermentare.

Datorită eficacității și versatilității, SO₂ este considerat aditivul principal folosit în tehnologia de obținere a vinurilor (Ribéreau-Gayon ș.a., 2006). Cu toate acestea, pe lângă faptul că este administrat ca aditiv, sulfii pot apărea și în mod natural, manifestându-se ca o consecință a fermentației datorită acțiunii levurilor existente, în funcție de tulpinile acestora și de compoziția mustului de struguri. Datorită proprietăților sale, antiseptice și antioxidative, utilizarea dioxidului de sulf în oenologie ca aditiv contribuie într-o mare măsură la îmbunătățirea calității vinului.

Recent, apariția unor reacții adverse i-a determinat pe consumatori să se orienteze asupra produselor „sănătoase” și să prefere vinuri cu niveluri mai scăzute sau chiar fără sulfii suplimentari, chiar dacă din punct de vedere economic, astfel de vinuri necesită tehnologii mai costisitoare (Staub ș.a., 2020). S-a remarcat o creștere a cererii pe piață pentru astfel de vinuri, astfel că, sectorul viti-vinicol dezvoltă noi practici sau chiar optimizează tehnologii, pentru a reduce conținutul de sulfii, în același timp păstrând

caracteristicile organoleptice dorite (D'Amico ș.a., 2016; Cravero, 2019). Cu toate acestea, unii cercetători și oenologi sunt încă convingși că SO₂ este și va fi singurul aditiv care poate oferi stabilitate din punct de vedere chimic și microbiologic pe o perioadă îndelungată și poate duce la obținerea unor vinuri de o calitate aparte (Benito, 2019; Zara și Nardi, 2021).

O nouă provocare oenologică vizează reducerea dozelor de dioxid de sulf folosind diverse substanțe care îndeplinesc un rol similar. Recent, studiile s-au bazat pe administrarea tratamentului cu DMDC sau dimetildicarbonat, renumit inhibitor al microorganismelor patogene pentru băuturile non alcoolice și alcoolice. Inițial a fost utilizat în industria sucurilor, dar tendința este de a fi testat și în industria vinului (Ough, 1975). Pe lângă efectele antiseptice și antioxidative pe care le manifestă tratamentele cu dioxid de sulf și dimetildicarbonat, substanțele contribuie semnificativ și la conturarea și păstrarea caracteristicilor senzoriale în ceea ce privește mirosul și gustul vinului, de asemenea și la o bună stabilizare microbiologică.

În industria vinului s-au folosit diverse inovații tehnologice pentru a îmbunătăți calitatea vinurilor, dar și procese durabile din punct de vedere ecologic care reduc utilizarea produselor care sunt periculoase pentru sănătate (Muñoz García ș.a., 2021). Necesitatea protejării vinului în timpul elaborării și păstrării împotriva modificărilor nedorite și a microflorei a determinat oenologii să introducă în procesul de vinificație și alte materiale oenologice cunoscute sub denumirea de antiseptici și antioxidanți. Cercetările moderne au la bază studiul acțiunii substanțelor de acest fel, caracteristicile, rolul și modificările apărute asupra compoziției și caracteristicilor organoleptice ale vinurilor. Complexul de arome îndeplinește un rol cheie în definirea calității alimentelor și băuturilor, interacțiunea simțurilor mirosului și gustului cu substanțele de aromă determinând acceptarea sau respingerea produselor de către consumatori.

În ceea ce privește obținerea unor vinuri de calitate superioară este necesară cunoașterea reglementărilor actuale referitoare la tratamentele administrate pe parcursul fluxului tehnologic, la metodele de aplicare, etapa destinată tratamentelor și dozele admise. Utilizarea dioxidului de sulf, a dimetildicarbonatului și a altor antioxidanți și antiseptici utilizați în tehnologia băuturilor trebuie să se încadreze în normele legislative și recomandărilor Organizației Internaționale a Viei și Vinului (International Organisation of Vine and Wine), Organizației Mondiale a Sănătății (World Health Organization), Organizației Națiunilor Unite pentru Alimentație și Agricultură (Food and Agriculture Organization) și Codexului substanțelor chimice din produsele alimentare (Food Chemical Codex) (Croitoru, 2009).

În cadrul studiului, a fost monitorizată evoluția vinurilor în ceea ce privește compoziția fizico-chimică a probelor obținute, determinându-se parametri fizico-chimici, cromatici și senzoriali ai vinurilor, diverși compuși volatili care pot apărea în urma administrării tratamentelor cu dioxid de sulf și dimetildicarbonat dar și evoluția levurilor, atât în perioada de pregătire a acestora pentru a fi inoculate, cât și în perioada păstrării probelor. Determinările de laborator s-au efectuat respectând normele și metodele avizate de OIV, dar și cele indicate în literatura de specialitate și de legislația în vigoare.

Experimentul contribuie la îmbogățirea datelor existente în literatura de specialitate, respectiv, la optimizarea metodologiilor de vinificație în vederea obținerii unor vinuri cu conținut minim de dioxid de sulf, dar și a evaluării unor metode chimice și fizice care au în vedere același scop.

Cercetarea vizează rolul dioxidului de sulf în vinurile supuse cercetărilor și oferă o privire de ansamblu asupra stadiului actual al tehnologiilor implementate cu privire la metodele autorizate, sau care au fost propuse pentru autorizare, pentru a înlocui acțiunile acestui aditiv în vinificație. În special, au fost evidențiate diverse metode, alternative propuse pentru a înlocui activitatea antiseptică a dioxidului de sulf, în special pentru a asigura stabilitatea microbiologică a vinurilor. Concret, studiul vizează impactul utilizării dimetildicarbonatului asupra compoziției fizico-chimice și microbiologice a vinurilor studiate și modificările induse în urma utilizării acestui tratament în vederea optimizării tehnologiilor de producere a vinurilor cu un conținut redus de dioxid de sulf.

Studiul a fost elaborat sub îndrumarea domnului prof. univ. dr. mc A.R. Valeriu V. Cotea din cadrul Universității de Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași, căruia doresc să îi adresez sincere mulțumiri pentru toată atenția și tot sprijinul nemărginit oferit pe parcursul acestor minunați ani de studiu. De asemenea, tot respectul meu se îndreaptă către membrii catedrei de Oenologie, Șef lucr. dr. Camelia Elena Luchian, Șef lucr. dr. Cintia Lucia Colibaba, cărora doresc să le adresez mulțumiri și aprecieri pentru susținerea necondiționată.

Experimentul practic a fost realizat în colaborare cu CS III Cătălin Ioan Zamfir, membru al Centrului de Cercetări pentru Oenologie al Academiei Române, Filiala Iași căruia doresc să îi mulțumesc pentru implicare și promptitudine, evaluarea și determinarea parametrilor analizați în colaborare cu CS III Marius Niculaua, CS III Constantin Bogdan Nechita și testarea vinurilor din punct de vedere microbiologic în colaborare cu Conf. dr. Florin Daniel Lipșa, Prodecan al Facultății de Agricultură față de care îmi exprim deosebită considerație și le adresez sincere mulțumiri pentru tot efortul depus pe întreg parcursul colaborării. Sincere mulțumiri colegilor cu care am colaborat, în special dr. ing. Cristina Elena Scutarașu care m-a sprijinit și îndrumat pe tot parcursul stagiului doctoral.

De asemenea, doresc să mulțumesc soțului meu și familiei mele care mi-au călăuzit pașii spre a alege calea cercetării și m-au susținut necondiționat în toți acești ani de studiu.

INTRODUCTION

Wine is known to be a complex aliment with important components that contribute to its final quality (Morgan, 2019). In order to obtain a quality product, it is necessary to apply a set of conditioning and stabilisation treatments useful in winemaking to ensure and maintain the wine "clean" and to protect its characteristics, colour, taste and defining aromas until the moment of consumption (Cotea, 1985). The microbiological stability of wine is also a fundamental criterion for quality evaluation. A wine can become microbiologically stable by using various chemical, physical and thermal treatments capable of inhibiting the proliferation of micro-organisms, suppressing them or physically removing them from its composition. The most common and effective chemical preservative used mainly by oenologists was and is sulphur dioxide. However, the substance also manifests some drawbacks so that various methods of reducing the amount of SO₂, substitutions, alternatives, or increasing the antiseptic effect are under research, a challenge for the modern wine industry and therefore for oenological research (Arriagada-Carrazana et al., 2005; Lisanti, 2014).

The relationship created between microorganisms and food products is also of major importance, so that they can be useful when they help to obtain foods of fermentative nature (bread, dairy, wine, beer, vinegar) or negative, when the activities of pathogens change the health status of aliments (Lipša and Ulea, 2017).

Yeasts and bacteria are in fact the main pawns in the winemaking process by converting the sugars present in the chemical composition of grapes into ethanol, as well as producing various compounds that contribute to the flavour profile of a wine. Most winemakers deliberately add commercial micro-organisms to musts to ensure successful fermentation and a predictable aromatic complex to the profile of a wine with a specificity from a particular vineyard. However, some winemakers are exploring minimalist approaches to intervention during the winemaking stages, which may include adding a small number of chemicals such as sulphur dioxide and allowing native microbes in the vineyard and winery to drive the fermentation stage.

Due to the effectiveness and versatility of SO₂, it is considered the main additive used in winemaking (Ribéreau-Gayon et al., 2006). However, in addition to being administered as an additive, sulphites can also occur naturally, manifesting themselves as a consequence of fermentation due to the action of existing yeasts, depending on their strains and the composition of the grape must. Because of its antiseptic and antioxidant properties, the use of sulphur dioxide in oenology as an additive contributes greatly to improving the quality of wine.

Recently, the emergence of adverse reactions has led consumers to shift towards "healthy" products and prefer wines with lower levels or even without additional sulphites, even if economically such wines require more expensive technologies (Staub et al., 2020). An increase in market demand for such wines has been noted, so the wine sector is developing new practices or even optimizing technologies to reduce sulphite content while maintaining the desired organoleptic characteristics (D'Amico et al., 2016; Cravero, 2019). However, some researchers and oenologists are still convinced that SO₂ is and will be the

only additive that can provide chemical and microbiological stability over a long period of time and lead to wines of a particular quality (Benito, 2019; Zara and Nardi, 2021).

A new oenological challenge aims to reduce sulphur dioxide doses using various substances that perform a similar role. Recently, studies have been based on the administration of DMDC or dimethyldicarbonate treatment, a renowned inhibitor of pathogenic microorganisms for non-alcoholic and alcoholic beverages. Initially it was used in the juice industry, but the trend is for it to be tested in the wine industry as well (Ough, 1975). In addition to the antiseptic and antioxidant effects of sulphur dioxide and dimethyldicarbonate treatments, the substances contribute significantly to the shaping and preservation of sensory characteristics in terms of odour and taste of wine, as well as good microbiological stabilisation.

Various technological innovations have been used in the wine industry to improve the quality of wines, as well as environmentally sustainable processes that reduce the use of products that are hazardous to health (Muñoz García et al., 2021). The need to protect wine during winemaking and storage against unwanted changes and microflora has led oenologists to introduce other oenological materials known as antiseptics and antioxidants into the winemaking process. Modern research is based on the study of the action of such substances, their characteristics, role and the changes that result from their use on the composition and organoleptic characteristics of wines. The aromatic complex plays a key role in defining the quality of food and drink, the interaction of the senses of smell and taste with aromatic substances determining consumer acceptance or rejection of products.

In order to obtain high quality wines, it is necessary to know the current regulations concerning the treatments administered during the technological flow, the methods of application, the stage of treatments and the permitted doses. The use of sulphur dioxide, dimethyldicarbonate and other antioxidants and antiseptics used in beverage technology must comply with legislation and recommendations of the International Organisation of Vine and Wine, the World Health Organisation, the Food and Agriculture Organisation and the Food Chemical Codex (Croitoru, 2009).

The current study monitored the evolution of the wines in terms of the physico-chemical composition of the samples obtained, determining the physico-chemical, chromatic and sensory parameters of the wines, various volatile compounds that may arise following the administration of sulphur dioxide and dimethyldicarbonate treatments, as well as the evolution of yeasts both during their preparation for inoculation and during the storage of the samples. The laboratory determinations were carried out in accordance with the standards and methods approved by the OIV and those indicated in the literature and the legislation in force.

The experiment contributes to the enrichment of existing data in the literature, i.e. to the optimisation of winemaking methods in order to obtain wines with a minimum sulphur dioxide content and to the evaluation of chemical and physical methods with the same aim.

The research focuses on the role of sulphur dioxide in the wines under investigation and provides an overview of the current state of the art of the technologies implemented

with regard to methods authorised, or proposed for authorisation, to replace the actions of this additive in winemaking. In particular, various methods, alternatives proposed to replace the antiseptic activity of sulphur dioxide, in particular to ensure the microbiological stability of wines, have been highlighted. More specifically, the study aims at the impact of the use of dimethyldicarbonate on the physico-chemical and microbiological composition of the wines studied and the changes induced by the use of this treatment in order to optimise the technologies for the production of wines with a reduced sulphur dioxide content.

The study was developed under the guidance of Professor Valeriu V. Cotea of the University of Life Sciences "Ion Ionescu de la Brad" in Iasi, to whom I would like to address my sincerely thanks for all the attention and all the endless support offered during these wonderful years of study. Also, all my respect goes to the members of the Oenology Department, lecturer Camelia Elena Luchian, PhD, lecturer Cintia Lucia Colibaba, PhD, to whom I would like to express my thanks and sincerely appreciation for their unconditional support.

The practical experiment was carried out in collaboration with CS III Cătălin Ioan Zamfir, member of the Oenology Research Centre of the Romanian Academy, Iasi Branch, whom I would like to thank for his involvement and promptness in this study, the evaluation and determination of the analysed parameters in collaboration with CS III Marius Niculaua, CS III Constantin Bogdan Nechita and the microbiological analyses of the wines in collaboration with Associate Professor Florin Daniel Lipşa, PhD, Vice-Dean of the Faculty of Agriculture, to whom I express my great consideration and sincere thanks for all the effort made throughout the collaboration. Sincere thanks to my colleagues with whom I collaborated, especially Cristina Elena Scutaraşu, PhD, who supported and guided me throughout my doctoral internship.

I would like to thank my husband and my family who guided my steps towards choosing the path of research and supported me unconditionally during all these years of study.

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 SO₂ și capacitatea de a inhiba dezvoltarea microorganismelor, studiul influenței dimetildicarbonatului și SO₂ 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 antioxidantă 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 SO₂ 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 SO₂ 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 antioxidativă 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 cu dioxid de sulf - 40 până la 99 pentru cele cu 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 antioxidativă.

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 SO₂ și DMDC sunt lipsite de efectele oxidării direct proporțional cu creșterea dozelor de SO₂ și DMDC.

În urma analizelor microbiologice a probelor tratate cu 40 mg SO₂/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 CO₂. În ceea ce privește probele tratate cu 80 mg/L SO₂ 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 SO₂ 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 evidențiați descriptorii senzoriali care au prezentat diferențe semnificative (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 SO₂ 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 SO₂ și/fără DMDC variază de la o schemă de tratament la alta, iar cele obținute în urma tratamentului cu 80 mg/L SO₂ 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, (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 SO₂ 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 SO₂. 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 SO₂ 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 SO₂ dar și cu DMDC. În schimb, probele tratate cu 80 mg/L SO₂ 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 antioxidantă 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.

ABSTRACT

Wine is a living organism, being in a continuous evolution, but this particularity requires a permanent monitoring of all stages, starting from the harvesting of raw material - grapes - to the final product - wine. Consumer demand for high quality, nutritionally rich, health-conscious and safe food has increased, prompting food companies to adopt new food preservation techniques as modern alternatives to traditional ones.

The use of sulphur dioxide for preservation dates back to the end of the 18th century, mainly used in various food products, especially for the preservation of fruit juices and low pH drinks obtained by fermentation (Santos et al., 2012). Due to the fact that in some cases this preservative cannot fully ensure protection from a microbiological point of view, the use of antiseptics and antioxidants has been approved, which can complement the action of sulphur dioxide and prevent distortions caused by microorganisms or by existing or triggered chemical processes.

Research has demonstrated the contribution and positive impact of sulphur dioxide and dimethyldicarbonate treatments on the overall quality of wines and implicitly for the optimization of low sulphur dioxide winemaking technologies by Ough, 1975;1988; Lisanti and others, 2014; Santos and others, 2019; Lisanti and others, 2019; Yildirim and Darici, 2020; Muñoz García and others, 2021, etc.

The current trend among producers is towards food products obtained with reduced or no sulphur dioxide, so, the purpose of the two experiments was to monitor the evolution of wine quality following the administration of the treatments and to identify the effects produced by them. The novelty of these studies is to analyse the influence of different sulphur dioxide and dimethyldicarbonate treatment schemes on the micro-organisms deliberately introduced into the wines and the effects on their quality. In particular, the capacity of DMDC on the activity of yeasts inoculated in experimental wines and the identification of the changes caused by them was tested. The treatment schemes used for the design of the two studies were in accordance with the current legislation of the International Organisation of Vine and Wine.

The main objectives, which meet the mentioned purpose, are to implement the experimental protocols and to obtain variants for the two experiments, to influence the use of dimethyldicarbonate in wine production technology in order to reduce the amount of SO₂ and its ability to inhibit the growth of microorganisms, to study the influence of dimethyldicarbonate and SO₂ on physicochemical, chromatic and volatile compounds parameters, to monitor the antimicrobial efficacy of dimethyldicarbonate and sulphur dioxide by comparison with the results obtained in the literature and to monitor the aroma profile of the samples.

The experiments were carried out in the micro pilot station of the Oenology Laboratory of IULS (Ias University of Life Sciences). Forty-five samples were obtained for each experiment. The first experiment was carried out in 2018 processing grapes from the university's ampelographic collection of Muscat Ottonel and Fetească Regală varieties. The vinification process used was specific to white wines with the administration of antioxidant and antimicrobial protection treatments, namely sulphur dioxide (40, 80 160

mg/L) and dimethyldicarbonate (100, 200 mg/L) and yeast inoculum such as *Schizosaccharomyces pombe*, *Brettanomyces bruxellensis* in various concentrations (30/100 CFU/mL wine). For the second experiment carried out in 2020, a wine of the Grüner Veltliner variety was used, which was treated in this case with 20, 40, 80 mg/L SO₂ and 100/200 mg/L DMDC and the yeast inoculum used was *Brettanomyces bruxellensis* and *Saccharomyces cerevisiae*, 30/100 CFU/mL wine. Samples obtained for both experiments were kept under optimal conditions until various laboratory analyses were performed.

In order to determine the physico-chemical analyses, the evolution of alcoholic concentration by simple distillation, volatile acidity and titratable acidity by titrimetry, pH by means of a pH meter, density by densimeter, free and total sulphur dioxide by iodometric method, sugars in must by refractometric method and in the case of wine by Luff Schreel method, malic and lactic acid were monitored. The evolution of chromatic parameters was carried out by UV-VIS spectrophotometry, volatile compounds by means of gas chromatography and sensory analysis with the help of oenology specialists on the basis of tasting sheets. These determinations were carried out in the Oenology Laboratory of the Faculty of Horticulture of the "Ion Ionescu de la Brad" University of Life Sciences in Iasi according to the accredited norms and methods indicated by the legislation in force, as well as those reregulated by the OIV-International Organisation of Vine and Wine (OIV, 2020). Microbiological analyses were carried out in the Microbiology Laboratory of the USV Iasi. The determinations were carried out periodically, every three months, in triplicate or duplicate, for both experiments in order to monitor the evolution of the samples during storage and preservation.

Regarding the physico-chemical determinations for the variants of experiment I (V1-V45), it can be seen that there are no major differences between the variants studied, following the administration of the two treatments with sulphur dioxide and dimethyldicarbonate. However, the variants without DMDC treatment were found to be physicochemically unstable, with the values of the analysed parameters varying between the analysis periods. On the other hand, the V31-V45 variants, with the 160 mg/L SO₂ and DMDC treatment scheme, showed good stability, with similar values between the samples analysed.

A statistical analysis of the data shows that the PCA (principal component analysis) method can be applied to the results of the analysis of volatile compounds, thus revealing the correlations between the variables studied at a 95 % confidence interval. According to these data, high positive correlations were obtained between the identified compounds: ethyl lactate - ethyl acetate and 2-methyl-1-propanol - 1-propanol ($r > 0.8$). Positive correlations were also found between compounds such as: ethyl lactate - ethyl acetate; ethyl lactate - 1-butanol; isoamyl acetate - methanol; isoamyl acetate - 2-methyl-1-propanol; isoamyl acetate - 1-propanol, etc. Negative correlations were obtained between the pairs of compounds: ethyl lactate - acetaldehyde; ethyl acetate - acetaldehyde; 1-butanol - acetaldehyde.

The administration of the treatments proved to be optimal for the variants analysed, revealing concentrations of the volatile compounds of interest for this study (methanol and acetaldehyde) within the legislative limits and also stagnation of excessive growth of compounds that can impair the wines if their concentrations exceed the sensitive detection thresholds (ethyl acetate, isoamyl acetate, etc.). Thus, the effectiveness of the sulphur dioxide and dimethyldicarbonate treatments is demonstrated, which ensured the stability of the wines and inhibited the growth of pathogenic microorganisms.

Statistical analysis for the first set of determinations showed an increase in L^* proportional to the level of sulphur dioxide administered for the first group of samples V1-V15. Regarding the parameter a^* , in the case of the sulphur dioxide -40 samples with/without DMDC, the mean value showed the highest intensity, decreasing with increasing sulphur dioxide concentration. Thus, it can be seen that the wines have no specific colour, towards green, when the parameter " $-a^*$ " should have negative values. The colour intensity varied according to the degree of oxidation, the lightest coloured variant being chromatically stable and the darkest coloured sample (almost brick coloured) being oxidised. The b^* indicator also showed values inversely proportional to the level of sulphur dioxide administered. Thus, for the variant group sulphur dioxide-40 with/without DMDC, an average value was obtained, almost 4 times lower for the sulphur dioxide -80 samples with/without DMDC and about 6 times lower for sulphur dioxide-160 with/without DMDC.

As for the second set of analyses, samples V1-V15 are found to have a high degree of oxidation, with the wine colours having an oxidised hue, which shows that the 40 mg/L SO_2 treatment was insufficient and did not provide antioxidant protection over a longer period of time. For the colour indicator L^* , there was a considerable increase in value with increasing concentration of sulphur dioxide and DMDC administered (from 60 for the sulphur dioxide-40 variant set to 99 for sulphur dioxide-160). In the case of indicator a^* , the values obtained were much lower in samples treated with higher amounts of sulphur dioxide. This shows the good stability of the wines provided by the SO_2 and DMDC treatments. In the case of parameter b^* , the mean values decreased inversely with the level of sulphur dioxide administered. On the other hand, the indicators chroma, hue and intensity varied according to the dose of sulphur dioxide administered following the values obtained during the two analysis periods.

In this case, it can be observed that the best results were obtained for the variants treated with the maximum dose of 160 mg/L SO_2 and DMDC, as the proposed treatment scheme provided the wines with a stable colour and therefore antioxidant protection.

Comparing the results of the first set of analyses with those obtained in the second set, it can be seen that the 40 mg/L SO_2 and with/without DMDC samples did not exhibit chromatic stability, with V1-V15 showing a high degree of oxidation. Samples with 80 and 160 mg/L SO_2 and DMDC, respectively, are devoid of oxidation effects directly proportional to increasing SO_2 and DMDC doses.

Microbiological analyses of samples treated with 40 mg SO_2 with/without DMDC (V1-V15) showed no evidence of *Schizosaccharomyces pombe* and *Brettanomyces*

bruxellensis yeasts, irrespective of the DMDC dose used, nor in samples where the treatment was not administered. However, species belonging to the lactic bacteria group were identified, with spherical (cocci) and cylindrical (bacilli) morphological forms, the wine showed deposit at the base of the bottle, colour changes (darker) and foamed strongly due to CO₂ accumulation. As for the samples treated with 80 mg/L SO₂ with/without DMDC, there was an improvement in the colour of the wines and a lower degree of refermentation, but also the absence of the yeasts mentioned for the samples treated with DMDC only. The best results can be attributed to the maximum concentrations of 160 mg/L SO₂ and DMDC, in this case the wines showed microbiological stability, high clarity and colour specific to the varieties from which they were obtained, free of oxidation and refermentation.

Following the application of the Anova One Way test, the sensory descriptors that showed significant differences (sig. < 0.05) for most of the variants analysed were highlighted, namely: vegetal character, aroma of ripe fruits, peaches, plums, green fruits, wild flowers, taste of marmalade, truffles, sensation of acid, bitter, salty, phenolic, unctuous, but also refermented and oxidised character respectively. On the other hand, in relation to the treatment administered, exceptions were noted for the fruity notes of mango, grapefruit, green apple, honey, sweetness, unctuousness and oxidized character which did not show statistically significant differences. The best results were noted for the group of variants V31-V45 treated with 160 mg/L SO₂ and DMDC, the wines being the most appreciated, balanced in taste and aromas confirming also in this case the effectiveness of the treatments on the wines obtained. The results obtained are attributed to the potential of DMDC to improve and preserve the quality of the wine, to inhibit the development of pathogenic microorganisms and, above all, to maintain the aromatic profile of the wine.

Regarding the physico-chemical results of P1-P45 samples (experiment II), they confirm that the treatments with 20/40 mg/L SO₂ with/without DMDC vary from one treatment scheme to another, while those obtained following treatment with 80 mg/L SO₂ and DMDC provide physico-chemical stability between the parameters studied.

According to principal component analysis (PCA), average correlations ($r > 0.6$) were obtained between the groups of compounds: ethyl acetate - 2-methyl-1-propanol; ethyl acetate - isoamyl acetate; isoamyl acetate - acetaldehyde; 1-butanol - 1-propanol.

Negative correlations can be observed between the pairs of compounds: ethyl acetate-ethyl lactate; acetaldehyde-1-pentanol; methanol-isoamyl acetate, methanol-ethyl acetate, 1-pentanol-2-methyl-1-propanol, etc. Also, the arrangement of homogeneous groups in the factor axis system revealed a positive correlation between most of the experimental variants studied (e.g. P40-P42-P17-P34-P7-P1, P27-P36-P16-P45-P31-P19, P39-P13-P23-P12-P20, etc).

As for the chromatic parameters studied, the values of the **L*** indicator were increasing with increasing sulphur dioxide concentration with/without DMDC. The **a*** indicator was evident in samples P1-P15 with values ranging from -0.21 (control sample P1) to -0.54 (P12) with the negative sign representing the intensity of green colour. From

a statistical point of view, the **b*** indicator, which suggests the intensity of the yellow shade, showed decreasing and significantly different values with the increase in the quantity of sulphur dioxide (sig.<0.05). These results show that in the wines obtained for the second experiment, during the increase in the dose of treatments, there was a noticeable improvement in colour, with the brightness reaching maximum values (100), an effect which can be attributed to the effectiveness of the treatments in maintaining and stabilising the colour of the wines.

In samples treated with 20, 40, 80 mg/L SO₂ with/without DMDC, differences can be observed in the evolution and activity of microorganisms during the storage of the wines. During the first 7 days of the experiment, inoculated yeasts were observed only in the control samples without DMDC, treated in this case with 20/40 mg/L SO₂. In contrast, in the 80 mg/L samples with/without DMDC no species were identified in the samples, the treatment having immediate action due to the synergistic effect with SO₂ being observed in this case. On the other hand, in terms of the following analysis steps, after 3 months, and after 6 months yeast multiplication can be observed in all samples treated with the lowest doses, i.e. 20/40 mg/L SO₂ but also with DMDC. On the other hand, samples treated with 80 mg/L SO₂ and DMDC showed the best stability in all analysis periods, yeasts were identified only in control samples without DMDC. Similar results were also obtained by Threlfall and Morris, 2002, with the effectiveness of the administered treatments on yeast concentrations being attributed to their synergy.

A sensory impact was confirmed by the treatments administered showing significant action on the sensory indicators analysed, except for vegetal, sweet and crunchy. Thus, positive correlations were obtained between pairs of descriptors: peach - ripe fruit, peach - grapefruit, ripe fruit - grapefruit, green fruit - wildflower, wildflower - vegetable, etc. Negative correlations were found between the indicators phenolic - ripe fruit, phenolic - peach, phenolic - grapefruit, salty - ripe fruit, salty - peach, salty - grapefruit, etc. Observing the distribution of the experimental variants, many positive correlations were found between samples: P10-P1-P13-P4-P11, P33-P32-P44, P21-P24-P30, P19-P28-P16, etc. On the other hand, negative correlations were obtained between samples P33-P1 or P42-P2. On the basis of these results, it can be seen that the synergistic action between sulphur dioxide and dimethyldicarbonate is evident and promising for further research as alternatives with optimal results for the microbiological and antioxidant stability of wines.

In conclusion, these results contribute to the optimization of strategies for obtaining wines with minimum concentrations of sulphur dioxide and with the addition of dimethyldicarbonate respectively, to improve the structure, chemical composition and implicitly the sensory characteristics.

PARTEA I - STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRII

PART I - PRESENT STATE OF RESEARCH

1. ASPECTE INTRODUCTIVE PRIVIND TEHNOLOGIA DE OBȚINERE A VINURILOR ALBE

1. GENERAL ASPECTS REGARDING THE WHITE WINES TECHNOLOGY

1.1. Generalități privind tehnologia de obținere a vinurilor albe

În vinificație, materia primă utilizată pentru obținerea unui vin este reprezentată de strugurii de viță de vie care aparțin, în general, speciei *Vitis vinifera*. Însușirile chimice și tehnologice ale strugurilor trebuie să fie cunoscute și urmărite anual de un tehnolog vinificator, astfel încât să poată fi obținute vinuri de calitate (Rusu, 2011). Cunoașterea caracteristicilor materiei prime reprezintă primul dar și cel mai important pas în stabilirea și organizarea etapelor tehnologice utilizate pentru prelucrarea acesteia, de asemenea, selectarea utilajelor, determinarea indicilor de calitate și a randamentelor tehnologice pentru totalitatea produselor ce se pot obține din struguri (Cotea, 2006).

Tehnologia de producere a vinurilor albe este considerată a fi cel mai dificil proces, având în vedere faptul că prelucrarea strugurilor trebuie să se realizeze într-un interval de timp relativ, scurt evitându-se pe cât posibil contactul mustului cu aerul și părțile solide ale strugurilor. Orice defect tehnologic se reflectă în calitatea vinurilor albe, îndeosebi în culoarea și gustul produsului obținut. Din aceste considerente este necesară monitorizarea permanentă și gestionarea corespunzătoare a etapelor din fluxul tehnologic (Țârdea, 2007). Vinul alb se obține cu ajutorul procesului de fermentare alcoolică a unui must de struguri. Elaborarea este mai pretențioasă, delicată față de cea a unui vin roșu, deoarece se folosește adesea o materie primă mai sensibilă, care necesită o atenție deosebită (tratamente corespunzătoare) pe tot parcursul fluxului tehnologic (Navarre și Langlande, 2002).

Momentul optim de recoltare a strugurilor se decide în funcție de etapele procesului de vinificație și de tipul vinului care se dorește a fi obținut. Astfel, strugurii prezintă o importanță deosebită, fiind necesar să îndeplinească anumite caracteristici care fac referire la sănătatea fitosanitară și concentrația de zaharuri necesară (Lea și Piggot, 2003). Pentru a culege strugurii în stadiul potrivit de maturitate, este important ca oenologul să aibă un rol activ în prelevarea de probe și în monitorizarea podgoriei, deoarece compoziția și calitatea strugurilor vor determina în mare măsură rezultatul vinificației sale. Momentul optim de recoltare se poate realiza cel mai eficient și rapid cu ajutorul refractometrului portabil care furnizează informații legate de temperatura sucului de struguri analizat și concentrația de zaharuri a acestuia (Coriolan Dejeu, 2010). Ideal, prelevarea probelor ar trebui să înceapă cu 4 până la 5 săptămâni înainte de recoltare, podgoria fiind eșantionată inițial o dată pe săptămână și apoi de două ori pe săptămână pe

măsură ce se apropie recoltarea (Iland ș.a., 2000). Concentrația alcoolică moderată, aromele complexe cu un final plăcut și fără compuși fenolici astringenți sunt criteriile cheie pentru a crea un vin plăcut de consumatori. În ceea ce privește vinurile corpolente, cu un grad alcoolic ridicat, cu arome intense și variate, recoltarea este indicat să se realizeze după maturitatea deplină (Lea și Piggott, 2003). Se poate realiza recoltarea manual sau mecanizat în funcție de caracteristicile și destinația strugurilor (Oprea A., 2019).

Transportul se realizează cu ajutorul unor mașini specializate care să permită distribuția materiei prime în cele mai bune condiții la cramă, indicat fiind ca strugurii să nu fie zdrobiți sau afectați de dăunători (Pomohaci ș.a., 2000).

Recepția producției de struguri face referire la două operații principale ale fluxului tehnologic și anume recepția cantitativă și calitativă. Recepția cantitativă vizează de fapt cântărirea strugurilor care vor fi supuși prelucrării. Recepția calitativă vizează autenticitatea, puritatea producției și starea fitosanitară, care se consemnează în buletinul de recepție și care ajută la stabilirea tehnologiei optime de prelucrare a materiei prime (Muntean, 2012).

Desciorchinarea și zdrobirea strugurilor sunt operații tehnologice cu implicații considerabile în ceea ce privește păstrarea caracterelor de fructuozitate și expresivitate, elemente specifice vinificației în alb. În această etapă de prelucrare a strugurilor, procesele de oxidare pot deteriora însușirile vinului, de aceea este necesară monitorizarea permanentă a operațiilor în desfășurare. Zdrobirea constă în distrugerea integrală a bachelor declanșată prin acțiunile mecanice, cu scopul de a se elibera cu ușurință, suc din struguri. Prin operația de zdrobire, microflora existentă pe struguri este dispersată în întreaga masă a lichidului rezultat (Rusu, 2011).

Sulfitatea. Se adaugă dioxid de sulf imediat după zdrobire astfel încât să se elimine orice risc de contaminare cu diverse microorganisme. Concentrația utilizată este de obicei, suficientă pentru a distruge sau cel puțin pentru a inhiba agenții patogeni, dar nu și pentru a distruge totalitatea tulpinilor de levuri tolerante la sulfitați (Comfort ș.a., 2008). Procedul se efectuează cu SO₂ lichefiat urmărindu-se ca în mustuală să se încorporeze o cantitate de 150 mL SO₂ în cazul recoltelor sănătoase și 300 mL la recoltele afectate de putregaiul cenușiu astfel încât să se prevină apariția unor modificări nedorite în compoziția chimică a vinurilor (Pomohaci ș.a., 2000).

Separarea mustului ravac se poate realiza spontan, pe cale gravitațională, numită și scurgere liberă realizată cu ajutorul scurgătoare gravitaționale statice, sau poate fi provocată numită și scurgere intensificată efectuată prin intermediul scurgătoarelor gravitaționale dinamice (Munteanu, 2012).

Presarea este operația cea mai importantă prin intermediul căreia se determină atât randamentul în must cât și consecințele pe care le poate manifesta asupra calității produselor obținute. Procedul se va executa rapid, fără prea multe manipulări, sub protecția asigurată de administrarea SO₂, cu folosirea unor presiuni specifice, astfel încât să se obțină un randament ridicat în must. Pentru vinurile de calitate superioară se recomandă folosirea preselor discontinue, cele continue fiind destinate pentru vinurile de

consum curent (Cotea, 2010). Există o serie de factori de care se ține cont la presarea boștinei (amestec de semințe, pielițe și must) și anume caracteristicile strugurilor materie primă și categoria de vin care se dorește a fi obținută. Astfel, la vinificarea strugurilor albi, separarea mustului prin presare se realizează după scurgerea mustului ravac, boștina fiind proaspătă (Oprea, 2019).

Asamblarea musturilor reprezintă tehnica prin care se realizează amestecarea mustului ravac cu cel de la prima presare, uneori și cu mustul de la ultima presare (Cotea, 1985). Frațiunile rămase sunt folosite la obținerea vinurilor de calitate inferioară sau în procesul industrial de obținere a distilatelor. Asamblarea se efectuează în mod diferențiat, în raport cu particularitățile pe care le are fiecare fracțiune de must, dar și în funcție de tipul de vin ce urmează a fi realizat. Asamblarea mustului conferă posibilitatea obținerii unor vinuri omogene, dar trebuie efectuată cu atenție pentru păstrarea calității acestuia (Țârdea, 2000).

Limpezirea mustului și separarea burbei este un procedeu cunoscut sub numele de deburbare, ce manifestă o acțiune pozitivă asupra însușirilor și stabilizării vinurilor, reprezentând operația prin care se realizează decantarea suspensiilor la baza vaselor.

Burba are în alcătuire impurități solide provenite din particule de pământ, resturi de pesticide, fragmente de frunze, struguri uscați, fragmente de ciorchine, levuri și pieliță, pulpă, semințe, substanțe pectice, tanante, cantitatea obținută fiind în strânsă legătură cu tehnologia de prelucrare a strugurilor (Antoce, 2005). În practica vinicolă, etapa de limpezire poate fi parțială sau totală și se poate realiza cu ajutorul mai multor procedee cum ar fi: sulfitare, bentonizare, cu ajutorul enzimelor pectolitice, centrifugare, filtrare, sau refrigerare (Oprea, 2019).

Fermentația alcoolică. Pregătirea mustului prin îndepărtarea părților solide sunt etape cu importanță majoră care ar trebui aplicate înainte de fermentare în scopul limpezirii lichidului. De asemenea, este necesar să se realizeze un set de analize fizico-chimice pentru mustul obținut, astfel încât să se poată elimina orice risc de contaminare sau pentru a putea aplica tehnologia adecvată cu privire la vinul final. Musturile cu pH ridicat și cu aciditatea titrabilă scăzută au gustul plat și sunt mai puțin stabile la oxidare și alterare microbiană. Musturile cu pH scăzut, fie că apar în mod natural, fie ca urmare a ajustării acizilor, necesită mai puțin SO₂ pentru a controla flora nativă și pentru a asigura debutul unei fermentații dorite (Lea și Piggot, 2003). Vinul este o băutură care se obține în urma finalizării procesului de fermentație alcoolică a mustului de struguri, reprezentând un proces biochimic de transformare a glucidelor în etanol și CO₂, ca produși principali, levurile fiind implicate direct în acest proces chimic, utilizând zaharurile în perioada de fermentație. În același timp se obțin și o serie de compuși secundari precum glicerol, acid lactic, acid oxalic, acid acetic, acid propionic, acid succinic, acetaldehidă, esteri, etc. (Cotea, 1985; Shrikant Baslingappa Swami ș.a., 2014).

Procesul de fermentare a mustului este extrem de important și trebuie monitorizat astfel încât temperatura să nu depășească valoarea de 20 °C, intervalul optim fiind încadrat între 10-18 °C (Grainger și Tattersall, 2005; 2016).

Filtrarea este cunoscută ca fiind o tehnică de limpezire a vinurilor realizată cu ajutorul unui filtru care reține suspensiile din masa lichidă. Procedul se folosește în vinificație datorită numeroaselor beneficii și anume: eficacitatea tehnicii este independentă de factorii externi, nu afectează caracteristicile naturale ale vinului, timpul de execuție este relativ mic în funcție de tipul filtrului folosit, aplicabilitate avansată pentru orice tip de vin, uniformitatea rezultatelor obținute, etc (Cotea, ș.a., 1982; Pomohaci, 2000).

Adaosul de dioxid de sulf. Odată ce fermentația s-a finalizat, vinul necesită o pregătire prealabilă pentru depozitare și/sau învechire. Se administrează o cantitate specifică de SO₂ în funcție de caracteristicile fizico-chimice și organoleptice dorite ale produsului final. Adaosul de dioxid de sulf în vinuri se face datorită impactului pozitiv pe care acesta îl manifestă asupra compoziției chimice, organoleptice dar și a stabilizării și condiționării din punct de vedere microbiologic. Aceste beneficii fac referire la efectul antioxidant și antiseptic pentru care este cunoscut și utilizat în procesele de obținere a vinurilor (Ribereau-Gayon ș.a., 2006; Sonni ș.a., 2009; Lisanti ș.a., 2019). Din acest moment și până la îmbuteliere, este indicat să se mențină în permanență un nivel de protecție în vin prin evaluarea concentrației de dioxid de sulf (Comfort, 2009).

Adaosul de levuri. În anul 1857, Louis Pasteur a demonstrat că fermentația alcoolică reprezintă un proces de natură biologică, care se realizează cu ajutorul levurilor (Țârdea, 2000). În must, levurile se introduc sub formă de maia de levuri, granule sau pudră cu scopul principal de a declanșa fermentația alcoolică (Cotea, 1985). De asemenea, fermentația spontană este provocată de levuri indigene, care provin din struguri sau din aerul din cramă. În cadrul procesului de vinificație, cele mai utilizate sunt levurile selecționate care se prezintă sub formă de levuri uscate, levuri în mediu lichid sau solid și levuri liofilizate (Țârdea C., 2000). Cele mai utilizate levuri aparțin genului *Saccharomyces*, cu specia reprezentativă *Saccharomyces ellipsoideus* (Cotea, 1985).

Îmbutelierea vinului este operația finală de separare a vinului din vasele de păstrare-maturare în butelii de sticlă, scopul fiind acela de a pregăti vinul pentru învechire sau comercializare (Cotea, 1988). În cazul vinurilor albe seci, se utilizează cu precădere metoda de îmbuteliere la rece, fiind cea mai recomandată datorită faptului că se reduc semnificativ modificările care pot surveni asupra calității organoleptice comparativ cu îmbutelierea la cald, operația desfășurându-se în condiții sterile.

Prin **depozitarea** vinului se îmbunătățesc caracteristicile organoleptice, dar în același timp se asigură vinului o bună conservabilitate. Din aceste considerente, pe parcursul depozitării, temperatura se menține la valori mai mici de 14 °C și se evită contactul vinului cu aerul astfel încât să nu apară modificări nedorite (Cotea, 2006).

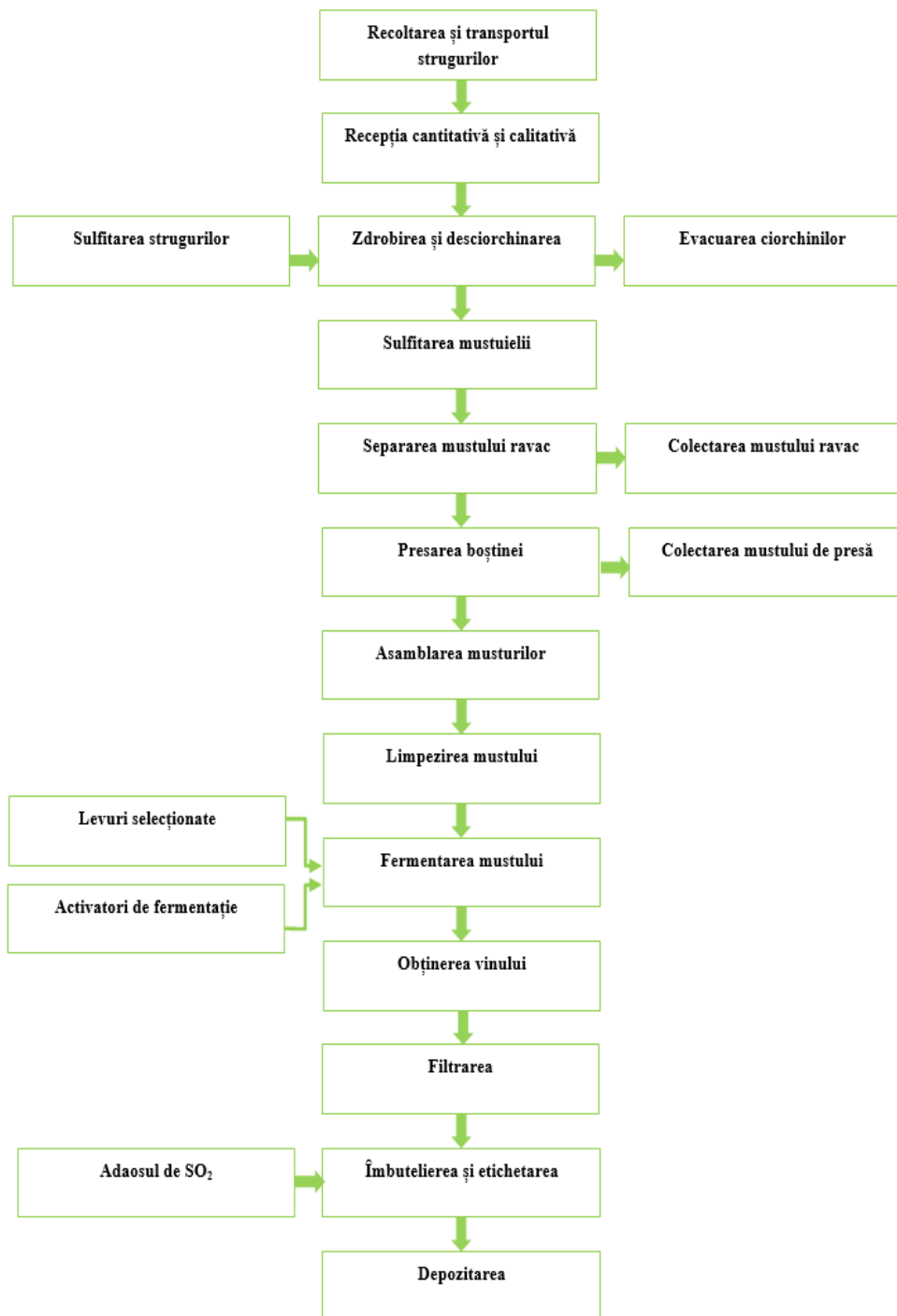


Figura 1.1 Etapele generale din procesul de obținere al vinurilor albe

Figure 1.1 General stages from the white wine production process

2. UTILIZAREA DIOXIDULUI DE SULF ÎN VINIFICAȚIE

2.SULPHUR DIOXIDE IN WINEMAKING

2.1. Aspecte generale privind originile și formele dioxidului de sulf

Prin compoziția lor chimică complexă, reprezentată de un număr impresionant de substanțe organice, musturile și vinurile reprezintă un mediu propice pentru dezvoltarea numeroaselor microorganisme precum bacteriile, levurile și mucegaiurile. Pe de altă parte, există și alți constituenți capabili să încorporeze cantități importante de oxigen din atmosferă, consecința fiind apariția fenomenului de oxidare, denaturarea și distrugerea compușilor de aromă, dar și apariția unor mirosuri și gusturi nedorite care afectează caracteristicile organoleptice ale vinurilor.

În acest sens, în ultimii ani cercetările s-au orientat spre identificarea și implementarea unor tratamente de condiționare și stabilizare care să prevină apariția bolilor și defectelor vinurilor, dioxidul de sulf fiind substanța folosită cu precădere în vinificație datorită multiplelor beneficii manifestate (Muntean, 2012).

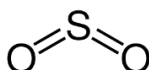


Figura 2.1 Formula chimică a dioxidului de sulf
Figure 2.1 Chemical formula of sulphur dioxide

Cunoscut și sub denumirea de anhidridă sulfuroasă, dioxidul de sulf (SO_2) este caracterizat de următoarele proprietăți chimice: densitatea de $2,73 \text{ kg/m}^3$ (la presiunea de 1 bar, temperatura de 15°C), masa molară de $64,06 \text{ g/mol}$, punctul de topire de 75°C , punctul de fierbere de 10°C , solubilitatea în apă de 112 g/L și presiunea de vapori $3,3 \text{ bar}$ la 21°C .

Dioxidul de sulf cunoscut ca SO_2 sau E220 în industria alimentară, este caracterizat prin următoarele însușiri de natură fizico-chimică: este o substanță gazoasă, incoloră cu mirosul specific, înțepător, iritant, sufocant și toxic dacă se administrează în cantități peste limita admisă de corpul uman (Cotea, 2006; Zara și Nardi, 2021; Granchi ș.a., 2019). Odată introdus în masa vinului provoacă o serie de transformări din punct de vedere chimic dar și senzorial. O mică parte din substanță se degajă în aer sau în spațiul gol al vaselor și restul se combină cu apa din must sau vin formând acidul sulfuros (H_2SO_3) (Baltatu, ș.a., 1961).

Dioxidul de sulf și sărurile sale au fost utilizate încă de la sfârșitul secolului al XVII-lea ca agent biocid în curățarea și dezinfectarea butoaielor și cramelor după care și în practica vinicolă (Ribereau-Gayon ș.a., 1982). Reprezintă un conservant folosit în industria alimentară, în special în alimentele cu pH scăzut, cum ar fi sucurile de fructe și băuturile obținute prin fermentație (Taylor, 1986; Ribereau-Gayon ș.a., 2006; Guerrero și Cantos-Villar, 2015). SO_2 și sărurile sale de sulfit rămân aditivii esențiali pentru vinificație deoarece nu există alt aditiv care să înlocuiască total acțiunile sale, sau care să manifeste aceleași proprietăți sinergice de anti-oxidare și conservare. Substanța poate

provoca reacții adverse și toxice atât în vin cât și pentru consumatori și vinificatori, dacă se utilizează în cantități mai mari de 10 mg/L (Lisanti, 2014; Stockley, ș.a., 2021).

Acțiunile dioxidului de sulf în vinuri sunt duble, respectiv, *biologică și tehnologică*. Acțiunea biologică este dată de levurile producătoare de dioxid de sulf în mod natural (Ribéreau-Gayon ș.a., 2006; Boroski ș.a., 2017; Werner ș.a., 2009), cea tehnologică referindu-se la adădirea voluntară a conservantului pe parcursul procesului tehnologic pentru a conferi protecție vinurilor din punct de vedere chimic dar și microbiologic (Cornelius ș.a., 2005; Davidson ș.a., 2005; Cotea ș.a., 2014; Stockley ș.a., 2021). În timpul fermentației alcoolice, levurile produc în mod natural dioxid de sulf (Romano, Suzzi, 1993; Ribéreau-Gayon ș.a., 2006; Zironi ș.a., 2009). Tulpinile acestor specii pot fi clasificate în tulpini producătoare de SO₂ redus, răspunzătoare fiind cele din genul *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* și producătoare de cantități considerabile de SO₂, genul *Saccharomyces bayanus* var. *Sacardo*. Levurile speciei *Saccharomyces cerevisiae* au fost studiate în principal în ultimele două decenii pentru a dobândi cunoștințe largi cu privire la producerea unor concentrații de dioxid sulf și pentru a înțelege efectul asupra activității lor de creștere și capacității de fermentare, precum și a legăturilor cu azotul. Mai mult, interesul a vizat îndeosebi compușii intermediari care conțin sulf și produsele secundare care au fost sintetizate în timpul fermentării alcoolice a musturilor de struguri și care au un impact ridicat asupra calității vinului, cum ar fi sulfiții și compușii volatili ai sulfului (König, ș.a., 2009). De asemenea, Rauhut (2009) susține afirmația că sulfiții sunt produși de *Saccharomyces cerevisiae*, în diferite cantități de până la 100 mg/L, în funcție de tulpini și, de asemenea, de compoziția mustului de struguri (Rauhut, 2009).

Acțiunea biologică. Microorganismele, în special levurile, sintetizează aminoacizii cu conținut de sulf de care au nevoie, din aminoacizi nesulfurați și hidrogen sulfurat, acesta din urmă obținut prin reducerea sulfaților.

De fapt, în funcție de specie și sușa de levuri, precum și de particularitățile mediului, secvența poate fi întreruptă, mai mult sau mai puțin, în stadiul sulfitelui, cunoscut sub numele de generator de dioxid de sulf. Sulfatul care intră în proces este cel preluat de vița de vie din sol, după care acumulat în struguri, la fel ca cel care poate rezulta, pe cale chimică, din unele dintre substanțele utilizate pentru combaterea bolilor și dăunătorilor, de exemplu sulfat de cupru, sulf solubil, polisulfură de calciu, polisulfură de bariu, etc. Din cele relatate reiese faptul că dioxidul de sulf de origine endogenă nu poate fi regăsit în struguri sau must, ci doar în vin, în urma acțiunilor levuriene. Studiile confirmă că, de regulă, levurile sunt generatoare de dioxid de sulf în urma procesului de fermentație alcoolică (câteva mg/L SO₂), dar există și specii care produc cantități însemnate (100-200 mg/L SO₂) cum ar fi *Schizosaccharomyces pombe*, în special specia *uvarum*. Creșterea substanțială de SO₂ se datorează unei activități reduse a sulfireductazei (de regulă aceasta declanșează procesul de reducere a sulfitelui în sulfură și aminoacizi cu sulf și nu la formarea de dioxid de sulf (Cotea ș.a., 2009; Cotea ș.a., 2014).

Acțiunea tehnologică se referă de fapt la administrarea acestui produs sub diverse forme astfel: formă gazoasă, lichefiată, soluție, săruri și sub formă de comprimate efervescente.

Dioxidul de sulf sub formă gazoasă este cunoscut și sub denumirea de fum de pucioasă și se folosește îndeosebi la dezinfectarea spațiilor destinate producerii și păstrării vinurilor și a vaselor de lemn. Se livrează sub formă de batoane, rondele sau praf de lemn.

Dioxidul de sulf sub formă lichefiată este obținut prin comprimarea SO₂ gazos în tuburi de oțel la presiune de cel puțin 12 atmosfere, considerată forma cea mai avantajoasă și sigură a acestei substanțe, reprezentând starea cea mai pură.

Dioxidul de sulf sub formă de soluție se prepară prin dizolvarea în apă a SO₂ lichefiat, concentrația soluției stabile fiind încadrată între 5-6 %, peste 7 % pierzând din stabilitate (Muntean, 2012).

Dioxidul de sulf sub formă de săruri este reprezentat de pirosulfitul de potasiu (K₂S₂O₅) cunoscut sub denumirea de metabisulfit de potasiu, substanță înregistrată în lista Comunitatea Economică Europeană (CEE) a aditivilor alimentari sub codul E224. Proprietatea sa este aceea de a se descompune în mediu acid, eliberând SO₂ (Antoce și Nămolșanu, 2001).

Forma de administrare a dioxidului de sulf sub formă de *comprimate efervescente* a fost menționată de Valade ș.a., 1998. Comprimatele conțin metabisulfit de potasiu și bicarbonat de potasiu care este răspunzător de efervescentă și determină printr-o reacție acido-bazică, eliberarea SO₂ (Țârdea, 2007; Muntean, 2012).

Limita legală a dozelor pentru administrarea SO₂ total variază de la 150 – 200 mg/L pentru vinurile seci (conform OIV, 2018), dar există și cazuri speciale, unde limita poate ajunge până la 400 mg/L pentru unele vinuri dulci (Arapitsas ș.a., 2018).

Un număr mare de produse alimentare pot conține SO₂ ca aditiv: fructe uscate și legume, sucuri de fructe, conserve de legume, pește uscat, creveți și multe altele (Fazio și Warner, 1990; Vally ș.a., 2009; Lisanti ș.a., 2019). Conform Regulamentului UE, SO₂ și diferitele forme de sulfiți trebuie etichetate obligatoriu cu anumite coduri din gama E 220–228 (Regulamentul UE nr. 1129/2011).

Formele sub care se găsește SO₂ în must sau vin

SO₂ liber este cunoscut sub denumirea de SO₂ necombinat, reprezintă procentual partea cea mai mică (15-30 % din SO₂ total) fiind considerată fracțiunea cu o importanță majoră pentru vinificație (Cotea, 1985). Frațiunile de SO₂ solvit fizic și H₂SO₃ molecular sunt cele care imprimă mustului și vinului mirosul sulfuros și cele care exercită de asemenea acțiunea antiseptică și antioxidantă necesară vinului, manifestând eficacitatea asupra bacteriilor și levurilor. Proporția de SO₂ liber sub formă de acid sulfuros nedisociat depinde foarte mult de pH-ul mustului și vinului, reprezentând un procent de 10 % din SO₂ la pH 2,8 și numai 1 % la pH 3,8 (Popa, 2014).

Cea mai activă fracțiune de SO₂ liber se numește SO₂ activ și este compus din SO₂ molecular. În timpul maturării și stocării sunt recomandate concentrații ale SO₂ liber echivalente cu 25 mg/L pentru vinul roșu și 30 mg/L pentru vinul alb. O concentrație

activă de SO₂ de 0,35 mg/L asigură protecție minimă vinurilor iar o valoare de 0,6 mg/L generează protecție maximă (Stockley, ș.a., 2021).

SO₂ combinat. Acidul sulfuros dizolvat se combină parțial sau total cu diverși componenți chimici ai musturilor sau vinurilor, cantitatea combinată manifestând fluctuații în funcție de factori precum acidul sulfuros liber, natura substanțelor componente, temperatura și pH-ul. Frația nu are miros, nu prezintă proprietăți reducătoare și nici acțiune antiseptică (Cotea, 1982; Popa și Teodorescu, 1990; Popa, 2014).

De remarcat este faptul că SO₂ se combină cu substanțele aflate în strugurii zdrobiți (zaharuri, enzime, compuși fenolici, etc); substanțe aflate în mustul de fermentație (aldehide, acizi cetonici); oxigenul introdus prin operații tehnologice în must și vin; substanțe aflate în vinul supus maturării sau învechirii (fenoli, acizi uronici, produși de oxidare a glucidelor) (Ribéreau-Gayon, 1976; Muntean, 2012). Proporția dintre SO₂ liber și SO₂ combinat variază între 15-30 % și respectiv 70-80 % din total fiind dependentă de doza administrată, proporția substanțelor capabile să lege H₂SO₃ liber, aciditatea totală a mustului și de temperatură. La orice surplus de SO₂ în must sau vin, o parte din acesta se combină și o parte rămâne liberă. Cu cât SO₂ total crește pe măsură ce el nu mai întâlnește alte substanțe care să-l poată combina, valoarea SO₂ liber crește de asemenea. Când SO₂ total scade, vor scădea și cele două forme ale sale însă în rare cazuri se constată o scădere a SO₂ liber până la dispariția totală, deoarece pe baza echilibrului fizico-chimic el se va reface parțial pe seama SO₂ combinat în urma unor reacții reversibile.

Aceste combinații instabile ale SO₂ reprezintă o sursă de refacere a SO₂ liber, prelungind astfel eficacitatea concentrației existente deja în vin (Antoce ș.a., 2001).

2.2. Acțiunile utile din punct de vedere tehnologic ale dioxidului de sulf manifestate în must și vin

Având în vedere că dioxidul de sulf este cel mai utilizat aditiv în vinificație este totodată și cel mai controversat având indiferent de multiplele acțiuni pe care le manifestă asupra mustului și a vinurilor. Adiția acestei substanțe este considerată în mod tradițional ca o metodă eficientă de protejare și conservare a vinului în diferite etape ale elaborării sale (Divol ș.a., 2012). Sulfitarea este permisă de toate standardele pentru prelucrarea vinului dar sunt indicate și admise anumite concentrații în funcție de tipul de vin ce se dorește a fi obținut (Stockley ș.a., 2021).

În industria băuturilor și mai ales în oenologie, tratamentul cu dioxid de sulf este indispensabil datorită numeroaselor beneficii întreprinse de acest produs printre care se evidențiază acțiunea antioxidantă, acțiunea antiseptică, etc (Ribéreau-Gayon ș.a., 1972; Zironi ș.a., 2009).

Acțiunea antioxidantă. Ca substanță cu caracter antioxidant, SO₂ acționează în trei moduri diferite și anume: prin eliminarea directă a oxigenului; prin reacția cu peroxidul de hidrogen și prin reducerea chinonelor formate în timpul procesului de oxidare (Oliveira ș.a., 2011; Santos ș.a., 2012; Guerro ș.a., 2015). Numeroși

constituenți ai vinului printre care și compușii fenolici, unele metalele, tirozina și aldehydele, sunt susceptibili la oxidare în timpul procesului de vinificație, fenomen care odată instalat determină apariția unor compuși și procese nedorite care afectează într-un mod negativ valoarea nutrițională și senzorială a produsului final. Aceste procese oxidative pot fi clasificate în procese enzimatică și non-enzimatică. Procesul enzimatic se manifestă în mustul de struguri (având și consecințe asupra calității vinului) în schimb ce oxidarea non-enzimatică are loc la struguri, must și vin. În ceea ce privește oxidarea enzimatică, polifenol oxidaza este cea mai importantă oxidoreductază responsabilă pentru oxidarea instalată în timpul prelucrării strugurilor, urmată de lacază și peroxidază (Li ș.a., 2008; Oliveira ș.a., 2011). Astfel, SO₂ deține un rol important împotriva oxidării vinurilor (Li ș.a., 2008) și previne apariția culorii maronii-cărămizii datorată procesului de oxidare, prin inactivarea enzimelor, precum și prin inhibarea reacțiilor Maillard, principalii pioni răspunzători de degradarea culorii vinurilor (Gould, 2000; Garde-Cerdán ș.a., 2008; Popa, 2014).

Efectul antioxidant al dioxidului de sulf are aplicabilitate mult mai mare în timpul depozitării vinului decât pe parcursul vinificării. În acest caz, SO₂ protejează împotriva oxidărilor prin distrugerea oxidazei sau, cel puțin, prin blocarea activității acesteia. În must, oxidările enzimatică sunt semnificative comparativ cu oxidările chimice, deoarece modul de acționare se declanșează mult mai rapid și intens. Astfel, adăugarea de sulfiți oprește consumul de oxigen din must prin inhibarea enzimelor care catalizează oxidarea compușilor fenolici (prezența polifenol oxidazei). Una dintre aceste enzime, tirozinaza, prezentă în mod normal în struguri, este total inactivată de un adaos relativ scăzut de dioxid de sulf, de aproximativ 50 mg/L, în timp ce altă enzimă, produsă de *Botrytis cinerea* și derivată din strugurii botritizați, lacaza, este mai puțin sensibilă la acest tratament (Coetzee, 2011). Din acest considerente, Zironi ș.a (2009) susțin că riscul de apariție a fenomenului de oxidare este mai mare la musturi produse din struguri botritizați (Zironi ș.a., 2009). În vin, însă, oxidările chimice îndeplinesc un rol incontestabil, deoarece enzimele oxidative nu mai există. De asemenea, reduce considerabil rata polimerizării fenolice care determină scăderea intensității culorii observată în timpul procesului de învechire. Atunci când un vin este maturat, este posibil să nu fie suficient să se administreze SO₂ în compoziția sa, fiind sugerată o dezinfecție a butoiului cu SO₂ sub formă de gaz sau cu ardere de sulf, operațiune necesară în special pentru a preveni dezvoltarea levurilor specifice din genul *Brettanomyces*, răspunzătoare de mirosuri și alterări nedorite în vinuri (Davidson ș.a., 2005). Procesul de obținere și transportul vinului reprezintă de asemenea punctele cheie: dacă vinul nu va fi monitorizat pe tot parcursul elaborării sale atunci este posibil ca micile neajunsuri depistate în timpul operațiilor să cauzeze defectele produsului final; dacă vinul va parcurge distanțe mari, va fi expus la variații drastice de temperatură, condiții sanitare nefavorabile, SO₂ devine esențial pentru a proteja vinul de oxidarea prematură (Zironi ș.a., 2009; Trioli și Hofmann, 2009).

Pe lângă beneficiile sale, utilizarea dioxidului de sulf în oenologie ca aditiv contribuie în totalitate la îmbunătățirea și menținerea calității produselor, astfel că **acțiunea antiseptică** are proprietatea principală de a conferi stabilizarea biologică și

microbiologică a musturilor și a vinurilor. Dioxidul de sulf este utilizat frecvent în vinificație ca fiind un compus cu rol antimicrobian datorită eficacității sale și a costului redus, fiind capabil să afecteze o mare varietate de microorganisme de alterare. Deși este activ împotriva bacteriilor și a unor levuri, este inofensiv pentru levurile sulfitorezistente, deoarece se combină cu piruvatul, 2-cetoglutaratul și alți compuși care sunt produși în timpul fermentației (Ough și Were, 2005).

Factorii care contribuie decisiv la manifestarea acestei acțiuni variază în funcție de starea fito-sanitară a materiei prime, numărul de celule levuriene și vârsta, temperatură, pH-ul și compoziția chimică a mediului (raportul dintre aldehide și concentrația alcoolică). Levurile aflate deja în activitate sunt sulfitorezistente, acest lucru fiind datorat fixării antisepticului de către aldehida acetică formată în timpul procesului de fermentație, crescând totodată și rezistența celulelor (Popa, 2014).

SO₂ acționează diferit asupra microorganismelor în funcție de locul în care se manifestă și anume: în partea externă a celulei sau în interiorul celulei (la nivelul membranei celulare). În cazul în care substanța acționează în partea externă a celulei, se evidențiază două efecte: primul constă în reacția SO₂ cu produșii intermediari ai respirației sau fermentației (acetaldehidă), unde acesta se implică sub formă de HSO₃⁻, sau al doilea care vizează consumul cantității de oxigen existent în mediu, implicat ca SO₂⁻³.

Fixarea SO₂ pe diferite componente de la nivelul membranei celulare se exercită îndeosebi pe proteine, având capacitatea de a le denatura și de a le perturba funcția, acțiune specifică ionului HSO₃⁻. În interiorul celulei, SO₂ acționează asupra enzimelor precum coenzima și apoezima, asupra ATP și ARN, sau asupra intermediarilor metabolici: compușii carbonilici sau aminoacizii sulfurați. Și în acest caz, ionul HSO₃⁻ sub formă de dioxid de sulf nedisociat este activ, chiar dacă accesul prin membrana celulară se realizează prin procesul de difuzie. De fapt, în urma acestei acțiuni se conturează ideea că dioxidul de sulf molecular este răspunzător de manifestarea acțiunii antiseptice (Cotea ș.a., 2009; 2014). Diversitatea acțiunilor manifestate de SO₂ accentuează de fapt dificultatea de a găsi intermediari care să exercite aceleași acțiuni simultan. Totuși, timpul de manifestare al acțiunii este factorul principal, pe lângă natura microorganismelor existente (bacterii, levuri, mucegaiuri) și doza administrată. Efectul biocid sau bacteriostatic se manifestă în funcție de doza de substanță administrată, de momentul administrării tratamentului și de specia, sușa și cantitatea de microorganisme existentă în must sau vin. Efectul biocid, fie bactericid, levuricid sau fungicid declanșează modificările ireversibile, ducând la inhibarea microorganismelor iar efectul biostatic (bacteriostatic, levuristatic, fungistatic), are puterea de a stopa activitatea microorganismelor, modificările provocate de acestea fiind reversibile (Cotea ș.a., 2009; 2014).

Acțiunea progresivă a dioxidului de sulf duce la blocarea sistemului enzimatic al celulelor și implicit al reacțiilor enzimatice, inhibând astfel funcția metabolică a microorganismelor. Datorită acțiunii antiseptice selective (bacterii > drojdii non-*Saccharomyces*>*Saccharomyces*), SO₂ este capabil să facă o selecție cu privire la microflora mustului, controlând debutul unei fermentații nedore. În vin, proprietatea antiseptică este exploatată împotriva bacteriilor care formează acid acetic, levuri

micodermice, *Brettanomyces* sau diverse alterări bacteriene (Bartowsky, 2009; Oelofse ș.a., 2008; Lisanti, 2019).

Activitatea antimicrobiană a SO₂ scade atunci când pH-ul vinului devine mai mare, stabilizarea microbiologică a vinurilor cu aciditate scăzută realizându-se mai dificil (Guererro ș.a., 2015). SO₂ este aditivul cel mai frecvent utilizat pentru controlul fermentației malolactice care se poate declanșa în timpul vinificației, datorită proprietăților sale antimicrobiene selective (în special împotriva bacteriilor lactice răspunzătoare de fermentația malolactică) (Ough și Crowell, 1987). Cele trei tipuri de bacterii lactice asociate care se pot dezvolta pe parcursul procesului de vinificație sunt *Oenococcus*, *Pediococcus* și *Lactobacillus*. Specia *Oenococcus oeni* se adaptează cel mai bine mediului și se poate dezvolta în condițiile nefavorabile din timpul vinificației, la pH scăzut și concentrație mare de etanol, fiind recunoscute prin urmare ca principalele specii care declanșează fermentația malolactică în vinuri (Guererro ș.a., 2015). Studiile confirmă că administrarea unei doze excesive de SO₂ afectează din punct de vedere al sănătății, iar din punct de vedere oenologic, poate provoca modificări organoleptice ale produsului final, neutralizând aromele și deprecind calitatea (Ribereau-Gayon ș.a., 2006). În schimb, o concentrație insuficientă nu asigură stabilitatea necesară vinului în ceea ce privește oxidarea excesivă sau dezvoltarea microbiană. Interzicerea administrării de SO₂ ca și agent antimicrobian fără o alternativă care să acționeze similar cu acesta, ar crește riscul ca levurile și bacteriile să se dezvolte și să creeze probleme vinificatorilor (Du Toit și Pretorius, 2000).

Acțiunea dizolvanță sau extractivă are loc în urma formării acidului sulfuros, un bun aliat al solubilizării substanțelor minerale și al extracției substanțelor colorante și odorante din struguri. În cazul vinificației în roșu și rosé, manifestă capacitatea de plasmolizare și disoluție prin extragerea pigmentilor antocianici din pielea boabelor de struguri, iar în cazul vinificației în alb, exercită acțiuni de coagulare și deburbare a musturilor (Popa, 2014). Având în vedere aceste considerente, vinurile devin mai extractive și uneori mai acide datorită faptului că o parte din SO₂ contribuie la creșterea acidității (Țârdea ș.a., 2000). Vinurile devin acide în urma procesului de dislocare a acizilor organici din sărurile lor greu solubile, acțiune datorată fermentației malolactice care nu se desfășoară în vinurile sulfitate, ci prin aciditatea naturală exprimată de dioxidul de sulf. De asemenea, în urma macerației sulfite se realizează facilitarea extracției din pielețele strugurilor, care duc la obținerea unui colorant alimentar natural (Cotea ș.a., 2009).

O altă acțiune remarcată în urma adăosului de dioxid de sulf este **îmbunătățirea însușirilor calitative** care face referire la conservarea aromelor primare provenite în mod natural din struguri dar și a prospețimii, conferind vinurilor voiciune, echilibru și suplețe în condițiile în care tratamentul administrat se încadrează în limitele aprobate de legislația în vigoare și în momentele cheie din procesul tehnologic (Țârdea ș.a., 2000; 2007).

2.3. Legislația privind utilizarea dioxidului de sulf în vinificație și influența manifestată asupra organismului uman

Datorită eficacității și versatilității SO₂ în vinificație, acesta este considerat aditivul indispensabil din oenologie, folosit cu precădere în tehnologiile de obținere a vinurilor (Ribéreau-Gayon ș.a., 2006). Un număr însemnat de alimente poate conține SO₂ ca aditiv printre care se regăsesc fructe și legume uscate, fructe și legume conservate, gemuri, jeleuri, marmelade, sucuri, creveți, pește în conservă, etc. În conformitate cu Regulamentul UE nr. 1129/2011, SO₂, pe lângă celelalte forme de sulfiți, trebuie să fie indicat pe etichetă cu anumite coduri, notate cu E, cuprinse în intervalul E 220-228. Regulamentul stabilește, de asemenea, limita pentru conținutul de SO₂ admis, printre cele mai mari fiind înregistrate la procesele de uscare a caiselor, piersicilor, strugurilor, prune și smochine (2000 mg/kg). În ceea ce privește vinurile tratate cu dioxid de sulf, Organizația Internațională a Viei și Vinului a stabilit dozele admise care trebuie respectate în tehnologiile de obținere a vinurilor, prezentate în tabelul 2.1.

Concentrația admisă de dioxid de sulf în vinurile care nu intră în categoria celor licoroase sau spumante este de maximum 50 mg/L pentru tratamentul vinurilor roșii și maximum 200 mg/L pentru cele albe și roze. În ceea ce privește vinurile care au în compoziția lor minimum 5 g/L zaharuri, limita legală aprobată este de 200 mg/L la vinurile roșii și 250 mg/L la vinurile albe și roze. Dozele de 300 mg/L, respectiv 400 mg/L este atribuită vinurilor speciale. Pentru vinurile licoroase s-au stabilit limitele legislative de maxim 150 mg/L când concentrația de zaharuri din vinuri < 5 g/L și de cel mult 200 mg/L pentru cele cu o concentrație de zaharuri > 5 g/L. Limitele admise pentru vinurile spumante de calitate sunt de maxim 185 mg/L dioxid de sulf, iar pentru alte tipuri de vinuri spumante legislația permite o doză de 235 mg/L SO₂ (Regulamentul UE 2019/934). Limitele legale pentru fiecare țară în care se aplică tratamentul vinurilor cu dioxid de sulf sunt prezentate în tabelul 2.2.

Tabelul 2.1/Table 2.1

Dozele permise pentru administrarea dioxidului de sulf în vinuri/ Permitted doses for the administration of sulphur dioxide in wines (*după Document de expertiză colectivă OIV, 2021*)

Organizație	Tipul de vin	Limita admisă mg/L	Referințe bibliografice
OIV	Vin roșu < 4g/L zaharuri	150	OIV OENO 09/1998
	Vinuri albe și rosé		
	< 4g/L zaharuri	200	
	Vinuri roșii, albe, rosé > 4g/L zaharuri	300	
	Vinuri dulci/vinuri speciale	400	
Codex Alimentarius		350 mg/Kg	Dispoziții GSFA pentru categoria de alimente 14.2.3 (Vinuri din struguri)

Cu toate că utilizarea SO₂ este considerată aproape inevitabilă în producerea vinului, se știe că ingestia acestei substanțe este asociată cu unele riscuri pentru sănătatea persoanelor sensibile, care au și alte afecțiuni sau boli. Studiile realizate de Vally și

Thompson, 2001, 2003; Grotheer ș.a., 2005; Ferrer Gallego ș.a., 2018; Costanigro ș.a., 2014 au demonstrat că aditivii precum sulfiții declanșează o serie de reacții adverse cum ar fi: bronhospasm, bradicardie, simptome gastro-intestinale, urticarie, angioedem, hipotensiune arterială, și mai rar reacții anafilactice. Reacțiile apar de regulă la subiecții care manifestă și alte alergii sau care suferă de boli destul de grave. S-a stabilit doza letală 50 (DL50) de 1,5 g SO₂/kg de greutate corporală și o doză zilnică acceptabilă (DZA) de 0,7 mg SO₂/kg greutate corporală (OMS, EFSA, 2014; Vally ș.a., 2009). Deși pentru diferitele categorii de produse alimentare se stabilesc concentrații limită, este indicat să se ia în considerare consumul cumulat de diferite produse alimentare care conțin sulfiți. Ținând cont de aceste preocupări legate de sănătate, legislația comunitară europeană impune etichetarea cu expresia „conțin sulfiți” și se referă la produsele alimentare care conțin concentrația de SO₂ mai mare de 10 mg/L sau 10 mg/kg (Directiva 2003/89/CE). Acest prag a fost stabilit luând în considerare limita de detecție a sulfiților din alimente și băuturi cu metodele de detecție disponibile la momentul respectiv (EFSA, 2014; Lisanti, 2014). Reacțiile de sensibilitate umană față de vinurile sulfitate, care nu pot fi întotdeauna rezultatul ingerării produselor cu sulfiți (Linneberg ș.a., 2008), au indicat că pot fi, de asemenea, dependente de o oarecare co-expunere la alți constituenți, cum ar fi alcoolul, aminele biogene sau contaminanți proveniți din prelucrarea vinului, precum și tratamentele cu lizozimă. Cu toate acestea, Vassilopoulou ș.a., 2011 au raportat că de fapt, cantitatea acestor alergeni în vinurile pe care le-au studiat a fost extrem de scăzută și a concluzionat că dovezile actuale indică un risc foarte scăzut pentru consumatorii alergici la agenții utilizați în stabilizarea vinului. S-a remarcat că unele reacții de sensibilitate în urma ingerării vinului a fost asociat cu prezența altor componente alergene precum veninul de la himenoptere, insecte culese odată cu strugurii (Stockley ș.a., 2021). Ținând cont de preocupările legate de sănătate și legislație, consumatorii moderni se orientează din ce în ce mai mult către produse obținute fără conservanți artificiali. Prin urmare, atenția cercetătorilor și specialiștilor în domeniul industriei alimentare se concentrează pe studiul alternativelor, capabile să reducă sau chiar să elimine necesitatea acestor compuși. De fapt, există un mare interes în căutarea altor conservanți și tehnologii inovatoare, inofensive pentru sănătate, care pot înlocui sau completa acțiunea de SO₂, făcând posibilă reducerea nivelurilor acestuia în vinuri. Înlocuirea sau reducerea adaosului de SO₂ în vin ar trebui realizată prin tehnologii care să îi asigure stabilitate microbiologică, protejând produsele în același timp împotriva oxidării și menținându-i proprietățile organoleptice.

Tehnologiile descrise în bibliografia de specialitate nu afectează sănătatea umană și sunt considerate ca fiind alternative cu rezultate promițătoare de substituie a SO₂ în procesul de conservare al vinurilor. Unele studii care vizează acest aspect au comparat proprietățile SO₂ în aceleași condiții față de noile sale alternative. Alți cercetători au fost testat tehnologiile noi pe alte produse alimentare, monitorizând efectul antioxidant sau antimicrobian, recomandat ca alternativă de reducere a concentrației de SO₂ pentru vin. Scopul comun vizează analiza tuturor metodelor și tratamentelor aplicate pentru a demonstra dacă pot fi utilizate în vinificație pentru reducerea sau substituie concentrațiilor de SO₂ necesare conservării vinurilor (Guerrero și Cantos-Villar, 2015).

Tabelul 2.2/Table 2.2

Dozele de SO₂ admise pentru tratarea vinurilor în diferite țări /SO₂ doses allowed in different countries for wine treatment (Document de expertiză colectivă OIV, 2021)

Țara	Tipul vinului	Limita admisă (mg/L)	Referințe bibliografice
Argentina	Vinuri roșii	130	Rezoluția INV N° 2/2018
	Vinuri albe	180	
	Vinuri roșii dulci	180	
	Vinuri dulci, albe și roze	210	
Australia	< 35g/L zaharuri	250	ANZFSC 4.5.1: Clauza 5(5)(a)
	> 35g/L zaharuri	300	
Brazilia	Toate vinurile	300	ANVISA, Rezoluția n° 123, 2016
Canada	Toate vinurile	350	Reg. Canadian pentru alimente și medicamente B.02.100
UE	Vinuri albe/roze < 5g/L zaharuri	200	Regulamentul Comisiei (EU) 2019/934
	Vinuri roșii < 5g/L zaharuri	150	
	Vinuri albe/roze ≥ 5g/L zaharuri	250	
	Vinuri roșii ≥ 5g/L zaharuri	200	
	Vinuri speciale dulci	300	
	Vinuri speciale dulci	350	
India	Vinuri speciale dulci	400	Legea și regulile privind prevenirea falsificării alimentelor, Appendix C, Table 3
	Toate vinurile	450	
Japonia	Toate vinurile	350	Specificațiile și standardele japoneze pentru aditivii din alimente
Noua Zeelandă	< 35g/L zaharuri	250	-
	> 35g/L zaharuri	300	
Africa de Sud	Vinuri roșii < 5g/L	150	Reglementări privind Legea produselor alcoolice, Actul 60 din 1989
	Vinuri albe < 5g/L	160	
	Toate vinurile > 5 g/L	200	
	Vinuri speciale dulci	300	
SUA	Toate vinurile	350	27 CFR 4.22(b)(1)

3. STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR REFERITOARE LA ALTERNATIVELE DE REDUCERE SAU SUBSTITUIRE A DIOXIDULUI DE SULF ÎN VINIFICAȚIE

3.CURRENT STATE OF RESEARCHES REGARDING THE ALTERNATIVES FOR REDUCE OR REPLACEMENT SULPHUR DIOXIDE IN WINEMAKING

3.1. Generalități care vizează impactul tratamentelor și metodelor cu caracter antioxidant și antiseptic asupra vinurilor

Antioxidanții și antisepticii sunt folosiți cu precădere în industria alimentară, mai ales în conservarea mustului și vinului cunoscute ca produse perisabile care au nevoie de protecție atât pe parcursul tehnologiei de obținere cât și pe întreaga perioadă a depozitării și păstrării. Substanțele sunt caracterizate de acțiuni diferite precum cele bacteriostatice și bactericide. Substanțele bacteriostatice au capacitatea de stopare a dezvoltării și activității microorganismelor manifestând de fapt acțiunea biostatică, iar substanțele bactericide distrug în totalitate microorganismele și previn apariția lor. Există de asemenea și substanțe care pot îndeplini ambele roluri, cum ar fi dioxidul de sulf care până în momentul actual al cercetărilor nu poate fi eliminat în totalitate din procesul de vinificație (Ribéreau-Gayon ș.a., 2006; Țârdea, 2007; Cotea ș.a., 2009; 2014).

Având în vedere că trendul consumatorului modern este acela de a se orienta spre vinuri cu o cantitate redusă de sulfiți, industria vinului tinde să se aplece și să satisfacă cererea de pe piață. În urma noilor tendințe, s-au studiat metodologii, tehnologii adecvate ale diminuării SO₂ pentru a controla microorganismele patogene ale vinului, incluzând diverse metode chimice și fizice. Doar o parte dintre metodele chimice au fost aprobate în Uniunea Europeană pentru utilizarea lor în vinificație, în special pentru proprietățile lor antimicrobiene. Unele metode chimice a căror utilizare este permisă în UE, dar cu alte scopuri decât stabilizarea microbiologică a produselor alimentare, au fost evaluate ca adjuvanți ai SO₂, luând în considerare potențialele lor proprietăți antimicrobiene. În cele din urmă, un anumit număr de inhibitori chimici microbieni au fost studiat pentru o posibilă aplicare în vinificație, totuși încă nu este definitivată aprobarea legislativă sau de reglementare a acestor substituenți (Lisanti ș.a., 2019).

Deși microorganismele sunt fundamentale în vinificație, anumite specii de levuri și bacterii pot provoca alterarea vinului în condiții favorabile pentru proliferarea lor, astfel reducându-se calitatea vinului și implicit valoarea sa comercială. Alterarea vinului poate avea ca rezultat creșterea acidului acetic și acidității volatile, creșterea vâscozității sau apariția mirosurilor nedorite datorită compușilor volatili precum acetatul de etil (Bartowsky, 2009; Du Toit și Pretorius, 2000). Stabilitatea microbiologică a vinurilor este fundamentală pentru calitatea sa astfel că se poate realiza prin utilizarea de tratamente chimice, fizice și termice, capabile să inhibe proliferarea microorganismelor sau să le îndepărteze fizic din vin. Cel mai frecvent utilizat și eficient conservant chimic este

dioxidul de sulf, dar pe lângă acesta, o metodă comună utilizată pentru îndepărtarea fizică a microorganismelor din must sau vin este filtrarea. În special, se utilizează microfiltrarea cu o porozitate a membranei cuprinsă între 0,1-10 μm , realizată în principal înainte de îmbutelierea vinurilor. În plus, microfiltrarea este raportată ca având un impact negativ asupra aromei vinului conform studiului efectuat de Arriagada-Carrazana ș.a., 2005. De asemenea, prin acest procedeu se reduce populația microbiană a vinului, în special *Brettanomyces/Dekkera spp.* (Suárez ș.a., 2007), dar cu toate aceste considerente, poate avea și efecte dăunătoare asupra culorii, compușilor volatili și proprietăților senzoriale ale vinurilor (López-Malo ș.a., 2005; Lambri ș.a., 2010). În ceea ce privește tratamentele termice, pasteurizarea este un tratament care imprimă vinului mirosul de gătit, prin urmare, aceste procedee sunt evitate în producția de vinuri de calitate superioară.

În ultimii ani au fost studiate alternative adecvate pentru a controla încărcătura microbiană, inclusiv diverse metode chimice și fizice evitând utilizarea excesivă a agenților antiseptici precum SO_2 și obținerea unor vinuri de calitate superioară (Rougier ș.a., 2014; Clodoveo ș.a., 2016; Muñoz García ș.a., 2021). Fiind considerați aditivi, este necesară aprobarea legislativă pentru utilizarea acestora în producerea vinului (Lisanti, 2019).

3.2. Metode fizice utilizate în scopul obținerii vinurilor cu conținut redus de dioxid de sulf

Datorită preocupărilor legate de sănătate au fost încurajate tehnicile de înlocuire a dioxidului de sulf în vinificație, fără a compromite producția de vinuri de înaltă calitate. În ultimii ani au fost studiate și utilizate cu succes diverse tehnologii de reducere sau substituție a dioxidului de sulf având ca scop eliminarea microorganismelor din alimente și băuturi dar și menținerea calității acestor produse (Cui ș.a., 2012; Boroski ș.a., 2017). În acest sens se face referire și la metodele fizice, precum: presiunea hidrostatică ridicată, ultrasunetele, radiațiile ultraviolete, microundele și câmpurile electrice pulsatorii.

3.2.1. Utilizarea presiunii hidrostatice ridicate

Tratamentul cu presiune hidrostatică ridicată (HHP - high hydrostatic pressure) constă în aplicarea presiunilor cuprinse între 100 și 1000 MPa la o produs, instantaneu și uniform, utilizând un mediu de transmitere a presiunii în lichide, la temperatura de 20 °C (Cao ș.a., 2011). Tehnologia HHP este una dintre așa-numitele „tehnologii ușoare”, datorită posibilității de a utiliza apa ca mediu de compresie și la o eficiență energetică ridicată (Hugas ș.a., 2002). Tehnologia se bazează pe principiul Le Chatelier și regula izostatică, presiunea hidrostatică fiind transmisă într-o manieră uniformă și instantanee, produsele sau constituenții acestuia, suferind modificări de volum sub presiune. În special, presiunea ridicată accelerează reacțiile implicând o schimbare de volum la nivel molecular, iar acest fenomen este capabil să determine biologice efecte asupra macromoleculelor și microorganismelor (Hugas ș.a., 2002).

Inactivarea microbiană de către HHP se datorează diversilor factori, inclusiv modificări asupra proteinelor, asupra structurilor celulare cum ar fi membrana, ribozomii și enzimele, ducând la alterarea funcției lor și la degradarea celulară a acestora (Lopez-Caballero ș.a., 1999; Wuytack ș.a., 2002). HHP perturbă numai legăturile necovalente ale compușilor chimici, responsabili de structura secundară, terțiară și cuaternară a proteinei și implicată în structuri complexe organizate, în timp ce legăturile covalente nu sunt afectate (Rendueles ș.a., 2011). Din acest motiv, moleculele vitaminelor, pigmentilor, aminoacizilor, compușilor volatili de aromă sau alți compuși cu greutate moleculară mică sunt greu afectați și, ca urmare, proprietățile organoleptice și nutriționale sunt ușor modificate (Farkas și Hoover, 2000; Zabetakis ș.a., 2000; Aymerich ș.a., 2008). Efectul antiseptic al metodei în musturi și în vinuri a fost observat mai întâi de Delfini ș.a., (1994; 1995). În special, eficacitatea unui tratament cu 400 MPa timp de 2 minut realizat la temperatura de la 20 °C a avut efect împotriva microorganismelor precum *Leuconostoc oenos*, *Lactobacillus spp.*, *Acetobacter* și *Botrytis cinerea* (Delfini ș.a., 1995). Ulterior, Puig ș.a., (2003) au constatat că în urma aplicării unei presiuni de 500 MPa timp de 5 minute a dus la o reducere de 99,99 % a populației microbiene inițiale de *Saccharomyces cerevisiae*, *Brettanomyces bruxellensis* și *Oenococcus oeni*, fără a determina modificări asupra caracteristicilor chimice sau organoleptice ale vinului.

Cercetările recente obținute de Mok ș.a (2006) au demonstrat că efectul de pasteurizare manifestat asupra levurilor, bacteriilor aerobe, bacteriilor lactice specifice vinului a crescut odată cu presiunea și timpul tratamentului (de la 100 la 350 MPa, până la 30 de minute), având un impact redus asupra proprietăților fizico-chimice și senzoriale.

De asemenea, în vin, bacteriile aerobe s-au remarcat ca fiind susceptibile la presiune hidrostatică ridicată comparativ cu levurile și bacteriile lactice (Mok ș.a., 2006). Metoda a fost aplicată pentru inactivarea speciei *Brettanomyces bruxellensis*, iar tratamentele în care s-au aplicat 300 MPa au determinat inactivarea totală a levurilor indiferent de condițiile oenologice, în timp ce eficacitatea tratamentelor mai ușoare de 100 și 200 MPa sunt dependente de pH-ul și gradul alcoolic al vinului (Morata ș.a., 2012). Deși tehnologia este raportată ca fiind delicată față de compușii de aromă în comparație cu cea a tratamentelor termice, tratamentele HHP severe (650 MPa timp de 2 ore) s-au dovedit ca fiind capabile să afecteze însușirile fizico-chimice și proprietățile senzoriale ale vinului roșu, generând astfel scăderea intensității culorii și a nivelurilor de compuși fenolici (compuși fenolici totali, antociani, ester, flavonoli și tanini), acțiune datorată de polimerizare, condensare și precipitare a compușilor fenolici (Tao ș.a., 2012). Mai mult, s-a remarcat scăderea mirosului intens fructat dar s-au evidențiat atributele gustative, inclusiv gustul acru, astringent, și amar au fost ușor îmbunătățite (Tao ș.a., 2012).

Santos ș.a., (2013) au demonstrat, de asemenea că tratamentele mai puțin severe de presiune ridicată, 400-500 MPa, cu timp de procesare de 5 minute pot influența caracteristicile fizico-chimice și senzoriale ale unui vin roșu, prin evidențierea reacțiilor similare cu cele observate în timpul învechirii vinului, oferind o percepție senzorială ca aceea a unui vin vechi. În special, s-a constatat că tratamentele HHP accelerează reacțiile Maillard în timpul perioadei de depozitare a vinului alb, determinând apariția unor

mirosuri intense de fructe fierte, datorită creșterii nivelului de 2-furfural (Santos ș.a., 2013), efectele fiind perceptibile numai după cel puțin 6 luni de depozitare. Tratamente la presiune scăzută pentru o lungă perioadă de timp (100 MPa timp de 24 de ore) s-a observat că reduc ușor conținutul total de antocianină, în timp ce efectul asupra alcoolilor și esterilor a fost neglijabilă (Morata ș.a., 2012).

Utilizarea tratamentului cu presiune hidrostatică ridicată în scopul stabilizării microbiene a vinului pare a fi promițătoare și ar trebui să fie considerată individual sau în asociere cu alte metode, o altă alternativă de reducere a SO₂. Pentru tratarea cărnii și brânzeturilor, se poate lua în considerare utilizarea combinată a tratamentelor precum bacteriocine, lizozimă, chitosan împreună cu HHP, fiind testate pentru a demonstra dacă există efecte sinergice (Karatzas ș.a., 2001; Garriga ș.a., 2002; Kalchayanand ș.a., 2004; Rodriguez ș.a., 2005). Cu toate acestea, utilizarea acestei metode în vinificație necesită studii suplimentare, exemplu, efectul cu privire la activitatea polifenol oxidazei. Într-adevăr, unele studii privind sucii de struguri au demonstrat că tratamentele HHP pot activa polifenol oxidaza, în funcție de timpul și presiunea aplicată, ducând la scăderea concentrației de antociani (Talcott ș.a., 2003). Pe de altă parte, în pulpa de căpșuni s-a observat că tratamentele cu presiune între 400 la 600 MPa inactivează polifenol oxidaza, peroxidaza și β-glucozidaza, păstrând în același timp antocianinele monomere și polimerice dar și compușii fenolici (Cao ș.a., 2011).

Unele experimente indică o evoluție a caracteristicilor olfactive ale vinului spre un profil de „vin învechit” (Santos ș.a., 2013), chiar dacă efectul asupra compușilor volatili este încă studiat. Efectul principal este cel manifestat asupra calității dar există și o limitare a acestei tehnici care se referă la aplicarea sa și anume: datorită imposibilității de a fi folosită într-un proces continuu, doar vinul îmbuteliat poate fi tratat, prin urmare, presiunea hidrostatică ridicată poate fi aplicată doar în ultima etapă de vinificație. De asemenea, sunt necesare ambalaje mai flexibile care să fie rezistente în urma aplicării acestui tratament fizic, așa cum este și butelia de sticlă, cea mai utilizată pentru îmbutelierea unui vin, costul ridicat al unui astfel de echipament reprezentând un alt factor limitativ.

Aplicarea acestei tehnici în oenologie pare să fie promițătoare, dar necesită studii amănunțite astfel încât să fie un echilibru între costurile echipamentelor necesare și calitatea vinurilor finale.

3.2.2. Acțiunea ultrasunetelor

În ultimul deceniu, un număr considerabil de aplicații ce vizează ultrasunetele de înaltă intensitate au fost utilizate și cercetate în procesarea alimentelor, cum ar fi în procesul de congelare, tăiere, uscare, călire, albire, sterilizare și extracție (Chemat ș.a., 2011). Datorită efectului lor antimicrobian, ultrasunetele pot fi utilizate și ca metodă alternativă a tratamentelor termice convenționale, pentru pasteurizarea și sterilizarea produselor alimentare (Piyasena ș.a., 2003). Mecanismul de inhibare al microorganismelor se datorează în principal subțierii membranelor celulare și producției de radicali liberi (Chemat ș.a., 2011).

Ultrasunetele se referă de fapt la undele de presiune cu o frecvență de 20 kHz sau mai mult (Brondum ș.a., 1998; Butz și Tauscher, 2002), în general, echipamentele cu ultrasunete utilizând frecvențe de la 20 kHz la 10 MHz. Ultrasunetele de putere mai mare dar cu frecvențe mai mici, cuprinse între 20-100 kHz, denumite și „ultrasunete de putere”, sunt recunoscute pentru capacitatea de a provoca procesul de cavitație care constă în prăbușirea violentă a micro-bulelor de înaltă energie, care sunt formate atunci când ultrasunetele de mare putere se propagă într-un lichid (Piyasena ș.a., 2003). Acest efect rezultă în urma unor variații foarte înalte de temperatură și presiune, ajungând până la 5500 °C și presiunea de până la 50 MPa, determinând astfel pasteurizarea localizată (Chemat ș.a., 2011).

Eficacitatea unui tratament cu ultrasunete este dependent de tipul de bacterii care necesită inhibare. Microorganismele, în special sporii, sunt relativ rezistente la efecte, astfel perioadele prelungite de ultrasunetare și asocierea ultrasunetelor cu tratament de presiune (manosonicare), tratament termic (termosonicare) sau ambele tratamente (manotermosonicare) pot fi necesare pentru a atinge siguranța produsului tratat (Piyasena ș.a. 2003). De asemenea, compoziția chimică alimentelor și temperatura tratamentului aplicat sunt factorii decisivi care pot afecta eficacitatea inactivării microbiene (USDA, 2000). Efectul antimicrobian al ultrasunetelor a fost studiat pentru inactivarea levurilor viabile din genul *Brettanomyces/Dekkera* prezente în butoaie, fiind utilă îndeosebi pentru a reduce cantitatea de dioxid de sulf administrată (Yap ș.a., 2008; 2009). Undele ultrasonice pot fi, de asemenea, utilizate pentru învechirea accelerată a vinurilor (Chang și Chen, 2002).

O altă utilizare a ultrasunetelor în vinificație se focusează spre îmbunătățirea extracției compușilor polifenolici (antociani și taninuri) din struguri (Chemat ș.a., 2011). A fost demonstrată capacitatea ultrasunetelor normale și a celor combinate cu căldură sau acid ascorbic care duc la inhibarea unor enzime, cum ar fi polifenoloxidaza în fructe și sucul de fructe (Jang și Moon, 2011) tratamente care ar putea fi pretabile în vinificație. Cu toate acestea, metoda necesită un studiu amănunțit deoarece nivelurile reduse de putere pot induce stimularea enzimelor, datorate eliberării din celule, în timp ce nivelurile mai ridicate de putere inactivează enzimele din cauza denaturării. Într-adevăr, inactivarea enzimelor s-a produs atunci când rata de eliberare a fost depășită de rata denaturării enzimei (Costa ș.a., 2013). Jiranek ș.a., (2008) au sugerat aplicarea ultrasunetelor în mai multe etape ale vinificației datorită modificărilor survenite în urma utilizării acestei tehnici și anume: reducerea încărcăturii microbiene de alterare în musturile obținute din struguri nesănătoși, extracție îmbunătățită a compușilor de culoare și aromă în sucul de struguri/vin, reducere contaminării cu levuri sau bacterii înainte de inocularea cu levuri selecționate, inițierea, întârzierea sau suprimarea fermentației malolactice, accelerarea autolizei pentru a declanșa acest tip de fermentație, eliminarea depunerilor tartrice din cisterne și butoaie și igienizarea butoaielor de stejar.

Cu toate acestea, în prezent, experimentele realizate sunt într-un număr redus în mediul vitivinicol fiind necesare și alte cercetări pentru a stabili protocolul de aplicare și pentru a evidenția impactul ultrasunetelor asupra vinificației moderne.

3.2.3. Utilizarea radiațiilor ultraviolete

Lumina ultravioletă (UV) poate fi utilizată ca tratament non-termic cu scopul de a reduce încărcătura microbiană a alimentelor dar și a materialelor care vin în contact cu alimentele (Falguera ș.a., 2011). Radiațiile UV includ lungimile de undă ale spectrului de radiații electromagnetice cuprins între 100 și 400 nanometri. Având în vedere activitatea antimicrobiană, cea mai eficientă gamă de lungimi de undă este situată între 200 și 280 nm, cunoscută ca UV-C, în special la 254 nm (Bintsis ș.a., 2000). Inactivarea microorganismelor (bacterii și levuri) de tehnica UV se datorează modificării consecvente a ADN-ului celulelor lor, care le împiedică să se reproducă (Hijnen ș.a., 2006).

Levurile au prezentat o rezistență mai mare la tratament decât bacteriile și printre acestea unele gram-negative sunt mai sensibile (Thompson, 2003). Eficacitatea antimicrobiană a iradierii UV a fost utilizată în industria alimentară, de exemplu la purificarea aerului, sterilizarea apei și a alimentelor lichide, decontaminarea suprafețelor dar și igienizarea materialelor de ambalare (Bintsis ș.a., 2000). Datorită nivelului scăzut de penetrare, tratamentul alimentelor proaspete solide cu radiații UV este limitat la suprafețele acestora (ouă, pește, carne) și aplicarea sa asupra lichidelor tulburi și colorate intens este limitată (Falguera ș.a., 2011; Guerrero Beltrán și Barbosa-Cánovas, 2004). Ca o consecință a agregării proteinelor, radiația UV-C este, de asemenea, capabilă să inactiveze enzimele, în special polifenol oxidaza, ceea ce face ca utilizarea sa să fie foarte promițătoare în cazul vinului, datorită rolului polifenol oxidazei în determinarea oxidării enzimatică (Li ș.a., 2008).

Având în vedere proprietățile sale, radiațiile UV ar putea fi promițătoare ca o tehnologie inovatoare care poate ajuta la scăderea cantității de dioxid de sulf utilizată în producția de vin, iar aplicarea acestuia a fost investigată din ce în ce mai mult în ultimii ani. Fredericks ș.a., (2011) au studiat eficacitatea radiației UV-C la 254 nm în sucuri de struguri și vinuri în doze cuprinse între 0-3672 J/L (debit constant de 4000 L/h). Levuri, bacterii lactice și acid-acetice au fost utilizate și inoculate în musturile din soiurile Chenin blanc, Shiraz și în vinuri de tipul Chardonnay și Pinotage. Tratamentul a manifestat o inactivare eficientă asupra unui spectru larg de microorganisme asociate vinului, printre care se remarcă speciile *Brettanomyces*, *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, o corelație pozitivă a dozei de UV-C și aplicarea combinată a radiației UV-C și SO₂ (20 mg/L și 24 mg/L de SO₂ liber pentru vinul Chardonnay și respectiv Pinotage) au arătat aceeași eficacitate a tratamentului cu UV-C. În ceea ce privește reducerea dezvoltării microbiene, eficacitatea tratamentului a fost mai mare la vinul alb decât în mustul și vinul roșu, o cauză probabilă ar fi adsorbția radiațiilor UV de către compușii fenolici, în principal de antociani.

Un alt aspect important face referire la faptul că turbiditatea reduce eficacitatea radiațiilor UV, astfel că această tehnică trebuie aplicată vinului alb limpede. Tratamentul musturilor din Cabernet Franc și Xarel·lo cu radiații UV (250-740 nm) a determinat fermentații mai lente cu o producție mai mică de acid acetic, majoritatea probabil din cauza distrugerii microflorei indigene, în timp ce parametrii chimici de bază nu au fost afectați (Falguera ș.a., 2012). Cu toate acestea, în același studiu, s-a observat că

inactivarea polifenol oxidazei este parțială, diferit de alte sucuri de fructe cum ar fi cel de mere, sau în special în mustul roșu, necesitând astfel protecție antioxidantă.

În comparație cu adaosul de SO_2 , tratarea musturilor din Xarel-lo și Parellada cu radiații UV (250-740 nm) a putut preveni deteriorarea vinurilor obținute, fără modificarea parametrilor chimici de bază ai vinului, dar cu modificări ai parametrilor cromatici (Falguera ș.a., 2013 (A)). S-a constatat că iradierea UV-Vis este eficientă în inactivarea completă a peroxidazei din must, dar inactivează numai polifenol oxidaza parțial inactivată, într-o măsură mai mică în musturile roșii și rosé decât în musturile albe datorate absorbției radiațiilor de către antociani (Falguera ș.a., 2013 (B)). Având în vedere aceste rezultate, adăugarea de SO_2 ar trebui să fie necesară pentru inactivarea completă a polifenol oxidazei, evitându-se astfel modificările de culoare ale vinului.

Primul studiu recent la scară industrială a confirmat eficacitatea radiației UV-C 254 nm, dozaj 1,0 kJ/L împotriva microorganismelor vinului (levuri, bacterii acetice și lactice), în special în vinurile albe. Aplicarea radiației UV-C, împreună cu niveluri reduse de SO_2 pentru a asigura protecția antioxidantă, poate fi promițătoare, în special pentru vinurile albe, efectele pe termen scurt și îndelungat privind compoziția chimică, compușii volatili și caracteristicile senzoriale necesitând a fi studiate în continuare (Ribéreau-Gayon ș.a., 2006).

3.2.4. Utilizarea tehnologiei microundelor

Studii realizate pe parcursul a câteva decenii, s-au concentrat pe tehnologia cu microunde, încălzirea cunoscând aplicații vaste în procesarea alimentelor, cum ar fi gătitul, uscarea, călirea, albirea, sterilizarea și extracția, cu timp de procesare redus și cu consum minim de energie (Perino-Issartier ș.a., 2010; Chandrasekaran ș.a., 2013).

Microundele sunt caracterizate ca fiind unde electromagnetice neionizante aparținând spectrului electromagnetic cu lungimi de undă de la 1 mm la 1 m, cu frecvențe între 300 MHz și 300 GHz. Principiul încălzirii în ceea ce privește utilizarea energiei microundelor se bazează pe impactul său direct cu materiale/solvenți, declanșându-se două fenomene: conducția ionică (datorată câmpului electric în schimbare) și rotația dipolului (datorită câmpului electromagnetic al microundelor în schimbare), care în majoritatea cazurilor apar simultan (Clodoveo ș.a., 2016).

Datorită efectelor antimicrobiene directe manifestate prin impactul asupra microorganismelor sau posibilitatea pentru a realiza sinteza unui număr mare de compuși cu rol antimicrobian, utilizarea sa în conservarea alimentelor a fost propusă și studiată din ce în ce mai mult în ultimii ani (Clodoveo ș.a., 2016).

Aplicația tehnologiei microundelor a fost studiată cu scopul principal de a accelera extragerea de compuși fenolici în procesul de obținere al vinurilor roșii (Carew ș.a., 2014) și, de asemenea, să accelereze evoluția acestor vinuri tinere (Zheng ș.a., 2011). Tehnica microundelor este aplicată în multe procese alimentare pentru a reduce timpul de procesare (Guo ș.a., 2017). Este cunoscut că undele electromagnetice de înaltă frecvență destabilizează legăturile slabe de hidrogen prin îmbunătățirea rotației moleculelor polare

(Li ș.a., 2014; Liu ș.a., 2017), care ar induce formarea de radicali liberi (Elias ș.a., 2009), factorii cheie în procesul de oxidare a vinului (Yuan ș.a., 2020).

Utilizarea microundelor într-un experiment realizat pe soiul Pinot noir a permis reducerea timpului de macerare, de obicei foarte lung pentru acest soi, datorită compoziției fenolice deosebite (conținut scăzut de antociani și extractibilitate redusă a taninurilor). Vinurile supuse tratamentului au înregistrat concentrații ridicate de compuși fenolici totali, antociani, taninuri după aproximativ 18 luni de învechire în sticlă, comparativ cu vinul martor (Carew ș.a., 2014). Autorii au emis de asemenea ipoteza și a confirmat că, în același timp, tratamentul aplicat mustului a avut efect pasteurizant, reducând astfel dezvoltarea microorganismelor aerobe de alterare. Temperatura mustului tratat a atins 71 °C, menținută timp de 10 minute, metoda rezultând a fi mai eficientă decât cea cu SO₂, pentru a reduce populația levurilor la zdrobirea strugurilor (Carew ș.a., 2014).

Gradul de extracție ridicat este un aspect de luat în considerare la tratarea soiurilor de struguri bogate în compuși fenolici. Până în prezent, nu au fost menționate studii privind aplicarea pe mustul alb, nici studii privind aplicarea ca tratament antimicrobian asupra vinului finit. În acest ultim caz, încălzirea produsă de utilizarea tehnologiei cu microunde ar putea avea efecte negative asupra calității senzoriale, în ceea ce privește aspectul, mirosul, gustul, așa cum sugerează rezultatele obținute la temperatură scăzută < 40 °C realizate de Zheng ș.a., 2011.

Tehnologia a fost de asemenea testată pentru igienizarea vaselor și butoaielor de vin, prin intermediul echipamentului prototip, care exploatează microundele de înaltă frecvență pentru a reduce populațiile microbiene. Autorii au observat că tratamentul aplicat cu o putere de 3000 W, timp de 3 minute, temperatura maximă atinsă pe suprafața lemnului fiind de 48 °C a reușit să scadă semnificativ populațiile de microorganisme prezente în vinuri, obținând scăderi între 36-38 % din totalul populațiilor de levuri, 35-67 % pentru *Brettanomyces* și aproximativ 91-100 % pentru bacteriile acetice și bacteriile lactice (González-Arenzana ș.a., 2013).

Pentru a înlocui tehnica de igienizare a baricurilor cu SO₂, ar putea fi utilizată ca alternativă sustenabilă ecologică, tehnologia microundelor, datorită consumului redus de apă, costului scăzut al energiei și absenței agenților chimici (González-Arenzana ș.a., 2013).

3.2.5. Tehnologia câmpului electric pulsatoriu

Tehnologia câmpului electric pulsatoriu (PEF- pulsed electric field) este o tehnologie non-termică capabilă să inactiveze microorganismele patogene din alimente, dar să și inhibe activitatea enzimelor. Tehnologia prezintă o serie de avantaje, cum ar fi timpul scurt de aplicare al tratamentului (câteva ms), consum redus de energie și continuitatea procesului. De asemenea, costurile procesului sunt scăzute în raport cu alte tratamente fizice, de exemplu, costurile estimate pentru tratamentul la presiune înaltă sunt cuprinse între 200-700 € pe tonă, și doar 10-80 € pe tonă pentru câmpul electric pulsatoriu (Delsart ș.a., 2015). Tehnologia constă în aplicarea impulsurilor electrice de înaltă tensiune și de scurtă durată (μs) asupra alimentelor testate (Pataro ș.a., 2010).

Această tensiune are ca rezultat un câmp electric a cărei intensitate depinde de tensiunea transmisă și de decalajul dintre electrozi. Fenomenul indus care provoacă distrugerea microbiană este de fapt electroporarea membranelor celulare și determină o creștere a permeabilității acestora. Astfel, câmpul electric aplicat induce un potențial electric peste membrana unei celule vii suspendată în câmpul electric. Peste o valoare critică, acest potențial provoacă defalcarea electricității și, de asemenea, modificările mecanice ale membranei celulare. În consecință, permeabilitatea celulară se modifică și, în funcție de intensitatea tratamentului aplicat și de caracteristicile celulare, poate avea loc separarea celulelor vegetative, fenomen numit electroporare permanentă.

Puterea critică a câmpului electric pentru electroporarea celulelor microbiene (cu diametre de la 1 la 10 μm) este în intervalul de 10-15 kV /cm (Toepfl ș.a., 2006). Eficacitatea tratamentelor în inhibarea levurilor și creșterea bacteriilor a fost dovedită pentru tratamentul sucurilor de fructe, precum sucurile de portocale și mere (Timmermans ș.a., 2014). De asemenea, eficacitatea lor în inactivarea unui număr mare de enzime, dintre care polifenol-oxidaza și peroxidaza, a fost demonstrată și se datorează modificărilor induse în structură secundară enzimatică (Zhong ș.a., 2007).

În ultimii ani, aplicarea câmpului electric pulsatoriu în tratarea mustului și vinului a fost studiată amănunțit, cu diverse obiective, stabilizarea microbiologică fiind cea mai importantă dintre ele. O serie de factori influențează eficacitatea acestuia asupra inactivării microorganismelor, și anume: intensitatea tratamentului, speciile microbiene, mediul și temperatura (Yang ș.a., 2016). Intensitatea mai puternică duce la o inactivare microbiană mai mare. S-a constatat că tratamentul mustului permite reducerea sau chiar eliminarea adăugării de SO_2 înainte de inoculare, afectând minim producerea de compuși volatili de către *Saccharomyces cerevisiae* și fără impact negativ asupra caracteristicilor senzoriale ale vinului obținut (Garde-Cerdan ș.a., 2008).

Tratamentul vinului roșu înainte de îmbuteliere (20 kV/cm timp de 4 ms) a permis inactivarea levurilor de alterare din genul *Brettanomyces bruxellensis* și a bacteriilor *O. oeni* și *P. parvulus* fără a manifesta un impact negativ asupra compoziției fenolice a vinului și asupra culorii acestuia. Cu toate acestea, alte modificări ale compoziției vinului ar trebui să fie atent luate în considerare, datorită eliberării de zaharuri din degradarea levurilor și a pereților bacteriilor Gram-pozitive și scăderea acidității totale (Delsart ș.a., 2015). Tehnologia câmpului electric pulsatoriu s-a dovedit a fi o alternativă adecvată pe lângă adăugarea de SO_2 pentru a opri fermentarea în producția de vin alb dulce (Delsart ș.a., 2015), minimizând totodată și apariția fenomenului de oxidare. Ca o alternativă la metoda comună de utilizare a SO_2 , este considerat tratamentul adecvat pentru a controla și inhiba creșterea microbiană. Efectul acestuia sau cel al tratamentului cu descărcări electrice de înaltă tensiune a fost comparat pentru a monitoriza fermentarea mustului alb dulce cu adaos de SO_2 (Ozturk și Ertan, 2017).

Tehnologia a fost, de asemenea, studiată pentru alte aplicații în industria vinicolă, precum extracția compușilor fenolici (antociani și taninuri) din pielea strugurilor, reducând astfel timpul de macerare și creșterea intensității culorii (López-Giral ș.a., 2015) obținerea vinurilor roșii cu o culoare stabilă în timpul depozitării și învechirii, accelerarea

evoluției acizilor organici în timpul învechirii în butelii (Wang ș.a., 2015; Delsart ș.a., 2016). Unele cercetări sugerează că tratamentul vinurilor roșii tinere cu PEF ar putea fi adecvat, metoda de accelerare a evoluției fenolilor (proantocianidine, catehină și epicatechină) declanșând învechirea naturală într-un timp mai scurt (Chen ș.a., 2010).

De asemenea, este indicată monitorizarea și cuantificarea în ceea ce privește eliberarea de metale ca Fe, Cr, Zn și Mn din electrozii în contact cu vinul (Yang ș.a., 2016), deoarece chiar și cantitățile reduse sunt suficiente pentru a cataliza reacțiile de oxidare (Waterhouse și Laurie, 2006).

Puține dovezi sugerează faptul că tratamentul ar putea afecta cantitatea unor compuși volatili precum esterii și alcoolii fusel (Liu ș.a., 2006; Zeng ș.a., 2008), însă efectul asupra compușilor de aromă, precum și rezultatul analizei senzoriale în urma administrării tratamentului PEF în vinificație este încă studiat.

3.2.6. Tehnologia curentului electric redus

Curentul electric redus este cunoscut ca fiind o alternativă cu potențial utilizată pentru reducerea SO₂ în timpul procesului de obținere a vinului. În prezent, această tehnică a fost aplicată cu succes la musturile de struguri, 200 mA timp de 16 zile. Conform studiului realizat de Lustrato ș.a., (2006) a rezultat că în urma aplicării tratamentului, a scăzut timpul de supraviețuire al levurilor apiculate, în timp ce nu a afectat creșterea și supraviețuirea speciei *Saccharomyces cerevisiae*.

Ca alternativă pentru reducerea SO₂ la condiționarea vinului, metoda a fost aplicată la un vin roșu, Montepulciano d'Abruzzo. Lustrato ș.a., 2010, au aplicat metoda cu 200 mA pentru inhibarea unui număr considerabil de 4481 celule de levuri *Dekkera bruxellensis* timp de 60 de zile. Rezultatele au arătat că în urma aplicării acestei metode s-au redus semnificativ celulele viabile și a crescut rata mortalității pentru speciile testate.

Aceste rezultate ar putea avea o importanță semnificativă în dezvoltarea tehnologiilor pentru obținerea „vinurilor biologice”, sau metodologii și alternative inovatoare pentru controlul acțiunii microbiene în timpul fermentației (Lustrato, 2006).

3.3. Metode chimice utilizate în vinificație în scopul reducerii concentrațiilor de dioxid de sulf

Metodele chimice permise și utilizate în oenologie cu rol antimicrobian conform legislației UE (Reg. CE Nr. 606/2209 și modificările ulterioare) cuprind utilizarea tratamentelor cu dimetildicarbonat, lizozimă, acid sorbic, acid ascorbic, bacteriocine, antibioticele, betaglucanaze, compuși fenolici, hidroxitirosool, nanoparticule de argint și chitosan.

3.3.1. Lizozima

Lizozima este o proteină izolată din albumina existentă în compoziția chimică a oului (Azzolini ș.a., 2010), care datorită proprietății antimicrobiene pe care o manifestă, a

fost și este utilizată pentru a prelungi durata de valabilitate a diverselor alimente (Santos ș.a., 2012), cum ar fi fructe și legume proaspete, tofu, fructe de mare, carne și preparate din carne, sosuri și brânzeturi cu pasta semitare precum Edam, Gouda și câteva brânzeturi italiene (mozzarella, grana padano, parmigiano reggiano). Utilizarea sa în vinificație este cercetată în scopul reducerii dioxidului de sulf (Liburdi ș.a., 2014) fiind explorată din ce în ce mai mult datorită stabilității și activității sale antimicrobiene maxime la valori ale pH-ului cuprinse în intervalul 2,8-4,2 (Delfini ș.a., 2004; Azzolini ș.a., 2010). În must, doza maximă de administrare este de 500 mg/L, iar în vin, doza trebuie să fie cumulată, luând în considerare tratamentul aplicat mustului (Regulamentul CE nr. 606/2009).

Lizozima poate fi utilizată în diferite etape ale vinificației, în funcție de obiectivul urmărit. Activitatea sa împotriva microorganismelor depinde și de structura peretelui celular, fiind extrem de activă împotriva bacteriilor gram pozitive (activitate scăzută împotriva bacteriilor gram-negative) și inactivă împotriva celulelor eucariote. Datorită acestei proprietăți, nu inhibă fermentația alcoolică atunci când este adăugată în must dar pe de altă parte nu este capabilă să controleze levurile de alterare, precum *Dekkera/Brettanomyces* (McKenzie și White, 1991; Liburdi ș.a., 2014).

În urma manifestării unei acțiuni litice împotriva majorității bacteriilor lactice, în special cele Gram-pozitive, lizozima are capacitatea de inhibare a dezvoltării bacteriene în vinuri, controlând dezvoltarea spontană care deseori provoacă alterarea sau fermentarea nedorită (Gao ș.a., 2002). Lizozima poate fi utilizată și în controlul fermentării malolactice prin întârzierea sau inhibarea acesteia. Pentru vinurile roșii în special, adăugarea lizozimei determină întârzierea fermentației malolactice, prelungește timpul de macerare, permite microoxigenarea și ajută la stabilizarea culorii și extracția polifenolică (Gerland și Sieczkowski, 2004; Gerland, 2006) sau poate fi adăugată în must pentru a inhiba fermentația malolactică, dacă nu este necesară (Gerbaux ș.a., 1997; Lisanti, 2014). Mai mult, adăugarea de lizozimă la vinurile roșii după fermentarea malolactică, oferă stabilitate microbiologică și, prin urmare, limitează producția de acid acetic și amine biogene (Gerbaux ș.a., 1997; López ș.a., 2009).

Lizozima manifestă acțiune în special asupra vinurilor albe datorită faptului că în viul roșu se leagă cu polifenolii. Din același motiv, o reducere semnificativă de aproximativ 17 % a intensității culorii vinului roșu și conținutului de polifenoli s-a remarcat în urma utilizării enzimei în asociere cu formarea unui precipitat. De asemenea, activitatea sa persistă mai puțin timp în vinul roșu decât în vinul alb (câteva zile în vinul roșu, respectiv câteva luni, la cel alb) (Bartowsky ș.a., 2004). La vinurile albe, administrarea de lizozimă poate preveni creșterea acidității volatile în timpul finalizării sau al încetării fermentației alcoolice și întârzie sau inhibă fermentația malolactică. Sonni ș.a. (2009) au studiat adăugarea lizozimei dar și a taninurilor în timpul fermentării mustului alb, observând în ambele cazuri un nivel redus de acetaldehidă (cu trei până la cinci mai mic) în ceea ce privește vinurile fermentate cu SO₂. Un dezavantaj remarcat ar fi acela că lizozima induce instabilitate termică, ceea ce sugerează că vinurile albe pot necesita stabilizare proteică după tratamentul cu lizozimă. Referitor la arome și gust s-a

constatat că în urma tratării cu 300 mg/L lizozimă nu apar modificări în compoziția vinului roșu sau alb (Bartowsky ș.a, 2004).

Având în vedere că lizozima nu prezintă proprietăți antioxidante, nu se poate folosi ca substituent al SO₂, dar poate permite utilizarea acestuia în cantități reduse. Implicațiile economice ale utilizării lizozimei sunt încă un factor limitativ pe lângă faptul că poate reprezenta un risc pentru consumatorii alergici la ouăle de găină. Ținând cont de alergiile pe care le poate provoca consumatorilor, lizozima necesită a fi menționată pe eticheta vinurilor dacă este detectată în produsul final $\geq 0,25$ mg/L sau chiar dacă este utilizată și în timpul etapelor de procesare (Directiva 2007/68 / CE de modificare a Directivei 2000/13 / CE) (Lisanti, 2014; Lisanti ș.a., 2019).

3.3.2. Acidul sorbic

Acidul sorbic sau acidul 2,4 hexadienoic este un cunoscut agent folosit cu precădere în industria alimentară, cu formula chimică: CH₃-CH=CH-CH=CH-COOH. Este un acid gras nesaturat folosit ca agent antimicrobian, cu rol în inhibarea dezvoltării levurilor (Lonvaud-Funel ș.a., 2010) prin suprimarea activității sistemul enzimatic al fosforilazei oxidative (Tromp și Agenbach, 1981).

În Europa se administrează ca sare solubilă de sorbat de potasiu, pentru vinuri fiind admisă limita unei concentrații de acid sorbic (în produsul tratat și introdus pe piață) de 200 mg/L (Regulamentul CE nr. 606/2009). În alte țări este utilizat în vinurile dulci pentru a inhiba fermentarea provocată de *Saccharomyces cerevisiae*. Pentru a-și manifesta eficacitatea maximă este indicat să se țină cont de caracteristicile vinului precum: pH-ul, concentrația alcoolică, concentrația de SO₂ și numărul levurilor de alterare (Zoecklein ș.a, 1995). Acidul sorbic nu este un inhibitor eficient al bacteriilor lactice, acetice sau al levurilor de contaminare, cum ar fi *Brettanomyces*, *Saccharomyces* și *Zygosaccharomyces* (Du Toit și Pretorius, 2000). Mai mult, în urma activității întreprinse de speciile de bacterii lactice care apar în vin, produc compuși volatili responsabili de mirosul de geraniu (2-etoxi-3,5- hexadienă) (Ribéreau-Gayon ș.a., 2006).

Forma activă nedisociată a acidului sorbic scade odată cu creșterea pH-ului, prin urmare, eficacitatea substanței este redusă. Un studiu realizat de Zoecklein ș.a., (1990) confirmă că la un vin cu pH-ul 3,0, procentul nedisociat al acidului sorbic este de 98,4 %, în timp ce la pH 3,7, scade la 92,6 %, observând acțiunea acidului sorbic de reacție sinergică cu dioxidul de sulf. Ough și Ingraham (1960) au raportat inhibarea creșterii levurilor din vin cu adaos de acid sorbic la 80 mg/L și cu dioxidul de sulf liber de 30 mg/L. Într-un studiu al stabilității vinurilor albe și roșii, Auerbach (1959) a raportat că inhibarea la vinurile albe a fost obținută în urma adaosului de acid sorbic de 75 mg/L și dioxid de sulf de 200 mg/L (Zoecklein ș.a., 1995).

În concluzie, utilizarea acidului sorbic trebuie limitată la vinurile dulci, împreună cu o doză suficient de mare de SO₂ pentru a preveni oxidarea (Lisanti, ș.a., 2019) și orice activitate bacteriană (Lisanti, 2014).

3.3.3. Acidul ascorbic

Acidul ascorbic este prezent în mod natural în struguri, dar manifestă dezavantajul de a se reduce cantitativ în mare măsură în timpul zdrobirii acestora (Ribéreau-Gayon ș.a., 2000). În consecință, o concentrație semnificativă de acid ascorbic prezentă în vinurile albe (30-200 mg/L) indică rezultatul administrării voite în timpul procesului de producție. Acidul ascorbic sau vitamina C este un bun antioxidant utilizat în vinificație pentru eficacitatea sa manifestată în reacțiile cu oxigenul (Wallington ș.a., 2013). Deține capacitatea de a proteja compușii sensibili ai vinului, precum compușii fenolici și de aromă prin reducerea compușilor fenolici oxidați (Cojocaru și Antoce, 2011). Cu toate acestea, oxidarea acidului ascorbic duce la formarea de peroxid de hidrogen, responsabil cu deteriorarea calității vinului în timpul depozitării (Barril ș.a., 2012; Boroski ș.a., 2017).

Datorită capacității antimicrobiene reduse a acidului ascorbic se constată că nu poate fi folosit ca un înlocuitor al dioxidului de sulf. Administrarea ambelor substanțe determină o scădere a cantității utilizate de dioxid de sulf necesar pentru protecția vinurilor influențând favorabil gustul, limpiditatea și buchetul de învechire.

Au fost întreprinse studii privind acidul ascorbic, în condiții diferite, cum ar fi variabilitatea pH-ului, condițiile de temperatură, concentrațiile de dioxid de sulf și prezența altor numeroși constituenți din vinuri. De exemplu, s-a demonstrat impactul acidului ascorbic în timpul învechirii în sticlă a unor vinuri de tipul Chardonnay și Riesling, remarcând aspecte benefice în urma administrării tratamentului inclusiv păstrarea culorii și a aromelor (Skouroumounis ș.a., 2005; Bradshaw ș.a., 2011).

3.3.4. Bacteriocinele

Bacteriocinele sunt polipeptide mici produse de unele tulpini de bacterii lactice, capabile să inhibe diverse tulpini bacteriene, din aceleași specii sau diferite. Bacteriocinele precum nizina, pediocina și plantaricina, acționează asupra membranei citoplasmatică a bacteriilor determinând eliminarea sau liza acestora (Lisanti ș.a., 2019).

Similar cu alte bacteriocine, nizina prezintă activitate antimicrobiană împotriva unei game largi de bacterii Gram pozitive, dar manifestă o activitate nesemnificativă asupra bacteriilor Gram negative, levuri sau mucegaiuri. Utilizarea nizinei în producția de vin se utilizează în scopul prevenirii alterărilor produse de bacterii, fiind promițător în special împotriva bacteriilor lactice. Printre acestea, tulpinile de *Oenococcus oeni* s-au dovedit a fi deosebit de sensibile la nizină. Utilizarea combinată a nizinei și a dioxidului de sulf a fost propusă ca o strategie de reducere a sulfiților în vin (Rojo-Bezares ș.a., 2007). De asemenea, s-a constatat că pediocina și plantaricina sunt active împotriva unui număr mai mare de bacterii lactice, inclusiv *Lactobacillus*, *Leuconostoc* și *Oenococcus spp*, efectuând astfel fermentația malolactică (Nel ș.a., 2002; Bauer ș.a., 2003).

Pediocina, plantaricina și nizina s-au dovedit capabile să distrugă toate celulele viabile dintr-un biofilm stabilit de *O. oeni* care s-a format în mediu acid al sucului de struguri, pediocina fiind cea mai eficace (Nel ș.a., 2002). Mai mult, o substanță inhibitoare asemănătoare bacteriocinei (BLIS), izolată din *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris* s-a dovedit a fi eficientă împotriva alterării vinului. Speciile din genul

Lactobacillus sunt utilizate în controlul fermentației malolactice și împotriva tulpinilor de bacterii lactice (Yurdugül și Bozoglu, 2008).

Rojo-Bezares ș.a., (2007) au demonstrat că utilizarea combinației de nizină și metabisulfid ar putea controla creșterea bacteriilor de alterare în vin și, prin urmare, permit o scădere a nivelurilor de dioxid de sulf utilizate în prezent de oenologi. Cu toate acestea, în prezent, utilizarea bacteriocinelor în vinificație nu este încă autorizată. Datorită faptului că nu posedă proprietăți antioxidante, utilizarea lor în asociere cu dioxidul de sulf ar fi recomandată și ar permite reducerea concentrațiilor acestuia. Mai mult, dacă este nevoie de un control împotriva levurilor, asocierea cu dimetildicarbonat ar putea fi eficientă, dar necesită monitorizarea eventualelor modificări care pot surveni precum și posibilele efecte negative asupra caracteristicilor senzoriale ale vinului (Lisanti, 2014).

3.3.5. Antibioticele

Dintre antibioticele întâlnite în industria alimentară, se menționează în special natamicina, cunoscută și sub numele de pimaricină sau E235, fiind cunoscut ca un antibiotic macrolidic produs în mod natural în timpul fermentării de către *Streptomyces spp.* (Stark și Han, 2003). Activitățile antifungice ale natamicinei se datorează legării sale de membrana celulară a ergosterolului, principalul sterol din membranele fungice, în timp ce bacteriile sunt rezistente în mod natural la natamicină datorită faptului că membranele lor nu au steroli (EFSA, 2009). Natamicina este utilizată în diverse alimente în multe țări în care legislație prevede acest lucru, cu scopul de a monitoriza creșterea levurilor și mucegaiurilor la suprafața produselor alimentare, (brânzeturile semitari și semi-moi și cârnații uscați).

Administrarea acestei substanțe în vin este controversată, astfel că Organizația Internațională a Viei și Vinului (OIV) nu include natamicina printre aditivii utilizați pentru tratarea vinurilor. Țările precum Argentina, Africa de Sud și China permit adăugarea de natamicină în vin, în timp ce în Statele Unite, Australia și Uniunea Europeană este interzis, de asemenea, nu se admite vânzarea unui vin care conține natamicină.

În țările în care natamicina este permisă, se utilizează ca alternativă de reducere a SO₂ la îmbuteliere în scopul prevenirii refermentării în vinurile dulci care au și aciditate scăzută, de exemplu, în Africa de Sud se acceptă doza cea mai mare de antibiotic de maxim 30 mg /L vin (Thomas ș.a., 2005; Sun ș.a., 2016).

3.3.6. Compuși fenolici

Fiind constituenți naturali ai vinului sunt compuși responsabili de conturarea caracteristicilor importante, în principal aspectul, culoarea și gustul, astringența. Compuși fenolici importanți prezenți în vin sunt reprezentați de acizii fenolici, flavonoizii, stilbenii și taninurile. Datorită capacității lor antioxidante, au un aport pentru sănătate în urma consumului moderat de vin. Adăugarea de taninuri este o practică în oenologie, menită să faciliteze limpezirea musturilor și a vinurilor. În ultimii ani, a fost studiată utilizarea compușilor fenolici în timpul vinificării, ca înlocuitor al SO₂.

Utilizarea în etapa pre-fermentativă a taninurilor oenologice, în asociere cu lizozima, a determinat obținerea unor vinuri cu un conținut mai ridicat de esteri, față de cele fermentate doar cu SO₂, și capacitatea de eliminare a oxigenului de către taninuri a permis menținerea cantităților de esteri la niveluri diferite în vinul depozitat timp de 1 an (Sonni ș.a., 2011). Mai mult, vinurile în care SO₂ a fost înlocuit cu lizozimă și taninuri, au mirosuri fructate și florale mai intense decât cele convenționale (Sonni ș.a., 2009).

În cercetările efectuate de Campos ș.a., 2003, Bossi ș.a., 2007, autorii au sugerat o modificare a structurii peretelui celular datorită adsorbției fenolilor și a altor mecanisme care implică interacțiuni cu enzimele celulare. În ultimii ani, utilizarea compușilor fenolici, administrați ca tratament individual sau în combinație cu alte substanțe a fost studiată pentru a înlocui SO₂, rezultatele obținute fiind remarcabile. De exemplu, substituția completă a SO₂ cu taninuri și lizozimă a permis o reducere de până la 4 ori a concentrației de acetaldehidă (Sonni ș.a., 2011).

Efectul compușilor fenolici ai vinului se manifestă asupra creșterii metabolismului microorganismelor, în special al bacteriilor lactice care participă în procesele de vinificație (García-Ruiz ș.a, 2008). A fost sugerat că acești compuși fenolici pot acționa ca activatori sau inhibitori ai dezvoltării bacteriilor, în funcție de structura și concentrația chimică a vinurilor. De exemplu, acidul galic și antocianinele au activat creșterea celulară și rata degradării acidului malic a *Oenococcus oeni*, fiind metabolizat de celule, acidul vanilic a prezentat un ușor efect inhibitor, în timp ce acidul protocatehic nu a avut niciun efect (Vivas ș.a, 1997). În ceea ce privește concentrația de compuși fenolici, în general, nu au niciun efect sau pot manifesta un efect stimulator la concentrație scăzută, în timp ce la concentrații mai mari au rezultat ca fiind buni inhibitori. Sensibilitatea manifestată de adaosul de compuși fenolici depinde și de speciile microbiene prezente în vinuri, de exemplu *Oenococcus. oeni* s-a dovedit a fi mai sensibilă la inactivarea acidului fenolic decât *Lactobacillus Hilgardii* (Campos ș.a, 2003). Unii autori susțin că fenolii pot modifica permeabilitatea membranei celulare a bacteriilor și pot provoca, de asemenea, o modificare a compoziției acizilor grași (Lisanti, 2014).

Pe baza rezultatelor obținute, se constată că utilizarea combinată a compușilor fenolici cu bacteriocinele sau lizozimă și DMDC ar putea avea efecte benefice, pentru a asigura atât acțiunea antioxidantă, cât și cea antimicrobiană împotriva microorganismelor (levurilor și bacteriilor). S-au efectuat diverse studii și asupra mediilor de creștere și a soluțiilor administrate, în timp ce vinul este influențat de factorii intrinseci (etanol, fenoli, SO₂, agenți antimicrobieni) care ar putea acționa sinergic cu compușii fenolici adăugați. Mai mult, fenolii au un rol major în determinarea proprietăților organoleptice ale vinurilor, prin propriile lor acțiuni și prin interacțiunea cu alte componente (compușii volatili), prin urmare adaosul acestora trebuie evaluat din punct de vedere senzorial (Lisanti ș.a., 2019).

3.3.7. Hidroxitirosolul

Este un alcool fenil etilic care manifestă caracter antioxidant fiind prezent în principal în uleiul de măsline. Cu toate acestea, vinul a fost descris ca reprezentând o sursă suplimentară de hidroxitirosol, manifestând și acțiune antimicrobiană. Primele consemnări

legate de prezența sa au fost în urma unor studii realizate pe vinurile din Italia (Di Tommaso ș.a., 1998). Unii autori au descris concentrații mai mari în vinurile roșii cuprinse între 3,66-4,20 mg/L comparativ cu vinurile albe de 1,72-1,92 mg/L precizând formarea hidroxitirosolului din tirozol în timpul fermentației alcoolice. Cu toate acestea, vinul alb conține în plus și cantități de acizi hidroxicinamici, tirozol și hidroxitirosol, despre care se știe, de asemenea, că posedă unele proprietăți antioxidante (Fernández-Mar ș.a., 2012). De asemenea, hidroxitirosolul a fost detectat și în vinurile din Grecia (Proestos ș.a., 2005), în timp ce alți cercetători italieni i-au confirmat prezența în vinurile din Italia (Boselli ș.a., 2006; Dudley ș.a., 2008).

Cercetările recente s-au axat pe evaluarea sa ca alternativă de reducere a cantității de dioxidul de sulf din vinuri (Raposo ș.a., 2016). În studiul realizat de Ruiz-Moreno ș.a. (2015) hidroxitirosolul a prezentat activitate antioxidantă ridicată și activitate microbiană comparabilă cu cea a SO₂ împotriva celor mai importante microorganisme patogene a vinului, exceptând *Dekkera bruxellensis* și *Botryotinia fuckeliana* (Ruiz-Moreno ș.a., 2015).

Într-un vin roșu obținut din soiul Syrah, adăugarea de hidroxitirosol ca înlocuitor al SO₂ nu a determinat diferențe în parametrii oenologici de bază, în compoziția chimică dar în schimb, parametrii de culoare au fost îmbunătățiți, precum și mirosul și proprietățile gustative înainte de îmbuteliere. Cu toate acestea, hidroxitirosolul nu a putut preveni oxidarea în timpul învechirii în sticlă, după 6 luni de depozitare în sticlă vinurile tratate au fost mai oxidate decât vinurile cu tratament de SO₂, atât în raport cu parametrii de culoare, cât și cu proprietățile senzoriale. În ceea ce privește vinul alb, obținut din Sauvignon blanc, s-au remarcat rezultate mai bune cu privire la culoarea și proprietățile senzoriale la vinurile cu hidroxitirosol decât la cele cu SO₂, dar un impact negativ al tratamentului s-a observat în evoluția vinului, în timpul depozitării în sticlă (Raposo ș.a., 2016). Conform cunoștințelor actuale, utilizarea hidroxitirosolului pentru substituția SO₂ pare să nu fie fezabilă. Cu toate acestea, combinația hidroxitirosolului cu alți antioxidanți precum acid ascorbic, glutatión, taninuri necesită aprofundată și, de asemenea și prin utilizarea combinată cu doze mici de SO₂ s-ar putea obține rezultate mai bune în ceea ce privește calitatea vinului (Lisanti ș.a., 2019).

3.3.8. Nanoparticule de argint

Nanoparticulele de argint sunt reprezentate de complexul de argint coloidal, și complexul de argint caolin. Proprietățile antimicrobiene ale argintului sunt cunoscute încă din cele mai vechi timpuri. Studiile recente subliniază că prezintă proprietăți antimicrobiene asupra unui spectru larg de bacterii Gram-negative și Gram pozitive, de asemenea, manifestă o anumită activitate antifungică și antivirală (Marambio-Jones și Hoek, 2010). Recent, a fost studiată utilizarea nanoparticulelor de argint în controlul microbiologic al vinului. În special, au fost efectuate studii ce vizează evaluarea eficacității unui complex de argint coloidal pentru a înlocui administrarea de SO₂, atât în vinificația vinurilor albe, cât și în vinificația celor roșii (Izquierdo-Cañas ș.a., 2012; Garde-Cerdán ș.a., 2013). Nanoparticulele de argint se prezintă sub formă de pulbere, cu

dimensiunea mai mică de 10 μm , insolubile în etanol și apă. Complexul de argint coloidal la doze de 1g /Kg de struguri s-a dovedit a fi capabil să controleze creșterea concentrației acidului acetic și a bacteriilor lactice, permițând dezvoltarea *Saccharomyces cerevisiae* la doze similare cu cele de SO_2 (Izquierdo-Cañas ș.a., 2012).

Compoziția chimică a vinului a fost ușor afectată, totuși vinurile cu argint coloidal au avut un grad alcoolic mai scăzut, conținut de acetaldehidă și conținut fenolic mai mare decât vinurile cu SO_2 administrat, ultimul aspect datorat lipsei de activitate antioxidantă. De asemenea, culoarea vinurilor albe a fost afectată de oxidare, în timp ce olfactiv și gustativ, profilurile au fost aproape similare. De asemenea, introducerea complexului de argint coloidal înainte de fermentația alcoolică și după fermentarea malolactică a vinului Tempranillo a fost comparată cu vinul tratat cu SO_2 (Garde-Cerdán ș.a., 2013). Complexul de argint coloidal a determinat acțiunea antimicrobiană similară cu cea a SO_2 , atât împotriva multiplicării levurilor cât și în controlul bacteriilor acidului acetic unde a fost mai eficient. Tot în acest caz, vinul obținut a avut un grad alcoolic mai scăzut, dar compoziția chimică și caracteristicile senzoriale similare. Diferențe în ceea ce privește intensitatea culorii, antocianine, polifenoli, arome și caracteristicile senzoriale au apărut în timpul depozitării în sticlă (complex de argint coloidal versus SO_2).

În ambele studii, utilizarea complexului de argint coloidal a fost considerat a fi un tratament sigur, deoarece concentrația de argint în vinurile finite a fost cu mult sub limitele legale. O altă practică oenologică propusă și studiată este adăugarea de argint sub forma unui complex de argint caolin (KAgC). Complexul de argint caolin este constituit dintr-un purtător inert sub formă de pulbere (caolin) de care este puternic legat argintul într-un procent de $1 \pm 0,1 \%$. O doză de 1g/L de KAgC s-a dovedit a fi eficient împotriva bacteriilor acetice și contaminării vinului cu levurile din genul *Brettanomyces*.

Rezultatele științifice indică faptul că, deși este foarte promițător în special pentru producția de vinuri roșii, utilizarea nanoparticulelor de argint necesită studii suplimentare ce au în vedere eficacitatea, siguranța și utilizarea acestuia în combinație cu SO_2 și alte substanțe cu rol antioxidant. De asemenea se are în vedere evaluarea siguranței acestora și impactul aplicării lor asupra compoziției și proprietăților senzoriale ale vinului, pe durata învechirii (Lisanti ș.a., 2019).

3.3.9. Chitosanul

Chitosanul este o heteropolizaharidă liniară a N-acetil-2-amino-2-deoxi-d-glucopiranoză și 2-amino-2-deoxi-d-glucopiranoză, derivată prin deacetilare din chitină, fiind recunoscută pentru activitatea antimicrobiană.

Chitosanul și derivații săi prezintă unele caracteristici biologice favorabile, inclusiv biodegradabilitatea prin sensibilitatea la degradarea enzimatică, biocompatibilitatea, fiind tolerat de țesuturile vii, inclusiv pielea, membranele oculare și epiteliul nazal și cel mai important, nu manifestă toxicitate (Raafat și Sahl, 2009). Datorită acestor caracteristici, chitosanul și derivații săi reprezintă materiale valoroase pentru produsele farmaceutice, aplicațiile biomedicale, precum și cele industriale. Este cunoscut ca fiind un biopolimer aprobat de autoritățile europene și de OIV utilizat în vinificație ca agent antimicrobian și

de purificare (Gómez-Rivas et al., 2004). Administrat în scop antifungic, tratamentul cu chitosan a redus semnificativ oxidarea polifenolilor din must și vin și controlul levurilor de alterare din genul *Brettanomyces* (Lisanti, 2019). Un alt studiu realizat de Gómez-Rivas ș.a., (2004) a demonstrat că adaosul de chitosan (50 până la 100 g/hL) a dus la întârzierea dezvoltării tulpinilor testate precum *Brettanomyces bruxellensis*, cât și pentru *Brettanomyces intermedius*. Tendințe similare au fost raportate de Ferreira ș.a., (2013) și Taillandier ș.a., (2015) care au observat stoparea dezvoltării populației de *Brettanomyces bruxellensis* în urma aplicării tratamentelor cu chitosan. Aceste rezultate, confirmă că astfel de tratament ar putea fi considerat adecvat pentru a reduce populațiile microbiene din compoziția vinurilor, dar nu și pentru a elimina în totalitate speciile, rezultate considerabile fiind remarcate în combinație cu tratamentul cu dioxid de sulf. În cele din urmă, chitosanul a fost testat recent pentru a elimina compuși precum 4-etilfenol și 4-etilguaiacol, compuși secundari produși de levura *Brettanomyces*, responsabili în principal de mirosul fenolic, nefavorabil din vinuri (Milheiro ș.a., 2017; Filipe-Ribeiro, ș.a., 2018).

Valera ș.a., (2017) au comparat efectele chitosanului și ale dioxidului de sulf, astfel că ambele tratamente au manifestat capacitatea de a reduce activitatea metabolică a tulpinilor de bacterii de acid acetic prezente în vinurile tratate. În studiul realizat de Chinnici ș.a., (2014) au fost investigate efectele protectoare ale sulfurilor și chitosanului împotriva degradării oxidative a tiolilor varietali. Oxidarea tiolului a fost redusă semnificativ în urma administrării tratamentului cu chitosan. Autorii au sugerat că acest aditiv poate contribui la conservarea diversității caracterelor vinurilor din struguri aromați cu niveluri reduse de sulfuri în compoziția chimică. Tratamentele cu acest agent au fost folosite pentru a produce vinuri albe fără adaos de dioxid de sulf ca și conservant (Nunes ș.a., 2016) observându-se că acestea au fost mai puțin susceptibile la oxidare decât vinurile cu adaos de dioxid de sulf. În plus, formarea complexului de fier-tartrat-chitosan s-a dovedit că inhibă reacțiile de oxidare precum și cele de multiplicare microbiană, reducând reacțiile de oxidare prin reducerea disponibilității fierului și a altor metale.

Utilizarea tratamentului cu chitosan în producția de vin reprezintă o metodă ușor de aplicat și ecologică, produsele obținute fiind conservate corespunzător, păstrându-și însușirile organoleptice (Yildirim și Darici, 2020).

3.3.10. β -Glucanazele

β -Glucanazele sunt folosite în vinificație cu scopul de a degrada glucanii și favorizează limpezirea musturilor și a vinurilor, în special cele obținute din struguri afectați de *Botrytis cinerea*. O altă aplicație considerabilă a diverselor preparate enzimatic care conțin β -glucanaze se referă la îmbunătățirea lizei levurilor cu scopul de a favoriza eliberarea intracelulară a compușilor din celulele levurilor, îmbunătățind astfel calitatea vinurilor maturate pe levuri (Van Rensburg și Pretorius, 2000).

Produsele utile care pot favoriza liza levurilor sunt reprezentate de un amestec de β -glucanaze și alte enzime cum ar fi pectinazele, al căror efect pozitiv asupra caracteristicilor vinurilor roșii și albe maturate pe levuri a fost demonstrat în urma studiilor realizate de Masino ș.a., 2008; Palomero ș.a., 2009. Preparatele de β -glucanază

autorizate pentru utilizare în vinificație sunt produse de specii din genul *Trichoderma* (Reg. CE 606/2009). Activitatea β -glucanazei este ușor inhibată de etanol, dar s-a dovedit a fi suficientă pentru accelerarea autolizei levurilor la vinurile spumante, cu un efect dependent de tipul de tulpină al levurii (Torresi ș.a., 2014). Aceste proprietăți au sugerat că β -glucanaza ar putea fi eficientă și împotriva levurilor de alterare a vinului. Acțiunea antimicrobiană a unui preparat de β -glucanază împotriva diferitelor specii de levuri de alterare a vinului cum ar fi: *Cryptococcus albidus*, *Dekkera bruxellensis*, *Pichia membranifaciens*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii* și *Zygosaccharomyces bisporus* a fost testat în ambele condiții, în medii de creștere sintetice dar și în vin (Enrique ș.a., 2010).

Experimentele efectuate pe medii sintetice în urma aplicării tartamentului cu enzime în doze mari, cuprinse între 200-1000 $\mu\text{g/mL}$ au prezentat un efect inhibitor diferit în funcție de specia de levuri astfel: la concentrație de 200 $\mu\text{g/mL}$, *Dekkera bruxellensis* și *Zygosaccharomyces bailii* au rezultat ca fiind cele mai sensibile tulpini cu un procent de inhibare $> 90 \%$, în comparație cu speciile *Cryptococcus albidus*, *Pichia membranifaciens*, *Zygosaccharomyces bisporus* și *Saccharomyces cerevisiae* față de care tratamentul a prezentat efect minim de inhibare $<10 \%$ (Enrique ș.a., 2010). În ceea ce privește experimentele pe vin, s-a constatat că tratamentele β -glucanaze manifestă acțiune antimicrobiană împotriva speciilor *Dekkera bruxellensis* și *Zygosaccharomyces bailii*, deși cu eficacitate redusă comparativ cu cea demonstrată pe mediul din laborator. În condițiile testate, a rezultat că utilizarea β -glucanazei nu a afectat parametrii chimici de bază a vinului (Enrique ș.a., 2010).

Având în vedere că rezultatele disponibile pe această temă sunt reduse, s-a observat că β -glucanazele au efect scontat in vitro, dar în condiții reale de vinificație prezintă capacitate limitată de inhibare împotriva levurilor de alterare din vinuri.

3.4. Administrarea dimetildicarbonatului pentru reducerea concentrațiilor de dioxid de sulf din vinuri

E224, dimetildicarbonat, pirocarbonat de dimetil, bicarbonat de dimetil, sunt denumirile aditivului alimentar cunoscut ca DMDC figura (3.1) în tehnologiile de producere a băuturilor.

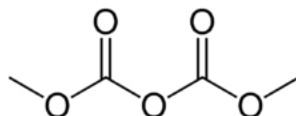
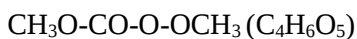


Figura 3.1 Formula chimică a dimetildicarbonatului

Figure 3.1 Chemical formula of dimethyldicarbonate

Primele cercetări în oenologie au avut ca scop evaluarea unui alt aditiv dietildicarbonat (Baycovin) dar s-a descoperit că odată administrat, formează în vin etilcarbamat, sau uretan, un compus toxic pentru organismul uman în urma combinării sale cu substanțele din vin având un miros puternic eterat și iritant (Cotea, 1985)

În aceste condiții, s-a decis înlocuirea cu un nou produs, dimetildicarbonat, care nu produce efecte toxice asupra organismului uman în urma utilizării în diverse băuturi (Colibaba, 2006). Proprietățile chimice ale DMDC-ului sunt reprezentate de: masa molară 134,087 g/mol, densitatea 1,25 g/mL, punctul de topire situat între 16-18 °C, punctul de fierbere 172 °C și vâscozitatea de 2,1 Pa·s (la temperatura camerei de 20 °C). Este un conservant artificial fiind obținut prin sinteză chimică, cu lichidul incolor, autorizat în UE pentru tratarea diferitelor băuturi în conformitate cu anexa II la Regulamentul (CE) nr. 1333/2008. Specificațiile au fost definite în UE în conformitate cu Regulamentul (UE) nr. 231/2012. DMDC este foarte reactiv cu agenți nucleofili care conțin un atom de hidrogen activ, cum ar fi: apa, alcoolii, acizii carboxilici, fenolici, aminele sau grupările tiol (EFSA, 2015).

Hidroliza substanței nu se realizează doar în apă ci și cu alte substraturi apoase cum ar fi băuturile răcoritoare. Rata de hidroliză a DMDC în prezența alcoolului este dependentă de temperatură. Timpul de reacție al DMDC în băuturile care conțin alcool este de 17 minute la 20 °C, 40 de minute la 10 °C și 70 de minute la 4 °C. S-a observat hidroliza completă după 120 minute (20 °C), 270 minute (10 °C) și respectiv 450 minute (4 °C) (Lanxess). Principala reacție a DMDC-ului în soluție apoasă este hidroliza cu formare de metanol și dioxid de carbon, prin urmare efectul său este instantaneu și este necesară o omogenizare rapidă și adecvată pentru a asigura eficacitatea sa (Costa ș.a., 2008). Un adaos de 200 mg/L de DMDC produce teoretic 95,60 mg/L de metanol, prin urmare, cantitatea totală a acestui compus rezultat (conținut inițial + metanol format din DMDC) în vin necesită monitorizarea permanentă. Eficacitatea DMDC depinde de mai mulți factori: speciile și tulpinile microorganismelor, contaminarea inițială, compoziția chimică a vinului (conținutul de etanol, pH,) temperatura, modalitatea de administrare și omogenizarea (Costa ș.a., 2008; Bartowsky, 2009).

Este utilizat în principal ca și conservant pentru băuturi sau ca sterilizant și acționează prin inhibarea enzimelor acetat kinază și acid L-glutamic decarboxilază. De asemenea, inhibă enzimele alcool dehidrogenază și gliceraldehidă 3-fosfat dehidrogenază provocând metoxycarboxilarea componentelor histidinice (Renouf, 2008; Cotea, 2014; Yildirim și Darici, 2020).

Rolul principal este acela de a inhiba dezvoltarea microorganismelor din băuturile răcoritoare non-alcoolice și alcoolice, manifestând compatibilitate cu diferite ambalaje. Utilizarea în producerea vinului a fost aprobată în Uniunea Europeană în 2006, o cantitate maximă de 200 mg/L, doar la cele cu un conținut mai mare de 5 g/L de zahăr rezidual). Se permite administrarea doar în etapa finală de îmbuteliere (Regulamentul CE nr. 606/2009).

Utilizarea dimetildicarbonatului are în vedere optimizarea tehnologiei de vinificație manifestând următoarele acțiuni:

- scade sau înlocuiește cantitatea de SO₂ folosită la obținerea vinurilor cu rest de zahăr. Vinurile de acest fel pot fi supuse unei refermentări în sticlă, influențând apariția tulburelii și astfel modifică însușirile organoleptice ale vinurilor;
- micșorează cantitatea de SO₂ folosită în vinurile tinere care se comercializează imediat;
- utilizat în combinație cu dioxidul de sulf a demonstrat stabilitatea microbiană la niveluri scăzute ale acestei substanțe, de asemenea previne apariția levurilor din genul *Brettanomyces* care modifică într-un mod negativ caracteristicile chimice și organoleptice ale vinurilor;
- poate înlocui operația de filtrare la vinurile de calitate (EFSA, 2015).

În urma constatărilor științifice, DMDC poate fi considerat un bun conservant împotriva unui spectru larg de microorganisme, în special asupra levurilor și mai puțin asupra bacteriilor care duc la contaminarea vinului (Delfini, 2002; Divol, 2005). Totuși, utilizând doar tratamentul cu DMDC, nu se poate asigura protecția totală a vinului împotriva oxidării, prin urmare, acțiunea sa nu este suficientă pentru a substitui pe deplin atuurile SO₂.

Cu toate acestea, datorită efectelor sinergice dintre SO₂ și DMDC în ceea ce privește stabilizarea și condiționarea vinurilor (Terrel ș.a., 1993; Ough ș.a., 1988) utilizarea acestor substanțe conservante simultan ar putea fi utilă pentru a reduce dozele de SO₂ la îmbuteliere (Lisanti, 2014), implicit pentru a oferi stabilitate vinurilor din punct de vedere chimic și microbiologic (Lisanti, 2019).

4. CERCETĂRI PRIVIND INFLUENȚA DIOXIDULUI DE SULF ȘI A DIMETILDICARBONATULUI ASUPRA COMPOZIȚIEI FIZICO-CHIMICE ȘI MICROBIOLOGICE A VINURILOR

4. RESEARCHES CONCERNING THE INFLUENCE OF SULPHUR DIOXIDE AND DIMETHYL DICARBONATE ON THE PHYSICAL-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL COMPOSITION OF WINES

Cercetările referitoare la folosirea SO₂ în vinificație datează încă din perioada egiptenilor și a romanilor, deși primele utilizări au fost consemnate la sfârșitul secolului al XVIII-lea fiind cel mai utilizat aditiv folosit în industria alimentară datorită multiplelor sale beneficii.

În ultimii ani, cercetarea în domeniul oenologiei a acordat o atenție deosebită tehnologiilor de obținere a vinurilor, numeroase studii vizând individualizarea alternativelor de înlocuire parțială sau totală a SO₂ (Ough, 2008; Costa ș.a., 2007; Lisanti, 2019). Cercetările prezentate oferă o imagine de ansamblu asupra metodelor testate, care au fost autorizate sau care au fost propuse pentru a înlocui activitatea dioxidului de sulf în vinificație. În special sunt evidențiate metodele propuse pentru a înlocui activitatea antiseptică a dioxidului de sulf, astfel încât să se asigure stabilitatea microbiologică a vinului.

*Într-un experiment efectuat într-o podgorie din Napa Valley, California, realizat de **Ough, (1975)** într-un vin alb obținut din soiul Zinfandel cu 10 % vol. alcool și respectiv 12 % vol. alcool a fost tratat cu 150 ppm. DMDC. Vinului de 10 % vol. alcool și respectiv 12 % vol. alcool i-au fost inoculate varietăți de *Saccharomyces cerevisiae* și *Saccharomyces bailii*, levuri cunoscute prin rezistența lor în industria vinului. În urma acestui experiment, analizele fizico-chimice periodice au arătat menținerea calității vinurilor datorită faptului că parametrii analizați nu au înregistrat valori cu diferențe semnificative. Activitatea antimicrobiană a vinurilor în urma adaosului de DMDC a fost evidențiată prin faptul că acțiunea levurilor a fost inhibată ceea ce a dus la sterilizarea și protecția vinului studiat (Ough, 1975).

***Ough, (1988)** demonstrează că există o relație de sinergie între SO₂ și DMDC prin eficacitatea conservantului în lupta cu microorgansimele răspunzătoare de o serie de boli. La o inoculare de 400 levuri/mL vin cu *Saccharomyces cerevisiae*, adaosul de 50 mg/L DMDC și 25 mg/L SO₂ liber au fost suficienți pentru a oferi o bună protecție antimicrobiană unui vin alb, cu pH ≤ 3,6. În ceea ce privește *Saccharomyces cerevisiae* nu s-a putut obține un control eficient total doar prin administrarea de SO₂, dar odată cu adaosul de 75 mg/L DMDC au fost distruse levurile într-un procent de 100 %. Într-un alt experiment în care au fost inoculate 120 celule de *Oenococcus oeni* s-a demonstrat că o combinație între 50 mg/L DMDC și 25 mg/L SO₂ liber a stopat fermentația malolactică dintr-un vin roșu (Ough, 1988).

*Un studiu realizat de **Threlfall (2006)**, pune accentul pe acțiunea de condiționare și stabilizare a vinurilor prin administrarea dioxidului de sulf în varii concentrații (0, 10, 25 și 50 mg/L) și/sau dimetildicarbonat (0, 50, 100 și 200 mg/L) la diferite valori de pH (3,0, 3,2, 3,4, și 3,6) în sucuri și în vinuri demidulci. De asemenea, s-a urmărit acțiunea antimicrobiană a acestor tratamente, evaluate prin monitorizarea creșterii speciei *Saccharomyces Bayanus* și a fermentării la 20 °C după contaminarea excesivă (de la 500 până la 700 de unități formatoare de colonii/mL). Tratamentele cu cele mai mici cantități de conservanți care au împiedicat dezvoltarea levurilor și fermentația vizibilă la toate nivelurile de pH din suc au fost de 50 mg/L SO₂ + 100 mg/L DMDC, iar din vin au fost de 10 mg/L SO₂ + 50 mg/L DMDC. Cantitățile minime de SO₂ și DMDC au împiedicat fermentarea în suc și în vinul demidulce cu cantitate însemnată de microorganisme. În concluzie, se impune stabilizarea mustului infectat în prealabil cu levuri indigene cu ajutorul acestui conservant, aprobat pentru tratarea diferitelor tipuri de vin în conformitate cu reglementările naționale sau internaționale OIV. Chiar și la doze scăzute, DMDC este eficace împotriva microorganismelor tipice vinului, doza maximă admisă încadrându-se între 125 mg/L și 200 mg/L.

*Testarea pe vin roșu, stocat în cisterne de oțel inoxidabil (15.400 L), precum și vin roșu depozitat în butoaie de stejar (225 L) a urmărit evoluția vinului din punct de vedere microbiologic, inoculul inițial fiind de 500 UFC/mL, din speciile de drojdii *Schizosaccharomyces pombe*, *Dekkera bruxellensis*, *Saccharomyces cerevisiae* și *Pichia bresliermoyi*. S-au prelevat probe, câte 100 mL din fiecare recipient cu ajutorul unor pipete sterile, transferat mai apoi în baloane Schott. Pentru a testa efectele DMDC-ului, acesta a fost administrat în diverse concentrații, 200 mg/L în vinul din cisterne și 25 mg/L în vinul din butoaiele de lemn. Eșantioanele cu și fără DMDC adăugat au fost incubate, filtrate prin membrană și mai apoi supuse analizelor pentru a evidenția efectul DMDC-ului asupra levurilor și asupra stabilității vinurilor.

Pentru dozele neletale de DMDC, viabilitatea microorganismelor a scăzut în timpul primele 2–3 ore și apoi au rămas constante. Mai multe specii microbiene care alterează vinul au fost studiate în urma adăugării concentrațiilor tot mai mari de dimetildicarbonat. Concentrația care distruge celulele dintr-un vin roșu a fost considerată ca fiind concentrația minimă de inhibare. În vinurile roșii, cu 12 % alcool și pH 3,50, inactivarea era în strânsă legătură cu concentrația inițială a celulelor. Pentru un inocul inițial de 500 UFC/mL, din speciile de drojdii *Schizosaccharomyces pombe*, *Dekkera bruxellensis*, *Saccharomyces cerevisiae* și *Pichia bresliermoyi* adăugarea de DMDC a fost de 100 mg/L. Cele mai sensibile tulpini aparțin speciilor *Zygosaccharomyces bailii*, *Zygoascus hellenicus* în urma adăugării de 25 mg/L de DMDC. Pentru ratele de inoculare de aproximativ 10⁶ UFC/mL, doza maximă de DMDC autorizată legal, 200 mg/L nu a fost eficientă în raport cu speciile cele mai rezistente. Adăugarea de 100 mg/L de metabisulfid de potasiu, echivalent cu 1 mg/L de dioxid de sulf molecular, a mărit efectul de inactivare a 100 mg/L DMDC asupra populațiilor inițiale de drojdie de 10⁶ UFC/mL, dar nu a inactivat complet *Schizosaccharomyces pombe* și *Saccharomyces cerevisiae*. Acidul lactic și bacteriile acidului acetic nu au fost distruse în urma adăugării de 300 mg/L de

DMDC. Testele efectuate în vinuri înainte de îmbuteliere au arătat că, în majoritatea probelor, populațiile indigene de bacterii nu au fost afectate de 200 mg/L DMDC. Prin urmare, în practica vinicolă, DMDC este un agent de conservare eficient atunci când vinul este contaminat cu colonii mai mici de 500 UFC/mL (Costa ș.a., 2007).

*În anul 2018, **Vejarano**, susținea că levurile din genul non-*Saccharomyces cerevisiae* devin importante deoarece majoritatea sunt considerate specii de alterare în procesele de vinificare, printre care se numără și specia *Saccharomycodes ludwigii*. Această specie este adesea izolată la sfârșitul procesului de fermentare și/sau în timpul depozitării vinului, adică poate crește în prezența unor concentrații ridicate de etanol. În plus, această specie are capacitatea de adaptabilitate la condiții nefavorabile, cum ar fi concentrațiile ridicate de SO₂ și se caracterizează prin puterea de a produce cantități mari de metaboliți nedorți ca acetoina, acetat de etil sau acid acetic. În prezent, tratamentele fizice, iradiere cu gamma și câmpuri electrice pulsatorii continue, chimice (compuși inhibitori cum ar fi chitosan și dimetildicarbonat) și biologice (controlul biologic antagonist al levurilor killer) sunt utilizate cu precădere pentru a controla creșterea acestei levuri de alterare în vinuri și alți derivați din fructe. Prin urmare, prezentul studiu se concentrează asupra celor mai relevante metode pentru a controla contaminarea cu *Saccharomycodes ludwigii*. În plus, se ia în calcul studiul potențialelor aplicații ale levurilor în tehnicile alternative de vinificare, în ceea ce privește învechirea și stabilizarea vinurilor roșii, precum și îmbunătățirea profilului de aromă al acestora.

DMDC poate fi utilizat pentru a preveni dezvoltarea și multiplicarea acestei specii în vinuri, precum și pentru a opri fermentarea alcoolică în producția de vinuri dulci sau pentru a dezinfecta musturile prin îndepărtarea florei indigene prezente. În ceea ce privește efectul specific de protecție antimicrobiană asupra *Zygosaccharomyces bailii*, *Saccharomycodes ludwigii* și *Lachancea thermotolerans* se observă că acestea fiind sensibile la DMDC pot fi inactivate în urma administrării acestui tratament. Distrugerea celulelor (populația inițială de 10⁶ UFC/mL) s-a obținut prin tratarea cu o doză de 100-200 mg/L de DMDC, vinul roșu având 12 % etanol și pH 3,5, dar în cazul *Schizosaccharomyces pombe* și *Saccharomyces cerevisiae*, speciile pot supraviețui în prezența unor concentrații mai mari de DMDC (concentrația minimă de inhibare ≥ 300 mg/L) (Vejarano, 2018).

Aceste cercetări au avut în vedere principalele tehnici care pot fi utilizate pentru conservarea vinului, ca alternativă de reducere a concentrației de dioxid de sulf. În urma rezultatelor promițătoare, efectele care vizează protecția vinului în urma utilizării acestor metode și numărul de studii cu diversele aplicații industriale sunt încă limitate fiind necesare studii suplimentare pentru a obține rezultatele pentru o depozitare pe termen mai lung și în diverse condiții de procesare și condiționare, sau pentru a utiliza diverse combinații între alternativele existente.

PARTEA A II-A - CONTRIBUȚII PROPRII

PART II - PERSONAL CONTRIBUTIONS

5. DESCRIEREA CADRULUI NATURAL, ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL AL CERCETĂRII

5. DESCRIPTION OF THE NATURAL, ORGANIZATIONAL AND INSTITUTIONAL FRAMEWORK OF RESEARCH

5.1.Descrierea cadrului natural destinat cercetărilor experimentale

În anii precedenți, Podgoria Iași nu se remarcă prin producerea de vinuri la fel de cunoscute ca cele din Nicorești, Odobești, Huși sau Cotnari., însă, cu timpul, în urma investițiilor și în urma muncii depuse pentru a îmbunătăți calitatea lor, interesul consumatorilor s-a îndreptat spre a alege astfel de vinuri, contribuind astfel la creșterea prestigiului podgoriei (Cotea, 2003).

Situată în nord-estul Podișului Moldovei, în zona de contact a Câmpiei Colinare a Moldovei cu Podișul Central Moldovenesc, podgoria Iași cuprinde următoarele centre viticole: Cormana, Probotă, Uricani, Bucium-Tomești și Copou. Aceste centre viticole sunt cunoscute pentru producerea vinurilor albe de calitate, exceptând centrul viticol Uricani, care este remarcat pentru obținerea vinurilor roșii precum: Feteasca neagră, Cabernet Sauvignon, Băbească neagră, Merlot și Pinot noir. Centrul viticol Iași-Copou este cunoscut în special și datorită faptului că produce vinuri albe de calitate superioară, cu arome specifice soiurilor din care provin și pline de voiciune. Cel mai cunoscut și cultivat soi de vin alb este Feteasca albă, urmat de Riesling italian, Aligoté, Fetească regală, Sauvignon blanc, dar și de Pinot gris (Cotea., ș.a, 2003).

În ceea ce privește substratul litologic acesta este recunoscut ca fiind reprezentat de argile și marne, nisipuri, gresii calcaroase, conglomerate și pietrișuri (Cotea, ș.a., 2000; Rotaru ș.a., 2009).

Relieful zonei viticole este dispus în două subunități geomorfologice din Podișul Moldovei (Câmpia Moldovei, segmentul sud-estic și Podișul Central Moldovenesc, segmentul nord-estic). Plaiul viticol este reprezentat de platouri largi și ușor înclinate (zona Breazu cu altitudini de 220 m) și dealuri fragmentate de văi.

Hidrografia este recunoscută ca fiind deficitară datorită volumului și calității apelor de suprafață și subterane reduse. Totuși, podgoria Iași dispune de resurse hidrice suficiente pentru întreținerea și susținerea plantațiilor viticole datorită râurilor (Bahlui, Prut), pâraielor, lacurilor și apelor freatice cu mineralizare ridicată de la nivelele superioare ale reliefului, bineînțeles dacă sunt exploatate corespunzător.

Vegetația se evidențiază prin zonele cu stepă reprezentate de păiuș, firuța, bărboasa, pirul crestat, etc., regăsite pe formele joase ale Bahluiului și Prutului și silvostepă reprezentată de foioasele de fag, arțar, morun, tei, frasin și diverși arbuști. Solurile reprezentative acestei zone sunt cele cenușii, antropice și cernoziomurile

importante fiind datorită complexității proprietăților lor participând totodată la calitatea produselor din Podgoria Iași.

Climatul este de tipul temperat continental cu nuanțe excesive, exprimate prin veri secetoase și ierni geroase, cu umiditate redusă (Cotea ș.a., 2005).

Majoritatea componentelor cadrului natural participă în favoarea dezvoltării și menținerii acestei podgorii, cu ajutorul specialiștilor în domeniu care contracarează neajunsurile în vederea extinderii plantațiilor vinicole.

5.2. Descrierea cadrului organizatoric și instituțional al cercetării

5.2.1. Descrierea Centrului de Cercetări pentru Oenologie Iași-Copou și a Laboratorului de Oenologie al Universității pentru Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad „ din Iași

Scopul înființării Centrului de Cercetări pentru Oenologie a reprezentat constituirea unor condiții optime, corespunzătoare, conforme cu normativele în vigoare în ceea ce privește desfășurarea diverselor activități științifice, care să îndeplinească nivelul exigențelor impuse de evoluția continuă și cercetările moderne din domeniu.

Centrul a avut ca obiectiv principal, încă de la înființare, cunoașterea amănunțită a tuturor caracteristicilor vinurilor din România în vederea schimbărilor datorate condițiilor de producere a acestora dar și a climei. De la început, activitatea științifică și didactică a fost realizată de o echipă de cercetători cu o vastă experiență în domeniul chimiei, fizicii, viticulturii și oenologiei (Academia Română – Filiala Iași, 2012).

Primul și unicul laborator din România care posedă aparatură modernă și emite buletine de analiză pentru vinuri este Laboratorul de Oenologie Iași (Figura 5.1.) din cadrul Fermei Adamachi. De asemenea, în cadrul laboratorului se efectuează o serie de determinări fizico-chimice pentru diverse vinuri dar și pentru alte băuturi alcoolice sau non-alcoolice studiate în cadrul disciplinelor de specialitate. Acesta își desfășoară activitatea în colaborare cu Centrul de Cercetări pentru Oenologie al Academiei Române – Filiala Iași. Membrii Centrului de Cercetare își desfășoară activitatea cu profesionalism, seriozitate și devotament, constituind modele demne de urmat pentru tinerii care doresc să își formeze o carieră în domeniul oenologiei sau care doresc să lucreze în cercetare. În prezent, în cadrul Laboratorului de Oenologie se realizează activitatea didactică a Facultății de Agricultură, Horticultură și Ingineria resurselor animale și alimentare. Activitatea de cercetare vizează principalele direcții: tehnologiile de producere a vinurilor albe, roșii, rosé; analiza caracteristicilor vinurilor românești dar și cele internaționale; aplicarea și testarea diverselor tehnici de stabilizare și condiționare a vinurilor; potențialului oenologic al soiurilor din producția universității dar și din alte podgorii; controlul calității vinului și emiterea de noi metode de îmbunătățire a calității produselor viti-vinicole; elaborarea unor metode fizice și chimice de recunoaștere a acizilor din soiuri autohtone, a compușilor volatili din struguri; evaluarea concentrațiilor de micotoxine, metale grele sau pesticide; studii microbiologice în colaborare cu laboratorul de Microbiologie al universității și în același timp tehnici de identificare a fraudelor.

Experimentele realizate pentru îndeplinirea criteriilor din stagiul de doctorat au fost realizate pe parcursul celor trei ani de studiu, respectiv anii 2018-2021, cercetările desfășurându-se în cadrul stației micro pilot a Laboratorului de Oenologie al facultății de Horticultură, din cadrul USV Iași. Stația experimentală deține și o cramă dotată cu utilaje și echipamente moderne folosite de cadrele didactice și de specialiștii în Oenologie care inițiază, studenții, masteranzii, doctoranzii să contribuie și să creeze probele experimentale pentru licențe, disertații, teze de doctorat, care până acum au dovedit un real succes în urma eforturilor depuse. Pe lângă acestea, unitatea deține și o bibliotecă cu numeroase titluri de specialitate, spații de depozitare, păstrare, condiționare și învechire a probelor.



Figura 5.1. Laboratorul de Oenologie al Universității pentru Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași (original)

Figure 5.1. Oenology Laboratory of the University of Life Sciences "Ion Ionescu de la Brad" from Iasi

Dotările laboratorului de Oenologie (figura 5.1) cuprind aparatură modernă: aparatură pentru determinarea analizelor fizico-chimice (densitatea, conținutul de zaharuri, dioxidul de sulf, aciditatea volatilă, concentrația alcoolică etc.); spectrofotometru UV-VIS prin intermediul căruia se determină parametrii de culoare, indicele de polifenoli totali, indicele Folin-Ciocalteu, capacitatea antioxidantă și spectrofotometru de absorbție mecanică; cromatograf pentru lichide de înaltă performanță; aparatură electrochimică pentru determinarea potențialului redox și a pH-ului, diverse aparate pentru determinarea acizilor din vinuri, ale compuşilor de aromă, volatili și fenolici.

5.2.2. Descrierea Laboratorului de Microbiologie din cadrul Universității pentru Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași

Laboratorul de Microbiologie (figura 5.2) este situat în incinta U.S.V. Iași, cercetarea fiind realizată de cadre didactice care au expertiză în microbiologia generală și

specială alimentară, acest fapt fiind demonstrat prin publicarea de articole științifice în domeniile de microbiologie alimentară, a solului etc.



Figura 5.2 Laboratorul de Microbiologie al Universității pentru Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași (original)

Figure 5.2 Microbiology Laboratory of the University of Life Sciences "Ion Ionescu de la Brad" from Iasi

Pe lângă cercetare, cadrele didactice au rolul de a transmite studenților diversele cunoștințe și tehnici de lucru din vastul domeniu al microbiologiei astfel încât aceștia să poată caracteriza principalele grupe de microorganisme (bacterii, protozoare, levuri, mușegaiuri) și rolul acestora în circuitul materiei în natură, în fertilitatea solului și producția vegetală și în industria alimentară. În timpul orelor de lucrări practice se urmărește deprinderea studenților cu tehnica de lucru specifică laboratoarelor de microbiologie, în special modul de lucru cu aparatura și ustensilele de laborator, metodele de sterilizare, caracteristicile mediilor de cultură utilizate (GPCA, MEA, PDA etc), metodele de însămânțare (în plăci Petri, în gazon, etc.), tehnicile de colorare (ex. colorația Gram), izolarea și identificarea principalelor genuri de microorganisme din diverse medii de viață, măsurători microscopice, etc.

Laboratorul este dotat cu echipamente moderne, de înaltă performanță dintre care enumerăm: preparator automat de medii de cultură și dozator automat, hote cu flux laminar, autoclav, incubatoare pentru microorganisme aerobe și anaerobe, microscopie Leica DM1000 și DM500, lămpi cu ultraviolete, agitatoare magnetice, frigider de laborator Sanyo, distilator Fystreem Cyclon, pH-metrul de laborator, balanță analitică digitală, centrifugă Hetich, pipete automate, numărătoare de colonii automată Gerber.

6. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII, MATERIALELE ȘI METODOLOGIA DE CERCETARE

6.RESEARCH PURPOSE AND OBJECTIVES RESEARCH, MATERIALS AND METHODOLOGY

6.1.Scopul și obiectivele cercetării

În ultimii ani, diversele cercetări au confirmat rolul utilizării SO₂ în vinificație dar, cu toate acestea, efectele sale sunt încă intens studiate datorită tendințelor moderne ale consumatorilor. Aceștia înclină spre a alege vinuri cu conținut redus de dioxid de sulf, mai ales persoanele sensibile la consumul de produse alimentare ce au în compoziția lor diverși aditivi și conservanți care odată ingerați, pot provoca disfuncționalități la nivelul organismelor umane (Lisanti, 2014, Lisanti 2019).

Ținând cont de noile tendințe ale vinificației și de orientările moderne ale consumatorilor, studiul realizat are ca **scop** optimizarea tehnologiilor de obținere a vinurilor cu conținut redus de SO₂ prin substituirea sau reducerea concentrației acestuia cu alte tratamente sau substanțe care pot manifesta acțiune antiseptică, antioxidantă și antioxidizică, de asemenea și tratamente care ajută la stabilizarea și condiționarea din punct de vedere microbiologic a vinurilor.

Principalele **obiective** care răspund scopului menționat, au în vedere:

- ✓ elaborarea protocolului experimental și obținerea probelor de vin;
- ✓ optimizarea protocolului microbiologic pentru obținerea concentrațiilor optime de levuri necesare inoculării în probele de vin obținute;
- ✓ studiul influenței utilizării dimetildicarbonatului în tehnologia de producere a vinurilor prin monitorizarea eficacității antimicrobiene;
- ✓ studiul influenței dimetildicarbonatului și dioxidului de sulf asupra parametrilor fizico-chimici ai probelor de vin;
- ✓ analiza parametrilor cromatici prin metoda CIELab76 la vinurile obținute;
- ✓ studiul conținutului de compuși volatili din probele de vin analizate prin cromatografie gazoasă;
- ✓ evaluarea profilului senzorial la probele de vin obținute în urma studiului prin analiză organoleptică;
- ✓ formularea ipotezelor statistice privind influența tratamentelor aplicate asupra probelor rezultate și interpretarea acestora.

Studiul s-a focusat pe testarea eficienței dimetildicarbonatului asupra inhibării microorganismelor prezente în compoziția vinurilor și identificarea eventualelor modificări apărute în urma aplicării acestui tratament concomitent cu reducerea concentrației de dioxid de sulf. Cercetarea are un impact major în ceea ce privește evoluția calității vinurilor tratate, contribuind la consolidarea și la îmbogățirea studiilor care vizează această abordare a utilizării tratamentelor menționate, fie tratamentele folosite individual sau combinate, acțiunea sinergică accentuând aspectele pozitive prin inhibarea microbiană.

Cercetările s-au desfășurat pe parcursul celor trei ani de doctorat, monitorizând evoluția parametrilor studiați (parametri fizico-chimici, cromatici, compuși volatili, microbiologici și senzoriali).

6.2. Descrierea soiurilor folosite pentru obținerea probelor experimentale

Pentru realizarea primului experiment s-au prelucrat două soiuri apreciate și cunoscute de consumatori, Muscat Ottonel și Fetească Regală (figura 6.1.) recoltate din plantațiile universității, obținându-se un cupaj utilizat în scopul obținerii probelor experimentale.

Muscat Ottonel. Acest soi este cunoscut ca având și alte denumiri, cum ar fi: Ottonel, Tămâioasă Ottonel în România, Muscats în Italia și Muscatos în Portugalia. Cel care a obținut acest soi în anul 1852 a fost Robert Moreau, dintr-un amestec de semințe provenit din fecundări libere. Cu toate acestea, în anul 1990, Galet P. consideră că acest soi este rezultatul hibridării dintre soiurile Chasselas doré și Muscat de Saumur (Oprea ș.a., 2003; Dobrei ș.a., 2017). Soiul cules la maturitate deplină are capacitatea de a acumula cantități însemnate de zaharuri, cuprinse între 190-210 g/L, iar la supramaturare poate atinge un conținut care variază între 250-270 g/L. Aroma tipică de muscat este inconfundabilă, vinul obținut din acest soi având caracteristici senzoriale deosebite, elegante, fine, care supuse învechirii de scurtă durată pot forma un buchet complex, delicat. Culoarea vinurilor manifestă o variabilitate, de la galben, galben-verzui la vinurile tinere spre galben-pai la vinurile învechite (Mihalca ș.a., 2004; Damian ș.a., 2011). Cunoscut fiind și datorită conținutului ridicat în substanțe aromate, dar și datorită acidității reduse 2,2 – 5 g/L acid tartric, soiul Muscat Ottonel se utilizează cu precădere în cupajări (Zgăhăreanu de Huși sau Riesling Italian) (Cotea ș.a., 2005).

Vinul rezultat din prelucrarea soiului Muscat Ottonel este fin, generos, cu un finisaj de lungă durată și foarte aromat.

Fetească regală. Soiul este recunoscut în România și sub denumirea de *Galbenă de Ardeal sau Dăneșană*, fiind rezultatul unei hibridări naturale între Fetească albă și Grasă de Cotnari (Dobrei ș.a., 2005). Pepineristul Gaspari a fost cel care a înmulțit acest soi după anul 1920, în localitatea Daneș, podgoria Târnave, atribuindu-i denumirea de “*Dunnesdörfer Königsast*”. În anul 1928, vinul rezultat în urma aplicării tehnologiei de vinificație a fost prezentat la o expoziție horticola de la București, unde a primit denumirea consacrată de Fetească regală. Soiul a fost extins în toată țara fiind cultivat pe suprafețe mari și manifestând versabilitate s-a adaptat ușor la diferitele condiții de mediu (Pușcă, 2006; Rotaru, 2009).

Are capacitatea de a acumula zaharuri într-o concentrație de la 175-180 g/L până la 210 g/L, capacitatea sa de supramaturare fiind mult mai redusă datorită acumulărilor reduse în zaharuri. Aciditatea totală a mustului poate varia între 4,5-7 g/L H_2SO_4 , imprimând vinului final voiciunea și savoarea caracteristică soiului (Dobrei ș.a., 2017; Moroșanu, 2018).

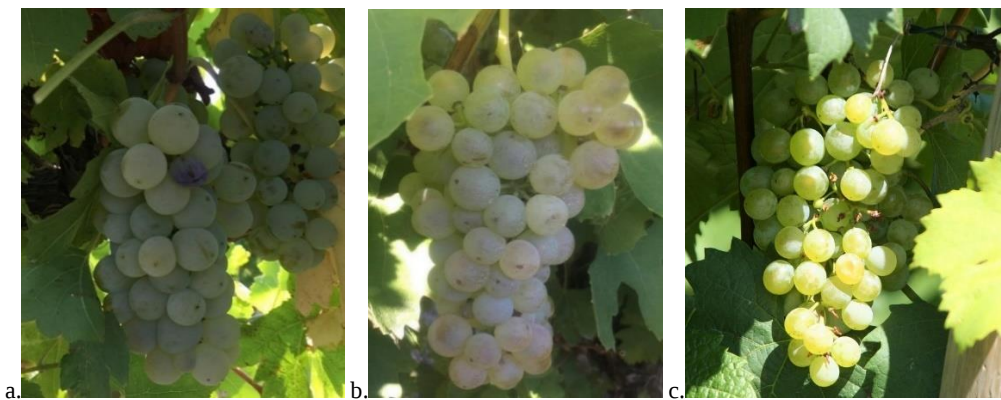


Figura 6.1. Soiul Muscat Ottonel (a), Fetească regală (b), Grüner Veltliner (c)

Figura 6.1. Muscat Ottonel variety (a), Fetească regală variety (b), Grüner Veltliner variety (c)

Feteasca regală se încadrează în categoria soiurilor semiaromate, vinul tânăr fiind remarcat printr-o aromă elegantă, florală (flori de câmp) și fructate (caise, piersici). Vinurile tinere în special au gustul bine conturat, acrișor dar totodată fin, fiind evidențiate prospețimea și fructuozitatea. În funcție de tehnologia și tratamentele aplicate, culoarea vinurilor prezintă o variație de la alb-verzui spre gălbui, iar pe parcursul maturării galben-pai sau chiar galben-auriu. În anii cu anumite condiții climatice, nefavorabile, se obțin vinuri de masă, dar, de obicei vinurile rezultate în urma prelucrării acestui soi sunt de calitate, folosite chiar și la obținerea vinurilor materie primă pentru spumante sau distilate învechite din vin (Pușcă, 2006; Stroe, 2012).

Feteasca regală este un vin alb foarte apreciat pentru textura sa echilibrată, cu o aromă relativ puternică și un final proaspăt și atractiv.

Grüner Veltliner este soiul emblematic al Austriei, plantat pe o suprafață de cel puțin o treime din podgoriile țării. Zonele în care soiul este găsit cu precădere sunt situate în regiunea statului Niederösterreich, de asemenea, foarte răspândit și în nordul Burgenland sau în jurul Vienei. În Weinviertel, cea mai mare zonă viticolă din Austria, soiul Grüner Veltliner a fost ridicat de la statutul de soi de strugure pentru vin care prezintă tipicitate regională la cel de vin de calitate superioară, cu denumire de origine DAC. Districtus Austriae Controllatus (DAC) este noua denumire de origine a vinului, concept de marketing austriac de "comercializare a originii". Vinul care reflectă tipicitatea regională cel mai mult, prin urmare, este Grüner Veltliner sec, cu aromă de piper, care este comercializat sub denumirea dată de clasificarea "Weinviertel DAC".

Gama de vinuri obținută în urma prelucrării acestui soi este remarcabilă. Nu numai că poate fi produs ca un vin fresh, vioi și plăcut, ci se pot obține și vinuri corpolute, cu un potențial ridicat de învechire; ca și Rieslingul, Grüner Veltliner poate reflecta perfect terroir-ul în sticlă.

Vinurile obținute din soiul Grüner Veltliner își exprimă caracteristicile în funcție de solurile în care este cultivat; corpulent din loess; delicat, condimentat și cu tonuri minerale din rocă iar de pe solurile argiloase, prezintă un caracter robust.

6.3. Protocolul experimental de obținere al vinurilor cu conținut redus de dioxid de sulf

În cadrul studiului au fost efectuate și monitorizate două experimente, primul experiment desfășurat în anul 2018 iar al II-lea în anul 2020. Au fost optimizate două tehnologii pentru a îndeplini scopul lucrării, de a reduce sau de a substitui concentrația dioxidului de sulf prin administrarea altor conservanți, cum ar fi dimetildicarbonatul.

Protocolul pentru obținerea vinurilor cu un conținut redus de dioxid de sulf pentru experimentul I este reprezentat în figura 6.2 și cuprinde o serie de etape importante: recoltarea și transportul materiei prime, recepția cantitativă și calitativă, zdrobirea și desciorchinarea strugurilor, separarea mustului ravac, presarea, asamblarea, limpezirea mustului și separarea burbei, fermentația alcoolică, inocularea levurilor pentru a testa efectul substanțelor antiseptice, administrarea tratamentelor cu dioxid de sulf și dimetildicarbonat la îmbuteliere și etichetarea. De asemenea, administrarea acestor tratamente de stabilizare și condiționare are un aport considerabil în vinificație obținându-se astfel vinuri de calitate.

Variantele experimentale (V1-V45) au fost obținute utilizând metoda clasică de producere a vinurilor albe (tabelul 6.1). Strugurii materie primă din soiurile Muscat Ottonel și Fetească regală au fost recoltați manual, în toamna anului 2018 și prelucrați conform tehnologiei de vinificație pentru vinurile albe, proces desfășurat în cadrul cramei din incinta Fermei Adamachi a U.S.V. Iași.

A fost realizată recepția cantitativă și calitativă a materiei prime. S-a prelucrat o cantitate totală de 1900 kg de struguri care a fost procesată prin zdrobire și desciorchinare, cu ajutorul zdrobitorului-desciorchinător. Procedul de presare a fost realizat prin intermediul unei prese hidraulice, iar sucule de struguri rezultat a fost colectat într-un rezervor din oțel inoxidabil pentru a fi deburbat. Concentrația de zaharuri a mustului de struguri a fost de 264 g/L zaharuri și aciditatea de 5,72 g/L acid tartric. Pentru fermentare s-au utilizat activatori de fermentație, un preparat enzimatic lichid, Endozym® Ice, utilizat în concentrații de 4 mL/hL must pentru a maximiza extracția aromelor varietale și pentru a ajuta la limpezirea musturilor obținute prin contactul cu pielea strugurilor.

Operația de microfiltrare s-a realizat prin intermediul unor filtre sterile cu porozitatea de 0,2 μm. Vinul experimental a îndeplinit condițiile menționate în protocolul de lucru - minim 22 g/L zaharuri, divizat în trei părți egale cantitativ, sulfitat cu soluție lichidă de SO₂ 6 %, astfel: 40 mg/L SO₂ (V1-V15), 80 mg/L SO₂ (V16-V30) și 160 mg/L SO₂ (V31-V45).

Următoarea etapă a constat în inocularea levurilor din genul *Schizosaccharomyces*, specia *Schizosaccharomyces pombe* și *Brettanomyces*, specia *Brettanomyces bruxellensis* în diferite concentrații (30 UFC/mL și 100 UFC/mL vin). Aceste specii de levuri sunt cunoscute în vinificație ca fiind problematice (Agnolluci ș.a., 2010; Cibrario ș.a., 2019), astfel că inocularea acestora s-a realizat în scop experimental pentru a testa eficacitatea dicarbonatului de dimetil, în principal, acțiunea sa de inhibare asupra activității și dezvoltării microorganismelor.

Amestecul rezultat a fost introdus în butelii de sticlă de 750 mL, tratat cu dimetildicarbonat, supus unei agitări energice timp de 2 minute pentru omogenizarea corespunzătoare a produsului administrat, după care îmbuteliat. Tratamentul a fost utilizat în scopul reducerii cantității de dioxid de sulf și pentru rolul său de a inhiba activitatea levurilor din vin care conduc la formarea unor compuși chimici nedorți în vinificația modernă. S-au administrat cantități diferite de produs în timpul etapei de îmbuteliere, respectiv cantități de 100 și 200 mg/L în conformitate cu protocolul experimental stabilit.

Buteliile de vin au fost etichetate (tabelul 6.1) și depozitate la o temperatură de 9 °C și umiditate controlată, în spații igienice, până la efectuarea analizelor fizico-chimice uzuale, spectrofotometrice (parametri de culoare), cromatografice (compuși volatili), microbiologice (identificarea și cuantificarea microorganismelor) și nu în ultimul rând, evaluării senzoriale.

Pentru realizarea probelor aferente experimentului II (tabelul 6.2, P1-P45), a fost utilizat un vin alb, din soiul Grüner Veltliner, cu o concentrație alcoolică de 11,5 % vol. alc., densitatea de 0,9933, pH-ul 3,1, zaharuri 6 g/L, dioxid de sulf liber < 5g/L și dioxid de sulf total < 10g/L. Astfel, vinul a fost ajustat până la concentrațiile optime de dioxid de sulf, 20, 40, 80 mg/L, respectiv 0, 100, 200 mg/L DMDC, zaharuri 20 g/L, dar și cu adaos de levuri 0, 30/100 UFC/mL vin pentru a îndeplini cerințele din protocolul experimental.

Protocolul aplicat pentru obținerea probelor este reprezentat în figura 6.4. respectându-se toate etapele de vinificație menționate, dar comparativ cu experimentul anterior au variat concentrațiile de dioxid de sulf, speciile levuriene *Saccharomyces cerevisiae* și *Brettanomyces bruxellensis* și recipientele utilizate pentru îmbutelierea probelor P1-P45 (polietilen tereftalat de 500 mL).

Legenda vinurilor obținute în cadrul celor două experimente este reprezentată în figura 6.3. (exemplu: Z-40-0-0, Z- reprezintă proba martor fără inocul de levuri, 40-doza de SO₂ administrată, 0-inoculul de levuri (0-fără inocul, 30 UFC/mL și 100 UFC/mL), și 0-doza de DMDC administrată (0, 100, 200 mg/L).

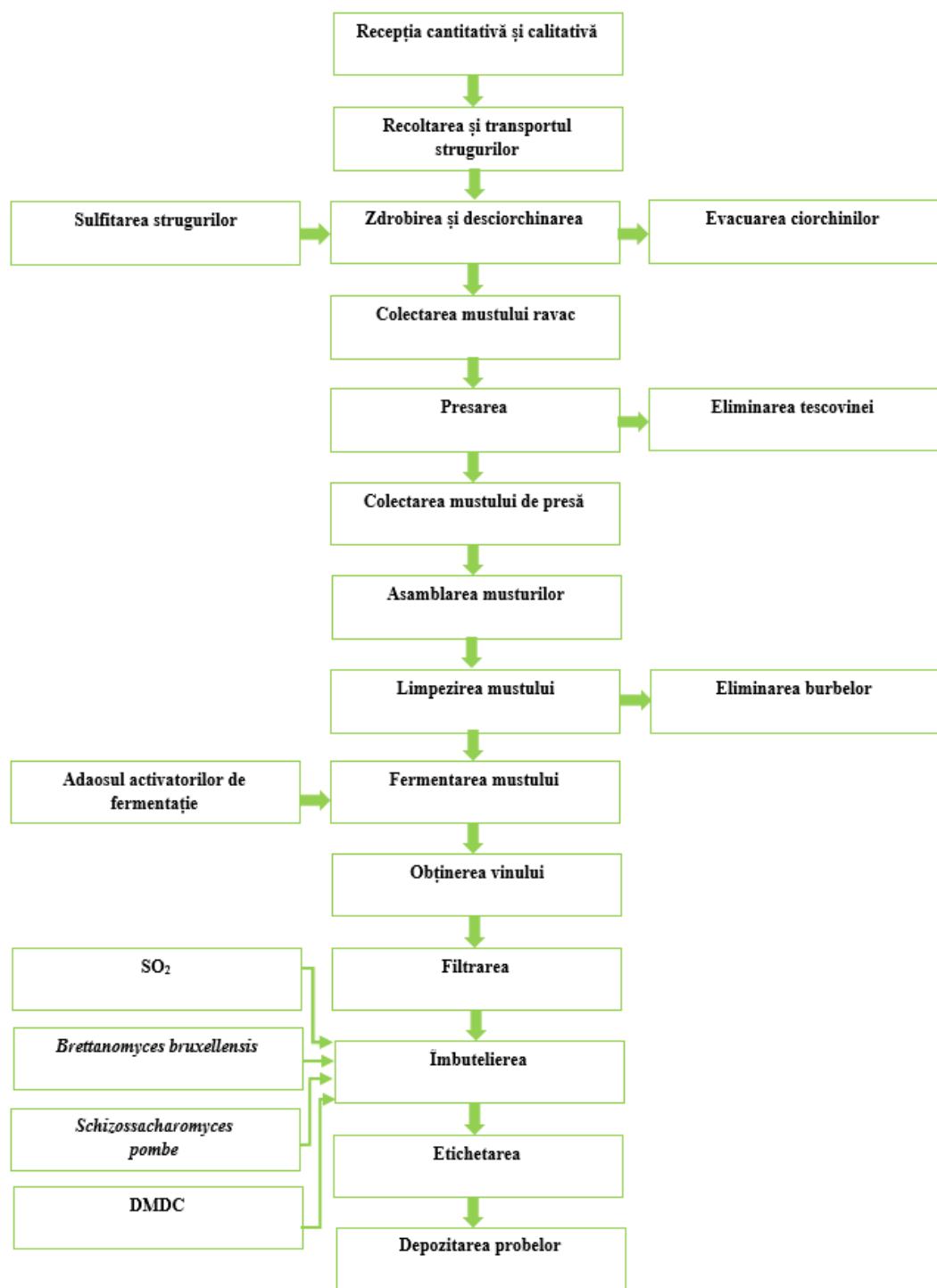


Figura 6.2. Protocolul experimental pentru obținerea vinurilor albe cu conținut redus de SO₂

Figure 6.2. The experimental protocol to produce low SO₂ white wines

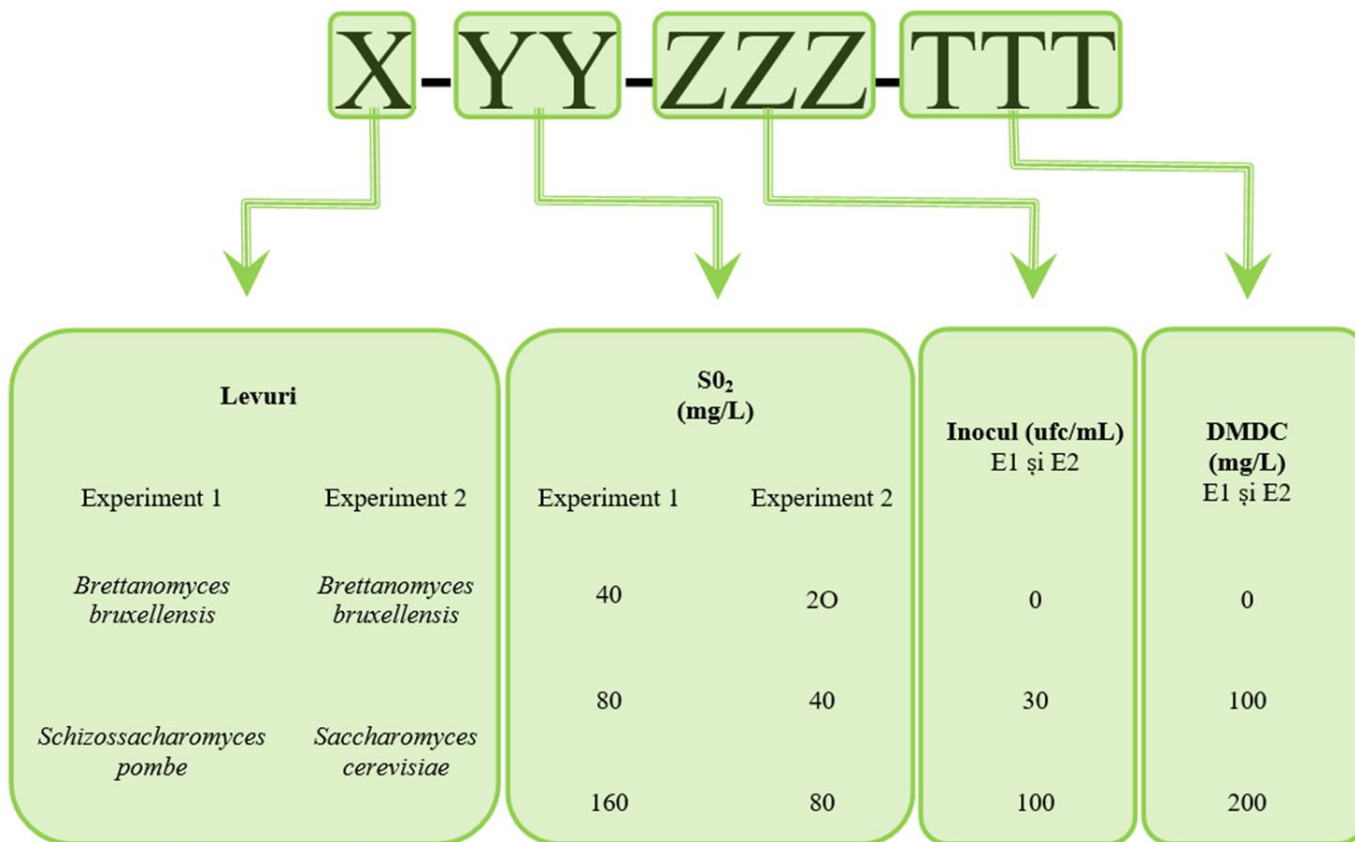


Figura 6.3. Legenda probelor experimentale
Figure 6.3. The legend of the experimental samples

Tabelul 6.1/Table 6.1

Variantele obținute în cadrul experimentului I
Samples obtained for experiment I

V 1. Z-40-0-0	V 16. Z-80-0-0	V 31. Z-160-0-0
V 2. Z-40-0-100	V 17. Z-80-0-100	V 32. Z-160-0-100
V 3. Z-40-0-200	V 18. Z-80-0-200	V 33. Z-160-0-200
V 4. B-40-30-0	V 19. B-80-30-0	V 34. B-160-30-0
V 5. B-40-30-100	V 20. B-80-30-100	V 35. B-160-30-100
V 6. B-40-30-200	V 21. B-80-30-200	V 36. B-160-30-200
V 7. B-40-100-0	V 22. B-80-100-0	V 37. B-160-100-0
V 8. B-40-100-100	V 23. B-80-100-100	V 38. B-160-100-100
V 9. B-40-100-200	V 24. B-80-100-200	V 39. B-160-100-200
V 10. S-40-30-0	V 25. S-80-30-0	V 40. S-160-30-0
V 11. S-40-30-100	V 26. S-80-30-100	V 41. S-160-30-100
V 12. S-40-30-200	V 27. S-80-30-200	V 42. S-160-30-200
V 13. S-40-100-0	V 28. S.80-100-0	V 43. S-160-100-0
V 14. S-40-100-100	V 29. S-80-100-100	V 44. S-160-100-100
V 15. S-40-100-200	V 30. S-80-100-200	V 45. S-160-100-200

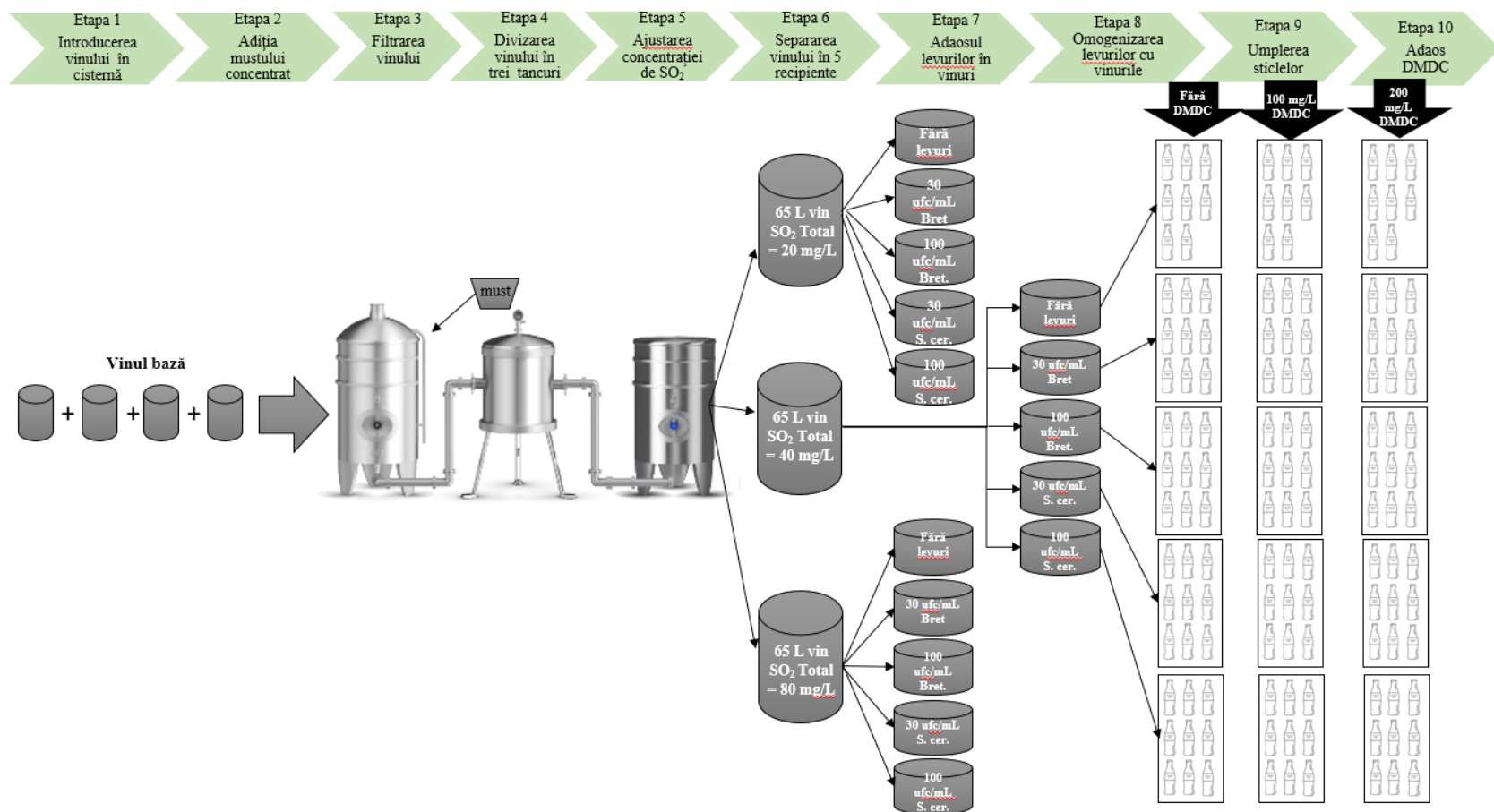


Figura 6.4. Protocolul experimental pentru obținerea probelor aferente experimentului II
Figure 6.4. Protocol for experiment II samples

Tabel 6.2/Table 6.2

Probele obținute în cadrul experimentului II
Samples obtained for experiment II

P 1. Z-20-0-0	P 16. Z-40-0-0	P 31. Z-80-0-0
P 2. Z-20-0-100	P 17. Z-40-0-100	P 32. Z-80-0-100
P 3. Z-20-0-200	P 18. Z-40-0-200	P 33. Z-80-0-200
P 4. B-20-30-0	P 19. B-40-30-0	P 34. B-80-30-0
P 5. B-20-30-100	P 20. B-40-30-100	P 35. B-80-30-100
P 6. B-20-30-200	P 21. B-40-30-200	P 36. B-80-30-200
P 7. B-20-100-0	P 22. B-40-100-0	P 37. B-80-100-0
P 8. B-20-100-100	P 23. B-40-100-100	P 38. B-80-100-100
P 9. B-20-100-200	P 24. B-40-100-200	P 39. B-80-100-200
P 10. S-20-30-0	P 25. S-40-30-0	P 40. S-80-30-0
P 11. S-20-30-100	P 26. S-40-30-100	P 41. S-80-30-100
P 12. S-20-30-200	P 27. S-40-30-200	P 42. S-80-30-200
P 13. S-20-100-0	P 28. S-40-100-0	P 43. S-80-100-0
P 14. S-20-100-100	P 29. S-40-100-100	P 44. S-80-100-100
P 15. S-20-100-200	P 30. S-40-100-200	P 45. S-80-100-200

6.4. Descrierea metodelor de analiză utilizate

În vederea realizării obiectivelor propuse s-au analizat vinuri albe din Podgoria Iași, obținute din soiurile Muscat Ottonel și Fetească regală cu diverse tratamente de stabilizare și condiționare (dioxid de sulf și dimetildicarbonat).

Metodele de analiză aplicate sunt specifice cercetării eficienței în domeniul tehnologiei de prelucrare a produselor horticole. Analiza caracteristicilor de compoziție a probelor de vinuri experimentale s-a efectuat în perioada 2018-2021 în cadrul Laboratorului de Oenologie al Facultății de Horticultură a Universității pentru Științele Vieții “Ion Ionescu de la Brad” din Iași urmărind parametri fizico-chimici, parametri cromatici, compuși volatili și senzoriali, conform normativelor în vigoare, (OIV, 2020) și interpretare statistică prin intermediul softului SPSS Statistics versiunea 22 de la IBM.

În ceea ce privește *analizele microbiologice*, acestea s-au desfășurat în cadrul laboratorului de microbiologie al USV Iași, respectând conduita de lucru și protocolul experimental propus. Din punct de vedere microbiologic, levurile au fost pregătite în urma respectării etapelor din protocolul de lucru. Odată finalizate diluțiile necesare, au fost realizate infecțiile în vin cu concentrația optimă de UFC/mL, astfel încât să se respecte planul experimental.

6.4.1. Determinarea caracteristicilor fizico-chimice ale probelor experimentale

Au fost monitorizați parametri precum: pH-ul, densitatea, concentrația alcoolică, aciditatea totală, aciditatea volatilă, zaharurile și dioxidul de sulf. Determinările au fost efectuate în triplicat și comparate în perioade diferite având ca scop urmărirea evoluției vinurilor în funcție de tratamentele aplicate.

Pentru determinarea acestor parametri vinurile au fost supuse decarbonatării cu scopul eliminării dioxidului de carbon și pentru eliminarea eventualelor erori de analiză. Temperatura optimă pentru realizarea determinărilor de laborator este de 20 °C, în caz contrar sunt necesare corecții de temperatură care se obțin pe baza unor formule sau cu ajutorul unor tabele de referință.

Pentru a determina pH-ul unui vin este necesară măsurarea diferenței de potențial între doi electrozi, din care unul trebuie imersat în proba supusă analizei. Astfel, unul dintre electrozi care poartă denumirea de electrod indicator, indică potențialul dependent de nivelul pH-ului probei, iar cel de-al doilea, numit și electrod de referință, indică potențialul fix.

Determinarea *densității relative* s-a realizat prin metoda areometrică, cu ajutorul unui densimetru cu o precizie de 0,0003 g/cm³. Proba supusă analizei a fost transvazată într-un cilindru gradat, curat și uscat după care densimetrul a fost introdus în recipient. Citirea densității și a temperaturii la care s-a efectuat analiza se face pe tija densimetrului, la nivelul meniscului. Caracteristicile areometrelor prezintă dimensiuni și gradații în concordanță cu prescripțiile stabilite în regulamentul nr 1108/82 al C.E.E.

Determinarea *acidității titrabile* s-a efectuat conform metodelor OIV (OIV-MA-AS313-01), prin metoda potențiometrică, titrându-se proba de vin cu o soluție de NaOH

0,1 N, în prezența indicatorului de culoare care poate fi fenolftaleina, virajul optim al probei fiind la roz sau albastru de bromtimol când soluția virează spre verde-albăstrui. Aciditatea se exprimă în g/L acid tartric.

Determinarea *acidității volatile* este realizată conform STAS 6182/2-86 și datelor OIV (OIV-MA-AS313-02) și este dată de compușii volatili, aparținând seriei acetice, care se găsesc în vin în stare liberă (formic, acetic, propionic, butiric). Metoda constă în antrenarea cu vapori a acizilor volatili cu ajutorul distilatorului de tip Jaulmes și titrarea produsului obținut cu o soluție de NaOH 0,1 N în prezența fenolftaleinei, ca indicator de culoare. Exprimarea rezultatelor se face în g/L acid acetic.

Determinarea *concentrației alcoolice* s-a realizat prin distilare simplă la distilatorul Jaulmes după neutralizarea prealabilă a lichidului cu hidroxid de sodiu 10 %. Rezultatele se obțin prin citirea concentrației alcoolice aparente și a temperaturii pe alcoolmetru.

Determinarea concentrațiilor de *zaharuri reducătoare* s-a realizat prin metoda iodometrică de dozare a excesului de ioni cuprici de către zaharurile reducătoare din vin, în mediu alcalin, la cald, cunoscută și ca metoda Luff-Scholl. Calculul conținutului de zaharuri reducătoare se va face cu ajutorul tabelelor și formulelor de calcul specificate în normele legislative OIV.

Determinarea concentrațiilor de *dioxid de sulf liber și total* s-a efectuat prin aplicarea metodei titrimetrice aplicată în trei etape, astfel: pentru determinarea dioxidului de sulf liber din probă s-a titrat în mediu acid, cu o soluție de iod 0,05 N; următoarea etapă constă în determinarea cantității de dioxidul de sulf combinat, prin titrare cu soluție de iodură și în prezență de amidon, după tratarea în prealabil cu hidroxid de sodiu și acid sulfuric, 10 %.

Un aspect important care trebuie luat în calcul este acela că pentru efectuarea acestei analize, probele de vin nu au fost supuse decarbonatării.

Analizele s-au efectuat pe baza metodelor indicate în standardele internaționale și în literatura de specialitate, în conformitate cu metodele Organizației Internaționale a Viei și Vinului (OIV, 2018, 2019, 2020).

6.4.2. Identificarea compușilor volatili din vinurile realizate prin intermediul cromatografiei gazoase

Gaz-cromatografia este o tehnică de separare analitică a compușilor volatili din diverse substraturi. Tehnica gaz-cromatografică oferă cele mai bune rezultate în identificarea compușilor volatili din vin. O preocupare majoră este legată de necesitatea ca substanțele de analizat să aibă o stabilitate termică ridicată, până la temperatura necesară volatilizării lor. În gaz-cromatografie, faza mobilă este un gaz, pe când faza staționară poate fi un lichid adsorbant, un lichid reținut pe un suport solid, sau un lichid impregnat în pereții capilarelor, etc.. Condițiile de lucru pot varia în funcție de complexitatea amestecului care urmează a fi analizat, de caracteristicile coloanei cromatografice pe care se realizează separarea și de tipul detectorului.

Analiza a fost efectuată prin intermediul unui gaz cromatograf cu detector de ionizare în flacără GC-FID, Agilent 7890B de la Agilent Technologies echipat cu un prelevator GC 80. S-a folosit tehnologia head-space și o coloană Phenomenex Zebron FFAP GC, cu o lungime de 50 m, diametru interior 0,32 mm și 0,50 μ m grosime film. Anterior a fost realizată o curbă de calibrare pentru toți compușii de interes, iar matricea utilizată pentru curba de calibrare a fost soluție alcoolică de 10 %.

S-au utilizat flacoane de sticlă de 20 mL în care s-au adăugat 10 ml vin. Pentru injectorul head-space, temperatura de incubare a fost menținută la 85 °C timp de 15 minute și temperatura seringii a fost de 87 °C iar temperatura de injecție a fost de 250 °C.

Gaz cromatograficul a folosit hidrogen purtător la un debit de 1,6 mL/minut. Programul a pornit la 30 °C timp de 5 minute, apoi au fost aplicate 2 rampe de temperatură. Mai întâi, o creștere de 2,3 °C/min până la 80 °C cu menținerea temperaturii 9 minute și o rampă secundară de 25 °C/min până la 250 °C cu un timp de menținere de 3 minute. Detectorul de ionizare cu flacără a avut o temperatură de 250 °C și o rată de achiziție de 20 Hz.

Timpul total pentru analiza unei probe prin gaz cromatografie a fost de 45 minute necesar datorită complexității probelor.

6.4.3. Descrierea metodei spectrofotometrice de determinare a parametrilor cromatici pentru vinurile studiate

Identificarea parametrilor de culoare s-a realizat cu ajutorul metodei CIELab76 și se bazează pe valorile tristimulilor de culoare X, Y, Z, care pot fi reprezentate în coordonate carteziane sau cilindrice. CIELab este modelul complex de determinare a culorii vinurilor folosit pentru descrierea culorilor din spectrul vizibil care permite depistarea celui mai mare număr de nuanțe de culoare pe care le poate distinge omul cu ochiul (Hoffman, 2013). Este foarte important ca metoda de determinare a parametrilor de culoare să permită obținerea de indici în concordanță cu impresiile senzoriale depistate.

Parametrii cromatici au fost identificați și calculați conform metodei OIV-MA-AS2-11 utilizând caracteristici ale senzației vizuale precum claritate, tonalitate, saturație, luminozitate, nuanță. După analiza fiecărei probe în parte s-a înregistrat un spectru de absorbție obținut în urma suprapunerii absorbanțelor citite. Evaluarea caracteristicilor cromatice calculate pe baza absorbției înregistrate în domeniul vizibil UV-VIS (380-780 nm), la o lungime de undă de 550 nm a fost realizată cu ajutorul unui spectrofotometru de tipul Specord UV-VIS Analytik Jena Specord 200 cuplat cu un IBM-PC, utilizând cuve din sticlă cu traseul optic de 1 cm (Zamfir, 2009; Moroșanu, 2019).

Sistemul CIELab caracterizează variațiile de culoare percepute de ochiul uman, reprezentând un spațiu tridimensional uniform definit prin coordonatele colorimetrice L *, a * și b *. Axa verticală notată cu L * măsoară de la 0 - complet opacă, până la 100 - complet transparentă, și au fost înregistrați parametrii „+ a *” roșu, „-a *” verde, „+ b *” galben, „-b” albastru (Main și Morris, 2007).

6.4.4. Descrierea protocolului microbiologic aplicat în cadrul experimental

Experimentul microbiologic a presupus realizarea următoarelor etape: prepararea mediilor de cultură, inocularea suşelor levuriene în/pe medii nutritive, multiplicarea levurilor, adaptarea acestora la concentraţia vinului utilizat în experiment, obţinerea concentraţiei optime de levuri pentru inocularea în vin şi la final analiza microscopică a vinului. Stabilirea concentraţiei de levuri (UFC/mL) s-a efectuat conform metodologiei standard, cu ajutorul camerei Neubauer şi a unui cititor de colonii Gerber.

Levurile utilizate în experimente, *Schizosaccharomyces pombe*, *Brettanomyces bruxellensis* şi *Saccharomyces cerevisiae*, au fost multiplicare conform protocolului experimental de lucru, prin însămânţare pe medii solide reprezentate de MEA (malt extract agar) şi YMA (yeast malt agar) şi medii lichide, must sterilizat şi malţ extract. Însămânţarea pe mediile nutritive solide are ca scop determinarea numărului de celule viabile, iar în ceea ce priveşte însămânţarea pe mediile nutritive lichide, scopul este similar, dar mai mult de atât ajută la evidenţierea microorganismelor, a particularităţilor morfologice şi a păstrării culturilor necesare (Soldatenko, 2021).

Mediul de cultură MEA (Malt Extract Agar) a fost utilizat în cadrul experimentului datorită concentraţie ridicate în maltoză, fiind un mediu propice pentru a izola levuri şi mucegaiuri, dar în schimb, inhibă dezvoltarea bacteriilor. Ingredientele folosite la obţinerea mediului: extract de malţ şi dextroză – câte 20 g din fiecare, peptonă - 5g, agar – 15 g. Este indicat ca pH-ul mediului la 25°C să fie $5,5 \pm 0,3$ pentru ca levurile să se poată dezvolta în condiţii optime. Mixul de ingrediente se dizolvă în 250 ml apă distilată, se omogenizează timp de 15 minute, iar ulterior se aduce la 1000 mL cu apă distilată. Sterilizarea s-a efectuat cu ajutorul autoclavului, la temperatura de 115 °C timp de 10 minute după care pH-ul final a fost corectat cu soluţie de acid lactic 10 %.

Mediul de cultură YMA (Yeast Malt Agar) poate fi folosit pentru dezvoltarea levurilor, mucegaiurilor, dar şi a actinomicetelor acidofile. Sursa de carbon, azot, aminoacizi şi nutrienţi esenţiali este reprezentată de extractul de malţ, dextroza şi peptonele prezente în acest mediu, iar pentru selectivitatea acestuia se poate adăuga acid lactic, citric sau tartric în proporţie de 10 %. Sterilizarea mediului se realizează în autoclav la temperatura de 121°C timp de 15 minute. După sterilizare, mediul a fost turnat în plăci sterile Petri într-un timp scurt pentru ca mediul să nu se răcească.

Mediul de cultură PDA (Potato Dextrose Agar) este un mediu de uz general pentru levuri şi mucegaiuri, care poate fi suplimentat cu antibiotice pentru a inhiba creşterea bacteriilor. Este recomandat pentru metodele de numărare a plăcilor pentru testarea alimentelor şi pentru testarea produselor cosmetice. Baza bogată din punct de vedere nutriţional (infuzie de cartofi) încurajează sporularea mucegaiului şi producţia de pigmenţi la unele dermatofite. Pentru obţinerea mediului sunt necesare 20 g dextroză, 20 g agar şi 4 g extract de cartofi, iar pH-ul mediului să fie cuprins între $5,6 \pm 0,2$, la temperatura de 25 °C. Pentru a prepara infuzia de cartofi, se fierb 200 g de cartofi tăiaţi în felii, necurătaţi, în 1 litru de apă distilată, timp de 30 min. Se amestecă ulterior cu dextroză, agar şi apă distilată, se dizolvă, după care se sterilizează prin autoclavare timp de 15 minute la 121°C.

Mediul de cultură GPCA (*Glucose Peptone Chloramphenicol Agar*) este un mediu de cultură solid utilizat pentru numărarea levurilor și a mucegaiurilor. Pentru obținerea mediului sunt necesare următoarele: dextroză 20 g, peptonă 5 g, extract de levuri 2 g, fosfat de potasiu 1 g, sulfat de magneziu 0,50 g, cloramfenicol 0,05 g, agar 15 g. pH-ul mediului trebuie să fie încadrat între $5,7 \pm 0,1$ la 25 °C. Se adaugă 43,5 g de pulbere în 1 L apă distilată și se aduce la fierbere pentru a se dizolva complet. Se distribuie în recipiente adecvate și se sterilizează în autoclav la 121°C timp de 15 minute.

Pentru obținerea concentrației optime de levuri aferente experimentelor s-au folosit două metode de însămânțare: metoda în gazon și metoda de încorporare în mediu, iar incubarea a avut loc la o temperatură constantă de 28 °C, timp de 5 zile.

Metoda de însămânțare în gazon. Inocularea se practică cu scopul de a studia gradul de sensibilitate al microorganismelor la antibiotice sau diverse substanțe conservante.

Tehnica de lucru. Se prelevă 1 ml vin însămânțat cu levuri cu pipeta Pasteur, se introduce și se distribuie uniform (cu ansa Dringalski) pe toată suprafața mediului în placa Petri. Placa se acoperă cu capacul pe care a fost notat în prealabil tipul de mediu folosit, levura și numărul de identificare al probei analizate, după care se incubează la 28°C.

Metoda de însămânțare prin încorporare se folosește în special pentru cultivarea microorganismelor care necesită o presiune parțială a O₂ mai scăzută și pentru studiul relațiilor de antibioză prin factori difuzibili dintre speciile de microorganisme ale unei probe naturale (sol, apă). Metoda este folosită pentru a obține o creștere confluentă „în pânză”, pe suprafața plăcii dacă inoculul are o densitate celulară suficientă. Dacă inoculul este un amestec heterogen de specii de microorganisme, creșterea este discontinuă chiar limitată la colonii izolate datorită competiției pentru spațiu și nutrienți.

Tehnica de lucru. Cu pipeta gradată, în fiecare placă Petri se distribuie steril, în picături, o cantitate determinată de 1 ml din suspensia inocul. Mediul nutritiv după lichefiere se răcește la 47 °C. O cantitate de 20-25 mL mediu nutritiv se repartizează steril în placa Petri peste inocul. Se omogenizează prin mișcări circulare pe suprafața plană pentru încorporarea uniformă a inoculului în mediu. Se lasă să se răcească, cu capacul în jos pentru a nu crea condens, se fac notațiile indicate pe fiecare placă și se incubează la termostat. Indiferent de tehnica de inoculare, coloniile apar după un interval de timp determinat de rata de diviziune celulară și de speciile utilizate.

Verificarea viabilității levurilor inoculate. Pentru realizarea infecțiilor în probele de vin, din mediile lichide au fost realizate diluții corespunzătoare protocolului experimental. Astfel, au fost pregătite diluții având concentrații diferite, pentru fiecare dintre cele trei specii analizate, *Schizosaccharomyces pombe*, *Brettanomyces bruxellensis* și *Saccharomyces cerevisiae*. Pentru a realiza diluțiile necesare s-a folosit metoda diluțiilor succesive, iar verificarea și numărarea acestora s-a realizat cu ajutorul camerei Neubauer, a microscopului și a unui cititor de colonii Gerber.

Camera Neubauer este formată dintr-o placă de sticlă groasă, cu dimensiunea unui diapozitiv de sticlă (30x70x4mm), iar porțiunea de numărare formată din două suprafețe

ruled sub forma unui pătrat. Prin intermediul unei pipete automate se prelevează aproximativ 15 µl din amestecul de celule (diluție). Se poziționează vârful pipetei la marginea capacului și se expulzează lent lichidul până când camera de numărare este plină. Focalizarea microscopică și numărarea celulelor (Fig. 2.8.) se realizează astfel: camera Neubauer se plasează pe placa microscopului, după care se focalizează obiectivul 10X pe celulele ce urmează a fi numerate; se stabilește astfel totalul celulelor găsite în 4 pătrate mari din fiecare colț al camerei și apoi se centralizează datele pentru fiecare probă analizată în parte.

Protocolul de lucru pentru adaptarea și multiplicarea levurilor

Materiale:

- Mediu nutritive lichid YPD (Yeast Extract–Peptone–Dextrose Broth): 10 g/L extract de levuri, 20 g/L peptonă, 20 g/L glucoză.
- Mediu nutritiv YPD-EtOH (Mediu YPD suplimentat cu 6 % v/v etanol).
- Vin fără conservanți (ex. cu un conținut redus de SO₂) care necesită filtrare înainte de utilizare.

Procedeu de lucru:

1. Culturile de levuri au fost menținute pe mediu PDA (Potato Dextrose Agar, 4g/L extract de cartof, 20 g/L glucoză, 20 g/L agar) și depozitate în frigider până la utilizare.
2. Tulpinile prelevate din plăci au fost inoculate în 5 mL YPD-EtOH și incubate pentru 2 zile la 28 °C.
3. 500 µL de mediu YPD a fost transferat peste cei 5 mL YPD-EtOH și incubat pentru 4 zile la 28 °C.
4. Din acest amestec culturile au fost folosite pentru a inocula concentrații de 75:25 YPD: vin (75 % mediu lichid YPD : 25 % vin) la 1 % rata de inoculare, crescute la 28 °C timp de 7 zile.
5. din amestecul anterior, se recoltează 1 % inocul 75:25 YPD: vin pentru a inocula o soluție de 50 % vin și 50 % apă sterilă, cu concentrație finală de 10 g/L glucoză și menținută ulterior în incubator la 28 °C timp de 7 zile.
6. Ulterior, 1 % din inoculul obținut din soluția anterioară a fost folosit pentru a inocula un mediu cu 75 % vin: 25 % apă sterilă, urmat de incubarea la 28 °C timp de 7 zile.
7. Etapa finală: 1 % din inoculul obținut din 75:25t s-a folosit pentru a inocula proba de vin bază, urmat de incubarea la 28 °C timp de 7 zile. După incubare, vinul cu levuri adaptate a fost utilizat pentru inoculări în cadrul experimentelor.

Protocolul de adaptare a fost finalizat, iar levurile au fost păstrate la rece în frigider. Pentru a avea levurile proaspete adaptate înainte de începerea testelor finale, s-a prelevat din nou un inocul de 1 % din cultura de vin stocată în frigider și s-a inoculat din nou vinul, urmat de o incubare la 28 °C pentru o perioadă de 7-10 zile. Aceasta reprezintă cultură finală. Din această cultură finală de vin trebuie să se determine titrul de celule prin metoda "pour plating". Prin urmare, s-au efectuat diluții în serie din cultura finală, iar aceste diluții se introduc în geloză nutritivă sau în geloză cu extract de malț. Plăcile s-au

incubat la 28 °C până când pe acestea s-a observat o bună creștere celulară. Prin numărarea coloniilor se calculează titrul celular al culturii adaptate în vin. În același timp, până când celulele au crescut pe plăcile de agar, cultura finală din etapa anterioară a fost păstrată la frigider pentru a preveni multiplicarea. Odată ce a fost determinat titrul celular al culturii finale, s-a calculat cantitatea optimă necesară pentru a atinge titrul final de colonii necesar pentru experimentele cu dimetildicarbonat (DMDC).

În urma protocolului aplicat s-a obținut concentrația optimă de levuri pentru inocularea vinului martor, care au fost aclimatizate la rece până la efectuarea experimentelor. Au fost necesare concentrații levuriene de 30 UFC/mL și 100 UFC/mL pentru fiecare specie în parte, utilizate pentru a însămânța vin tratat cu diferite doze dioxid de sulf și dimetildicarbonat.



Figura 6.5. Pregătirea diluțiilor conform planului experimental
Figure 6.5. Dilutions required according to the experimental plan

6.4.5. Descrierea sușelor levuriene utilizate în cadrul experimentelor

Există numeroase specii de levuri cu importanță majoră în vinificație, fie pentru aspectele pozitive cât și pentru cele negative, care necesită o atenție deosebită datorită modificărilor declanșate în compoziția vinului (Romano ș.a., 2019). Pentru realizarea primului experiment au fost utilizate două specii de levuri bine cunoscute în vinificație, *Schizosaccharomyces pombe* și *Brettanomyces bruxellensis*, (figura 6.6. a,b) cu scopul de a testa capacitatea de inhibare a dicarbonatului de dimetil, dar și modificările induse de acestea în probele fără tratamente.

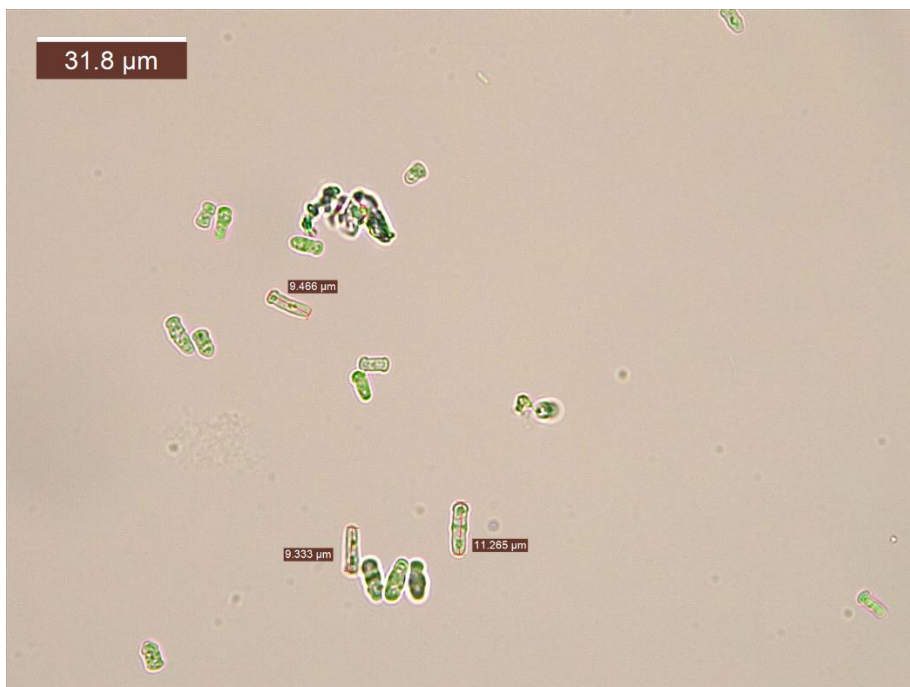
Schizosaccharomyces pombe se remarcă printr-un metabolism special care îi conferă anumite abilități speciale precum reglarea acidității vinului prin fermentație maloalcoolică. În plus, această specie se caracterizează prin favorizarea formării pigmentilor stabili în vin, eliberând cantități mari de polizaharide în timpul maturării pe levuri (Loira ș.a., 2018). O altă particularitate a speciei face referire la capacitatea de a crește în medii cu activitate scăzută a apei fiind o drojdie osmofilă și, prin urmare, poate fi găsită în medii cu conținut ridicat de zahăr (Kurtzman, ș.a., 2010). Se poate dezvolta și în medii cu pH foarte scăzut și într-o gamă largă de temperaturi. Mai mult, este rezistentă la conservanții alimentari, cum ar fi dioxidul de sulf, actidiona, acidul benzoic și dicarbonatul de dimetil (Suárez-Lepe, 2012). Totuși, levura poate acționa degradând acidul malic și transformându-l în alcool și dioxid de carbon. Cu toate acestea, de asemenea prezintă anumite dezavantaje, cum ar fi viteza scăzută de fermentare, dezvoltarea aromelor nedorite sau capacitatea de a produce refermentări în vinurile cu rest de zahăr (Loira ș.a., 2018).

Brettanomyces bruxellensis este considerată ca fiind cea mai problematică levură în oenologie (Cibrario ș.a., 2019). Este cunoscut faptul că *B. bruxellensis* produce compuși specifici, cum ar fi fenolii volatili, asociați cu arome neplăcute, de obicei descrise ca „transpirație de cal” sau „piele” (Agnolluci ș.a., 2010). Originea acestor proprietăți senzoriale se datorează producerii compușilor 4-etil fenol (din acid p-cumaric) și 4-etil guaiacol (din acid ferulic), primii găsindu-se la concentrațiile cele mai mari în cazul vinurilor contaminate cu acest tip de levură. Au fost folosiți diferiți descriptori senzoriali pentru a caracteriza vinurile contaminate cu *Brettanomyces sp.*, dar interpretările senzoriale variază foarte mult, nu numai atunci când se compară vinurile, ci și în cazul sucurilor sau altor băuturi alcoolice sau nealcoolice. De asemenea, speciile acestui gen pot conferi mirosuri neplăcute descrise ca fenolice, iz de șoarece, lână umedă, spirt medicinal, afumat și condimentat și, în consecință reduce calitatea senzorială a produsului final (Romano ș.a., 2009; Campolongo ș.a., 2010).

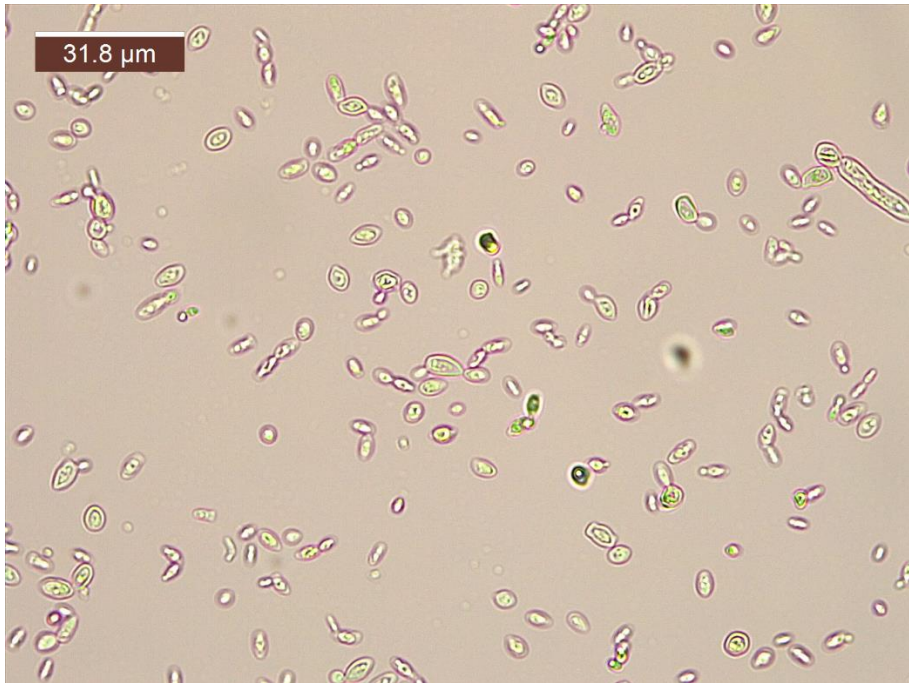
În vederea realizării probelor aferente experimentului al doilea s-au utilizat speciile *Brettanomyces bruxellensis* și *Saccharomyces cerevisiae* în aceleași concentrații ca și în protocolul de lucru prezentat anterior, (figura 6.6 b,c).

Saccharomyces cerevisiae este specia de levură utilizată în principal în vinificație pentru proprietățile fiziologice și biotehnologice deosebite (Agarbatî ș.a., 2020). Specia *Sacch. cerevisiae* demonstrează o competitivitate ridicată față de alte specii levuriene care colonizează de obicei sucul proaspăt de struguri. Pe lângă aspectele pozitive remarcate,

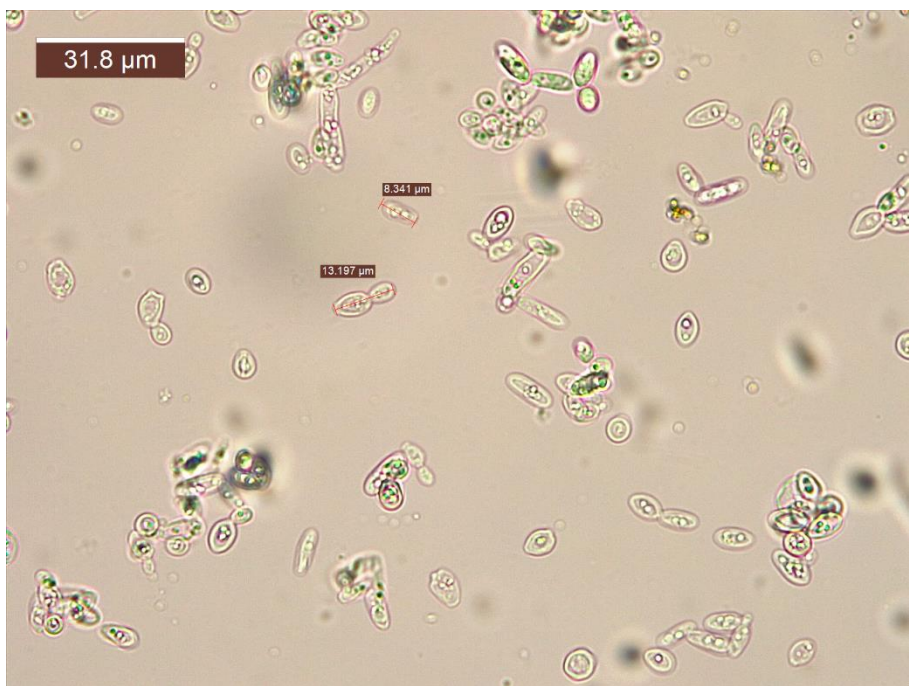
aceste levuri sunt capabile să producă în exces o serie de metaboliți nedorți, cum ar fi acidul acetic sau compuși cu sulf care afectează calitățile senzoriale ale vinurilor (Swiegers și Pretorius, 2007; Noble ș.a., 2015). Circa 35 % din sușele acestei levuri sunt considerate sulfitorezistente (rezistă până la concentrații de aproximativ 200 mg/L SO₂) (Taran, 2021).



a)



b)



c)

Figura 6.6. Aspecte și măsurători microscopice pentru *Schizosaccharomyces pombe* (a), *Brettanomyces bruxellensis* (b) și *Saccharomyces cerevisiae* (c) (original)

Figure 6.6. Aspects and microscopic measurements for *Schizosaccharomyces pombe* (a), *Brettanomyces bruxellensis* (b) and *Saccharomyces cerevisiae* (c) yeasts

6.4.6. Analiza senzorială a probelor experimentale

Degustarea vinurilor este un proces complex care presupune parcurgerea etapelor de apreciere, identificare și meditare. Aroma și gustul vinului se formează în urma interacțiunii dintre compușii volatili formați în timpul maturării strugurilor, cei apăruiți în urma procesului de vinificație și cei formați în timpul pastrării vinurilor. Calitatea vinului este apreciată printr-o singură metodă, și anume “degustarea”, ținând cont de faptul că analizele realizate în laborator dau informații referitoare la compoziția chimică, starea de sănătate a vinului și rezistența la alterări, iar analiza senzorială este utilizată pentru aprecierea și stabilirea calității unui vin. Diversele tratamente utilizate în vinificație, acționează diferit, separat sau împreună, determinând unele modificări asupra compoziției fizico-chimice a vinurilor, stabilității microbiologice și implicit a analizei senzoriale.

Comisia de degustare a fost compusă din membri ai U.S.V. Iași, specialiști în degustare, persoane cu pregătire teoretică și practică asupra conceptelor fundamentale legate de gustul și mirosul vinurilor.

Analiza organoleptică a fost efectuată de o echipă formată dintr-un număr de 10 degustători și s-a desfășurat în sala de degustare a Centrului de Cercetare în Oenologie din Iași, conform metodei de evaluare propusă de Uniunea Internațională a Oenologilor. Membrii comisiei au acordat puncte de bonificație (de la 1 la 5) pentru fiecare item menționat în fișa de evaluare senzorială sau au acordat puncte de penalizare în funcție de observațiile remarcate.

Elementele senzoriale selectate sunt specifice vinurilor albe, printre care se evidențiază cele specifice soiurilor prelucrate, notele de miere, flori albe, fructe supracapte, piersici, fructe exotice în variantele experimentului I și notele de grapefruit, lămâie, lime, condimente pentru probele experimentului II.

Notarea vinurilor s-a realizat cu ajutorul fișelor de degustare a vinurilor albe pentru fiecare experiment în parte (tabelul 7.33 – experimentul I și tabelul 7.39 – experimentul II), care a cuprins atât însușiri ale profilului olfactiv, gustativ și tactil. Fiecare descriptor senzorial a fost notat prin puncte de bonificație cuprinse între 0 (cel mai puțin resimțit) și 5 (cel mai bine resimțit), fiecare degustător acordând puncte tuturor descriptorilor. De asemenea au fost menționate și observațiile referitoare la probele analizate, acestea făcând referire la calitatea sau defectele vinului analizat.

La finalul degustărilor s-au centralizat matematic rezultatele fiecărui descriptor senzorial din fișe (media aritmetică $\pm$ deviația standard), pentru fiecare set de probe în parte. Pentru a evidenția impactul tratamentelor cu SO₂ și DMDC asupra probelor experimentale au fost realizate reprezentări grafice ale profilurilor senzoriale pentru toate probele obținute cuprinzând mediile valorilor obținute pentru fiecare descriptor senzorial. În ceea ce privește procesul de degustare, trebuie menționat faptul că temperatura este un factor de importanță majoră, iar probele obținute au fost servite la temperaturi cuprinse între 8-10 °C astfel încât profilul senzorial să reflecte cu exactitate caracteristicile fiecărui vin.

6.4.7. Prelucrarea și interpretarea datelor prin intermediul testelor statistice

Softul utilizat pentru realizarea testelor statistice ANOVA și Analiza Componentelor Principale (ACP) a fost SPSS Statistics versiunea 22 de la IBM (Statistical Package for the Social Sciences), fiind unul dintre cele mai complexe programe de analiză statistică avansată, oferind toate instrumentele și testele necesare pentru a face orice predicție. SPSS permite efectuarea analizelor statistice simple, cât și a celor complexe, cum ar fi descoperirea relațiilor dintre variabile (dependență și interdependență), precum și clasificarea subiecților și a diferiților factori.

Analiza varianței (ANOVA) este un instrument de analiză utilizat în statistici care împarte o serie de factori în: factori sistematici și factori aleatori. Factorii sistematici au o influență statistică asupra setului de date, în timp ce factorii aleatori nu au influență statistică. Analiztii folosesc testul ANOVA pentru a determina influența pe care o au variabilele independente asupra variabilei dependente într-un studiu de regresie. Pentru a putea realiza testarea este nevoie de stabilirea ipotezelor și regula de decizie. *Formularea ipotezelor*: H_0 sau ipoteza nulă: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$ când mediile sunt egale (ipoteza de dependență care presupune că variabilele se influențează reciproc); H_1 sau ipoteza de independență: $i \neq j$; $\mu_i \neq \mu_j$ dacă există cel puțin o medie care diferă semnificativ de celelalte (presupune că nu există nicio interacțiune între variabile). În ceea ce privește regula de decizie, interpretarea se realizează astfel: dacă $\text{Sig.} > \alpha$, se acceptă H_0 ; dacă $\text{Sig.} < \alpha$, se respinge H_0 . Astfel se evidențiază dacă valorile medii obținute pentru elementele analizate sunt semnificativ diferite, factorul (tratamentele utilizate) având un impact major asupra variabilelor (parametrilor analizați).

Metoda ACP sau Analiza Componentelor Principale reprezintă una dintre cele mai utilizate metode de analiză factorială multidimensională, fiind o metodă descriptivă ce se aplică în studiul legăturii dintre variabile numerice. În cadrul studiului, aplicarea ACP se poate realiza pentru atingerea următoarelor obiective: evidențierea legăturilor existente între variabile și evidențierea asemănărilor și respectiv a deosebirilor dintre unitățile statistice luând în considerare variabilele stabilite (Pintilescu, 2007). Analiza valorilor coeficienților din matricea corelațiilor pentru evaluarea posibilității de aplicare a analizei componentelor principale (valori mai mari de 0,5 și mai mici de -0,5) indică că între variabile există legături statistice semnificative (legături directe dacă valoarea coeficienților este pozitivă și legătură inversă dacă valoarea coeficienților este negativă). Astfel, variabilele corelate variază în același sens, fiind direct proporționale. De cealaltă parte, variabilele corelate negativ sunt invers proporționale. Intensitatea relațiilor de corelație este evidențiază de valorile numerice ale coeficientului r iar direcția acestora este indicată de semnele + și respectiv, -. Corelațiile cu valoarea lui r apropiată de 0 reprezintă corelațiile înalte negative, cele care tind spre 1 sunt cele înalte pozitive, iar cele medii sunt încadrate între r 0,6 - r 0,8. Cele cu semnul - se interpretează similar, corelații înalte negative reprezentate de cele cu valoarea spre -0 iar cele înalte negative cu valoarea -1.

Heatmapper este un server web care permite utilizatorilor să vizualizeze interactiv datele sub forma unor hărți termice printr-o interfață grafică ușor de utilizat, datele fiind interpretate pe baza intensității nuanțelor rezultate în grafic (figura 7.15, 7.20).

7. REZULTATE ȘI DISCUȚII

7. RESULTS AND DISCUSSIONS

7.1. Analiza influenței tratamentelor administrate asupra parametrilor fizico-chimici ai vinurilor obținute

Fiind un sistem complex într-o continuă evoluție, vinul necesită diferite tratamente de stabilizare și condiționare. Dioxidul de sulf și dimetil dicarbonatul sunt cele mai utilizate substanțe în ultima perioadă în vinificație deoarece au un rol important în protecția și stabilizarea vinurilor mai ales din punct de vedere microbiologic, fizico-chimic și organoleptic.

Parametrii fizico-chimici uzuali analizați pentru variantele experimentului I cuprind: aciditatea totală, aciditatea volatilă, pH-ul, concentrația alcoolică, densitatea, zaharurile, dioxidul de sulf liber și total, reprezentați în tabelele 7.1., 7.2., 7.3. Determinările au fost realizate în triplicat, în două perioade diferite, după 7 zile de la efectuarea experimentelor și după 6 luni pentru a monitoriza evoluția vinurilor pe parcursul păstrării. Au fost cuantificate și reprezentate prin media celor trei determinări și deviația standard $\pm$.

Aciditatea totală a strugurilor variază în mod normal de la 5 la 16 g/L, în timp ce, la vin, se observă valori mai mici, de la aproximativ 5 până la 7 g/L acid tartric (Zoecklein ș.a., 1995). Există o serie de factori care pot influența acest parametru, cum ar fi soiul de struguri, maturitatea, tehnologică, condițiile de depozitare și condițiile climatice (Samoticha ș.a., 2017). Aciditatea totală a probelor analizate a variat de la 4,74 la 6,43 g/L acid tartric între cele două perioade de analiză, mediile peste 6 g/L acid tartric înregistrându-se la variantele V16-V45, valori conforme cu limitele legislației în vigoare.

Aciditatea volatilă se referă la conținutul total de acizi volatili eliminați din vin prin distilarea cu abur. Acidul acetic reprezintă 95-99 % din aciditatea volatilă totală, iar restul reprezintă cantități mici de acid lactic, acid propionic, butiric și acid formic. Aciditatea volatilă reprezintă un parametru important în evaluarea calității și stării de sănătate a vinului (Țârdea, 2010). Valorile înregistrate în urma acestui studiu au variat între 0,13-0,39 g/L acid acetic fiind de asemenea încadrate în limita legislativă admisă de 1,08 g/L acid acetic.

pH-ul este un parametru important în vinificație fiind în strânsă legătură cu stabilitatea vinului. Nivelul ideal de pH în vinuri este cuprins între 3,2-3,6. În general, dacă un vin are un nivel ridicat de aciditate, acesta va avea un pH scăzut. Vinurile cu aciditate ridicată/pH scăzut sunt considerate stabile, de aceea, în acest tip de mediu, creșterea bacteriilor și a altor microorganisme este inhibată. Probele analizate se încadrează în acest interval, prezentând valori cuprinse între 3,17 (V41,42)-3,47 (V15).

Concentrația alcoolică a vinurilor este relevantă pentru vinificație, fiind considerat unul dintre cei mai importanți parametri, reprezentând rezultatul fermentării zaharurilor din musturi, care poate determina modificări importante în calitatea vinului (Moreno și Peinado, 2012). Variantele analizate au înregistrat variații ale valorilor cuprinse între 14,3-

15,2 % vol. alc. la V1-V30, dar în concordanță cu conținutul inițial de zaharuri din materiile prime utilizate (264 g/L zaharuri în must). În schimb, variantele V31-V45 au fost cele mai stabile, valorile concentrației alcoolice fiind similare între 14,10-14,30, acțiunea dintre SO₂ și DMDC în acest caz favorizând stabilitatea fizico-chimică a vinurilor.

Densitatea reprezintă un parametru analitic de importanță majoră în vinificație, deoarece furnizează informații despre autenticitatea, respectiv calitatea unui vin (Țârdea, 2007). Valorile reprezentative pentru variantele cu 40/80 mg/L SO₂ și/fără DMDC au fluctuat între 0,9951 (V21)-0,9972 (V28), în schimb, pentru cele cu 160 mg/L SO₂ și/fără DMDC valorile au fost constante, diferențele fiind nesemnificative densitatea având valorile 0,9953-0,9954. Aceste valori constante în probele V31-V45 denotă o bună stabilitate a vinurilor dobândită în urma tratamentelor administrate.

Zaharurile provin din struguri iar concentrația acestora după finalizarea fermentației alcoolice se măsoară în g/L. Probele analizate prezintă o concentrație care variază de la 17,00 (V15)-22,00 (V4) g/L zaharuri, variantele fiind încadrate în categoria vinurilor cu rest de zahăr. Instabilitatea biologică a vinurilor este în strânsă legătură cu prezența zaharurilor (Țârdea, 2007) astfel că, vinurile cu concentrații mari de zaharuri necesită monitorizare permanentă pentru a evita apariția unor modificări chimice. Se pot observa fluctuații reduse între cele două perioade de analiză atât în variantele tratate cu 40 respectiv și în cele cu 80 mg/L SO₂ și DMDC. În schimb, în variantele tratate cu 160 mg/L SO₂ și DMDC se constată un trend similar între cele două perioade de analiză, schema de tratamente având capacitatea de a menține concentrațiile inițiale.

Concentrațiile de SO₂ rezultate în urma analizelor au avut pentru grupa V1-V15 cu 40 mg/L SO₂ și/fără DMDC valori de 10 sau 11 mg/L SO₂ liber și 39 sau 40 mg/L SO₂ total. Pentru grupa probelor tratate cu 80 mg/L SO₂ și DMDC (V16-V30) valorile pentru SO₂ liber au fost de 31 mg/L și de 79 mg/L SO₂ total. Iar pentru a treia grupă V31-V45, tratată cu 160 mg/L SO₂ și/fără DMDC valorile au fost de 95 mg/L SO₂ liber și 159 mg/L SO₂ total. Se poate constata că valorile au avut fluctuații minore în cazul primei grupe V1-V15 iar în cazul celorlalte două grupe nu s-au remarcat variații, probele fiind echilibrate din punct de vedere fizico-chimic. Acest aspect evidențiază faptul că nu au existat diferențe majore între dozele inițiale aplicate în cadrul experimentului și valorile obținute în urma analizelor efectuate.

În concluzie se poate constata că nu există diferențe semnificative între variantele studiate, în urma administrării celor două tratamente cu dioxid de sulf și dimetildicarbonat, excepție făcând variantele fără tratament de DMDC care s-au prezentat ca fiind ușor 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 SO₂ și DMDC valorile fiind similare.

Tabelul 7.1/Table 7.1

Caracteristicile fizico-chimice ale variantelor tratate cu 40 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
 Physico-chemical characteristics of variants treated with 40 mg/L SO₂ with/without DMDC

Variante	Set analize	Concentrația alcoolică % vol, alc,	Aciditatea totală g/L ac, tartric	Aciditatea volatilă g/L ac, acetic	Zaharuri g/L	Densitate	pH	SO ₂ liber mg/L	SO ₂ total mg/L
V 1	Set 1	14,20±0,23	5,80±0,04	0,30±0,13	20,70±0,19	0,9971±0,24	3,42±0,07	10±0,24	40±0,05
	Set 2	14,30±0,16	4,90±0,23	0,39±0,19	17,70±0,04	0,9968±0,07	3,45±0,13	10±0,06	40±0,19
V2	Set 1	14,30±0,04	5,80±0,16	0,27±0,23	21,10±0,13	0,9969±0,05	3,40±0,08	10±0,15	40±0,12
	Set 2	14,40±0,13	4,74±0,19	0,31±0,04	18,50±0,16	0,9964±0,23	3,43±0,24	10±0,11	40±0,07
V3	Set 1	14,30±0,19	5,82±0,13	0,21±0,19	21,60±0,07	0,9972±0,04	3,26±0,16	11±0,18	40±0,15
	Set 2	14,40±0,24	5,80±0,04	0,29±0,24	18,00±0,13	0,9968±0,08	3,41±0,23	11±0,05	40±0,08
V4	Set 1	14,60±0,07	6,20±0,16	0,19±0,24	22,00±0,23	0,9975±0,13	3,36±0,04	10±0,11	40±0,18
	Set 2	14,80±0,14	4,90±0,13	0,23±0,04	17,20±0,07	0,9966±0,16	3,39±0,19	10±0,00	40±0,06
V5	Set 1	14,70±0,03	5,90±0,07	0,21±0,19	21,00±0,23	0,9972±0,13	3,41±0,16	10±0,11	40±0,05
	Set 2	14,70±0,25	5,66±0,23	0,28±0,13	18,20±0,16	0,9966±0,24	3,43±0,04	10±0,05	40±0,08
V6	Set 1	14,80±0,18	6,10±0,24	0,18±0,04	20,50±0,19	0,9970±0,23	3,23±0,13	11±0,15	40±0,19
	Set 2	14,90±0,11	5,97±0,13	0,28±0,16	18,60±0,24	0,9969±0,19	3,42±0,04	11±0,11	40±0,03
V7	Set 1	14,50±0,24	5,90±0,04	0,28±0,07	21,80±0,13	0,9970±0,16	3,41±0,23	10±0,03	39±0,03
	Set 2	14,50±0,01	4,90±0,16	0,34±0,23	18,70±0,13	0,9965±0,07	3,41±0,04	10±0,19	39±0,15
V8	Set 1	14,30±0,05	5,90±0,04	0,26±0,24	19,90±0,16	0,9972±0,05	3,41±0,01	10±0,03	39±0,11
	Set 2	14,60±0,27	5,20±0,13	0,29±0,07	18,80±0,19	0,9961±0,24	3,45±0,04	10±0,13	39±0,19
V9	Set 1	14,50±0,12	5,90±0,04	0,19±0,23	21,30±0,24	0,9970±0,13	3,24±0,16	11±0,11	40±0,05
	Set 2	14,50±0,03	5,82±0,16	0,30±0,13	18,40±0,05	0,9969±0,04	3,41±0,19	11±0,03	40±0,04
V10	Set 1	15,00±0,23	6,00±0,13	0,21±0,19	21,70±0,01	0,9967±0,16	3,38±0,24	10±0,19	39±0,13
	Set 2	15,00±0,22	4,90±0,24	0,29±0,04	18,90±0,23	0,9967±0,07	3,40±0,13	10±0,11	39±0,18
V11	Set 1	14,80±0,08	6,12±0,16	0,20±0,13	21,20±0,19	0,9972±0,24	3,25±0,04	11±0,04	40±0,00
	Set 2	14,90±0,17	5,90±0,04	0,28±0,19	18,90±0,13	0,9969±0,16	3,40±0,23	11±0,09	40±0,08
V12	Set 1	14,80±0,29	6,43±0,23	0,16±0,13	19,20±0,24	0,9972±0,08	3,26±0,04	11±0,22	40±0,05
	Set 2	15,00±0,20	6,00±0,04	0,28±0,16	19,10±0,07	0,9961±0,23	3,40±0,19	11±0,04	40±0,04
V13	Set 1	14,70±0,16	5,90±0,19	0,28±0,13	20,30±0,04	0,9967±0,16	3,37±0,24	10±0,03	39±0,19
	Set 2	14,90±0,05	5,51±0,04	0,25±0,23	18,60±0,13	0,9963±0,24	3,42±0,16	10±0,18	39±0,12
V14	Set 1	14,90±0,04	6,12±0,16	0,18±0,13	21,70±0,19	0,9970±0,23	3,21±0,04	11±0,05	39±0,15
	Set 2	15,10±0,21	6,00±0,24	0,30±0,04	17,80±0,16	0,9969±0,05	3,44±0,19	11±0,05	39±0,04
V15	Set 1	14,80±0,26	6,30±0,16	0,18±0,13	21,10±0,24	0,9972±0,04	3,23±0,23	11±0,11	40±0,19
	Set 2	14,90±0,11	6,12±0,23	0,28±0,04	17,00±0,19	0,9969±0,13	3,47±0,16	11±0,01	40±0,19

Tabelul 7.2/Table 7.2

Caracteristicile fizico-chimice ale variantelor tratate cu 80 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
 Physico-chemical characteristics of variants treated with 80 mg/L SO₂ with/without DMDC

Variante	Set analize	Concentrația alcoolică % vol. alc.	Aciditatea totală g/L ac. tartric	Aciditatea volatilă g/L ac. acetic	Zaharuri g/L	Densitate	pH	SO ₂ liber mg/L	SO ₂ total mg/L
V16	Set 1	15,20±0,02	6,28±0,09	0,17±0,01	20,70±0,19	0,9969±0,08	3,25±0,13	31±0,24	79±0,13
	Set 2	15,20±0,19	6,00±0,02	0,28±0,08	18,70±0,09	0,9969±0,07	3,41±0,19	31±0,05	79±0,24
V17	Set 1	15,20±0,13	6,12±0,01	0,18±0,08	21,30±0,02	0,9968±0,03	3,21±0,08	31±0,05	79±0,05
	Set 2	15,20±0,09	6,00±0,13	0,28±0,07	18,60±0,03	0,9967±0,15	3,41±0,09	31±0,04	79±0,19
V18	Set 1	15,10±0,01	6,43±0,02	0,20±0,01	18,50±0,19	0,9971±0,11	3,26±0,04	31±0,07	79±0,24
	Set 2	15,10±0,07	6,30±0,03	0,29±0,13	17,90±0,08	0,9971±0,03	3,45±0,13	31±0,26	79±0,05
V19	Set 1	15,10±0,08	6,12±0,19	0,18±0,07	21,00±0,02	0,9971±0,07	3,21±0,15	31±0,11	79±0,11
	Set 2	15,10±0,18	6,00±0,13	0,28±0,09	18,30±0,15	0,9966±0,08	3,42±0,09	31±0,24	79±0,05
V20	Set 1	15,10±0,11	6,43±0,08	0,16±0,07	19,60±0,01	0,9971±0,02	3,27±0,19	31±0,03	79±0,08
	Set 2	15,10±0,03	6,20±0,09	0,30±0,02	19,00±0,08	0,9970±0,07	3,42±0,13	31±0,03	79±0,15
V21	Set 1	15,10±0,21	6,12±0,19	0,20±0,13	21,40±0,01	0,9967±0,03	3,21±0,08	31±0,19	79±0,02
	Set 2	15,10±0,17	6,10±0,13	0,25±0,01	18,30±0,19	0,9951±0,09	3,43±0,02	31±0,08	79±0,05
V22	Set 1	15,10±0,22	6,12±0,02	0,18±0,08	21,60±0,07	0,9973±0,01	3,21±0,08	31±0,13	79±0,15
	Set 2	15,10±0,15	6,00±0,09	0,27±0,01	18,20±0,02	0,9967±0,13	3,40±0,19	31±0,05	79±0,15
V23	Set 1	15,00±0,26	6,12±0,02	0,17±0,03	21,20±0,08	0,9970±0,15	3,20±0,07	31±0,05	79±0,12
	Set 2	15,00±0,16	6,10±0,07	0,28±0,19	18,80±0,01	0,9967±0,09	3,40±0,11	31±0,01	79±0,19
V24	Set 1	15,00±0,06	6,28±0,13	0,18±0,01	21,90±0,15	0,9975±0,02	3,21±0,03	31±0,09	79±0,03
	Set 2	15,00±0,25	6,10±0,09	0,30±0,03	18,70±0,08	0,9965±0,04	3,40±0,09	31±0,15	79±0,11
V25	Set 1	15,00±0,11	6,43±0,08	0,13±0,02	20,10±0,04	0,9971±0,13	3,27±0,07	31±0,00	79±0,03
	Set 2	15,00±0,24	6,00±0,13	0,27±0,07	18,50±0,01	0,9968±0,03	3,39±0,08	31±0,03	79±0,01
V26	Set 1	15,00±0,17	6,12±0,09	0,17±0,01	20,80±0,08	0,9968±0,04	3,22±0,13	31±0,05	79±0,14
	Set 2	15,00±0,04	6,10±0,02	0,28±0,04	18,70±0,01	0,9968±0,07	3,39±0,09	31±0,02	79±0,05
V27	Set 1	15,00±0,27	6,12±0,13	0,13±0,09	19,70±0,03	0,9965±0,13	3,22±0,01	31±0,03	79±0,05
	Set 2	14,90±0,01	6,10±0,09	0,29±0,19	18,60±0,01	0,9965±0,02	3,40±0,08	31±0,09	79±0,24
V28	Set 1	14,90±0,12	6,12±0,13	0,18±0,02	21,30±0,08	0,9972±0,07	3,22±0,09	31±0,19	79±0,01
	Set 2	14,90±0,28	6,00±0,09	0,28±0,01	18,30±0,15	0,9967±0,19	3,39±0,02	31±0,03	79±0,05
V29	Set 1	14,90±0,14	6,28±0,08	0,17±0,01	20,70±0,13	0,9966±0,04	3,22±0,09	31±0,15	79±0,02
	Set 2	14,90±0,05	6,00±0,02	0,28±0,07	18,70±0,03	0,9966±0,13	3,39±0,01	31±0,05	79±0,11
V30	Set 1	14,80±0,21	6,12±0,13	0,19±0,01	21,40±0,19	0,9968±0,08	3,21±0,07	31±0,11	79±0,09
	Set 2	14,80±0,20	6,10±0,09	0,27±0,19	18,80±0,13	0,9968±0,01	3,38±0,02	31±0,03	79±0,11

Tabelul 7.3/Table 7.3

Caracteristicile fizico-chimice ale variantelor tratate cu 160 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
 Physico-chemical characteristics of variants treated with 160 mg/L SO₂ with/without DMDC

Variante	Set analize	Concentrația alcoolică % vol. alc.	Aciditatea totală g/L ac. tarttric	Aciditatea volatilă g/L ac. acetic	Zaharuri g/L	Densitate	pH	SO ₂ liber mg/L	SO ₂ total mg/L
V31	Set 1	14,20±0,13	6,20±0,01	0,27±0,19	21,30±0,02	0,9953±0,03	3,19±0,08	95±0,09	159±0,28
	Set 2	14,20±0,09	6,12±0,07	0,28±0,13	21,30±0,08	0,9953±0,01	3,36±0,19	95±0,02	159±0,11
V32	Set 1	14,30±0,02	6,28±0,01	0,27±0,08	21,20±0,09	0,9950±0,04	3,19±0,07	95±0,23	159±0,16
	Set 2	14,30±0,13	6,20±0,07	0,27±0,02	21,20±0,15	0,9950±0,01	3,38±0,09	95±0,16	159±0,11
V33	Set 1	14,20±0,19	6,20±0,19	0,26±0,03	21,30±0,08	0,9953±0,13	3,18±0,15	95±0,01	159±0,24
	Set 2	14,20±0,08	6,12±0,01	0,26±0,09	21,30±0,07	0,9953±0,02	3,37±0,09	95±0,01	159±0,09
V34	Set 1	14,20±0,07	6,40±0,13	0,25±0,01	21,30±0,08	0,9953±0,01	3,18±0,19	95±0,00	159±0,02
	Set 2	14,20±0,03	6,28±0,02	0,25±0,09	21,30±0,01	0,9953±0,19	3,43±0,09	95±0,11	159±0,02
V35	Set 1	14,20±0,01	6,28±0,09	0,24±0,08	21,30±0,09	0,9953±0,07	3,18±0,13	95±0,28	159±0,28
	Set 2	14,20±0,04	6,10±0,19	0,24±0,01	21,30±0,13	0,9953±0,01	3,34±0,08	95±0,02	159±0,00
V36	Set 1	14,20±0,03	6,43±0,08	0,24±0,02	21,30±0,15	0,9953±0,09	3,22±0,19	95±0,23	159±0,07
	Set 2	14,20±0,15	6,20±0,09	0,24±0,03	21,30±0,19	0,9953±0,07	3,35±0,13	95±0,05	159±0,01
V37	Set 1	14,10±0,07	6,30±0,13	0,24±0,04	21,40±0,02	0,9954±0,09	3,19±0,08	95±0,09	159±0,16
	Set 2	14,10±0,11	6,28±0,02	0,24±0,09	21,40±0,08	0,9954±0,04	3,37±0,11	95±0,28	159±0,03
V38	Set 1	14,20±0,21	6,20±0,08	0,18±0,04	21,30±0,07	0,9953±0,13	3,18±0,09	95±0,03	159±0,01
	Set 2	14,20±0,03	6,12±0,19	0,18±0,11	21,30±0,03	0,9953±0,19	3,35±0,02	95±0,07	159±0,03
V39	Set 1	14,20±0,15	6,28±0,13	0,17±0,09	21,30±0,15	0,9953±0,08	3,18±0,07	95±0,24	159±0,28
	Set 2	14,20±0,07	6,20±0,03	0,17±0,08	21,30±0,19	0,9953±0,11	3,35±0,13	95±0,11	159±0,23
V40	Set 1	14,20±0,02	6,28±0,13	0,17±0,08	21,30±0,07	0,9953±0,03	3,20±0,09	95±0,02	159±0,05
	Set 2	14,20±0,04	6,20±0,19	0,17±0,03	21,30±0,09	0,9953±0,02	3,34±0,13	95±0,16	159±0,20
V41	Set 1	14,10±0,13	6,28±0,15	0,16±0,13	21,40±0,11	0,9954±0,19	3,17±0,08	95±0,07	159±0,09
	Set 2	14,10±0,09	6,20±0,19	0,16±0,08	21,40±0,04	0,9954±0,09	3,35±0,08	95±0,23	159±0,00
V42	Set 1	14,10±0,21	6,28±0,07	0,16±0,13	21,40±0,15	0,9954±0,08	3,17±0,19	95±0,02	159±0,24
	Set 2	14,10±0,01	6,20±0,02	0,16±0,03	21,40±0,09	0,9954±0,07	3,34±0,02	95±0,05	159±0,09
V43	Set 1	14,10±0,15	6,12±0,08	0,16±0,07	21,40±0,02	0,9954±0,04	3,18±0,13	95±0,03	159±0,33
	Set 2	14,10±0,08	6,10±0,19	0,16±0,09	21,40±0,03	0,9954±0,08	3,32±0,09	95±0,02	159±0,05
V44	Set 1	14,10±0,13	6,12±0,04	0,16±0,13	21,40±0,07	0,9954±0,15	3,18±0,02	95±0,07	159±0,11
	Set 2	14,10±0,11	6,10±0,02	0,16±0,01	21,40±0,09	0,9954±0,13	3,33±0,15	95±0,11	159±0,11
V45	Set 1	14,10±0,03	6,12±0,19	0,16±0,11	21,40±0,09	0,9954±0,01	3,18±0,19	95±0,16	159±0,00
	Set 2	14,10±0,01	6,10±0,04	0,16±0,02	21,40±0,19	0,9954±0,13	3,37±0,08	95±0,28	159±0,09

Tabelul 7.4/Table 7.4

Caracteristicile fizico-chimice ale probelor tratate cu 20 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
 Physico-chemical characteristics of variants treated with 20 mg/L SO₂ with/without DMDC

Probe	Set analize	Concentrația alcoolică % vol. alc.	Aciditatea totală g/L ac. tartric	Aciditatea volatilă g/L ac. acetic	Zaharuri g/L	Densitate	pH	SO ₂ liber mg/L	SO ₂ total mg/L
P1	Set 1	11,3±0,01	6,12±0,05	0,37±0,11	13,70±0,04	0,9940±0,07	3,10±0,03	4±0,23	20±0,35
	Set 2	12,4±0,03	5,97±0,02	0,44±0,01	1,50±0,11	0,9890±0,01	3,04±0,04	4±0,05	20±0,07
P2	Set 1	11,5±0,05	5,81±0,01	0,46±0,07	19,80±0,02	0,9975±0,03	3,07±0,05	4±0,15	20±0,09
	Set 2	11,6±0,13	6,12±0,03	0,41±0,13	16,00±0,10	0,9957±0,01	3,08±0,11	4±0,09	20±0,35
P3	Set 1	11,5±0,11	5,97±0,06	0,44±0,10	20,1±0,11	0,9975±0,09	3,05±0,02	5±0,11	20±0,33
	Set 2	11,6±0,04	5,97±0,04	0,44±0,01	16,2±0,06	0,9975±0,14	3,04±0,13	5±0,28	20±0,11
P4	Set 1	11,6±0,07	5,97±0,01	0,45±0,03	19,4±0,04	0,9972±0,10	3,08±0,04	4±0,35	20±0,11
	Set 2	12,0±0,09	6,12±0,01	0,50±0,05	1,10±0,01	0,9892±0,03	3,04±0,01	4±0,09	20±0,00
P5	Set 1	11,5±0,02	5,81±0,13	0,45±0,11	19,90±0,02	0,9976±0,04	3,06±0,01	4±0,24	19±0,06
	Set 2	11,6±0,14	5,97±0,01	0,44±0,04	14,90±0,01	0,9957±0,06	3,12±0,01	4±0,28	19±0,23
P6	Set 1	11,5±0,08	5,81±0,07	0,44±0,13	20,20±0,10	0,9974±0,05	3,04±0,04	4±0,00	19±0,11
	Set 2	11,6±0,14	5,97±0,03	0,35±0,02	16,10±0,01	0,9960±0,13	3,14±0,11	4±0,04	19±0,15
P7	Set 1	11,5±0,03	5,81±0,05	0,44±0,11	20,00±0,07	0,9975±0,04	3,03±0,03	4±0,23	19±0,06
	Set 2	12,2±0,07	6,12±0,10	0,44±0,01	2,60±0,04	0,9890±0,05	3,04±0,04	4±0,07	19±0,05
P8	Set 1	11,5±0,09	5,97±0,07	0,44±0,13	20,30±0,02	0,9975±0,03	3,03±0,01	4±0,01	19±0,24
	Set 2	11,1±0,10	5,97±0,03	0,48±0,11	15,30±0,01	0,9963±0,11	3,08±0,13	4±0,03	19±0,28
P9	Set 1	11,5±0,12	5,97±0,01	0,43±0,05	20,40±0,10	0,9975±0,13	3,02±0,03	4±0,15	19±0,00
	Set 2	11,4±0,04	5,97±0,04	0,42±0,13	16,60±0,04	0,9962±0,01	3,15±0,05	4±0,08	19±0,11
P10	Set 1	11,6±0,08	6,12±0,03	0,41±0,05	19,50±0,14	0,9971±0,02	3,05±0,01	4±0,24	19±0,16
	Set 2	12,5±0,11	5,97±0,11	0,46±0,01	1,40±0,11	0,9891±0,03	3,07±0,05	4±0,05	19±0,35
P11	Set 1	11,5±0,13	5,97±0,13	0,43±0,02	20,40±0,10	0,9972±0,07	3,03±0,10	4±0,15	19±0,09
	Set 2	11,9±0,15	5,97±0,01	0,48±0,03	13,60±0,01	0,9950±0,06	3,10±0,11	4±0,07	19±0,07
P12	Set 1	11,6±0,06	6,12±0,04	0,42±0,05	20,00±0,02	0,9971±0,04	3,03±0,01	4±0,08	19±0,07
	Set 2	11,7±0,05	5,97±0,05	0,49±0,01	18,00±0,11	0,9967±0,13	3,10±0,06	4±0,23	19±0,15
P13	Set 1	11,6±0,07	6,12±0,03	0,39±0,07	19,60±0,10	0,9967±0,01	3,04±0,11	4±0,02	19±0,40
	Set 2	12,7±0,02	5,97±0,04	0,48±0,01	1,30±0,07	0,9886±0,05	3,07±0,13	4±0,11	19±0,00
P14	Set 1	11,5±0,11	5,97±0,05	0,42±0,02	21,10±0,01	0,9977±0,06	3,00±0,03	4±0,09	19±0,24
	Set 2	11,6±0,08	5,97±0,03	0,48±0,13	16,00±0,04	0,9961±0,01	3,10±0,01	4±0,15	19±0,05
P15	Set 1	11,5±0,05	5,97±0,07	0,40±0,11	20,90±0,05	0,9972±0,03	3,01±0,07	4±0,24	19±0,23
	Set 2	11,6±0,07	5,97±0,01	0,47±0,03	18,2±0,02	0,9969±0,11	3,08±0,13	4±0,02	19±0,28

Tabelul 7.5/Table 7.5

Caracteristicile fizico-chimice ale probelor tratate cu 40 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
Physico-chemical characteristics of variants treated with 40 mg/L SO₂ with/without DMDC

Probe	Set analize	Concentrația alcoolică % vol. alc.	Aciditatea totală g/L ac. tartric	Aciditatea volatilă g/L ac. acetic	Zaharuri g/L	Densitate	pH	SO ₂ liber mg/L	SO ₂ total mg/L
P16	Set 1	11,5±0,03	5,97±0,05	0,4±0,11	20,9±0,04	0,9976±0,01	2,96±0,03	11±0,05	40±0,10
	Set 2	12,7±0,13	6,12±0,03	0,45±0,07	1,80±0,13	0,9887±0,05	3,03±0,10	11±0,09	40±0,16
P17	Set 1	11,5±0,01	5,97±0,02	0,4±0,13	21,10±0,02	0,9976±0,03	2,97±0,04	11±0,13	40±0,23
	Set 2	11,4±0,11	6,12±0,03	0,39±0,03	15,3±0,14	0,9953±0,07	3,1±0,11	11±0,13	40±0,35
P18	Set 1	11,5±0,05	5,97±0,10	0,43±0,06	21,4±0,03	0,9972±0,01	2,98±0,02	11±0,06	40±0,26
	Set 2	11,7±0,04	6,12±0,11	0,44±0,11	19,00±0,03	0,9968±0,14	3,06±0,05	11±0,03	40±0,09
P19	Set 1	11,5±0,07	5,97±0,05	0,42±0,03	20,7±0,16	0,9975±0,14	3,01±0,07	11±0,23	40±0,15
	Set 2	12,3±0,10	6,12±0,01	0,45±0,13	2,10±0,02	0,9891±0,03	3,01±0,13	11±0,35	40±0,10
P20	Set 1	11,5±0,03	5,97±0,10	0,44±0,06	20,5±0,11	0,9976±0,05	3,05±0,06	10±0,27	39±0,21
	Set 2	11,5±0,01	6,12±0,05	0,41±0,13	15,7±0,14	0,9955±0,04	3,09±0,07	10±0,11	39±0,40
P21	Set 1	11,5±0,02	5,81±0,01	0,44±0,02	19,9±0,02	0,9976±0,05	3,04±0,05	10±0,23	39±0,00
	Set 2	11,6±0,13	6,12±0,06	0,38±0,07	18,3±0,03	0,9960±0,05	3,13±0,01	10±0,11	39±0,27
P22	Set 1	11,5±0,04	5,81±0,11	0,42±0,03	19,7±0,02	0,9971±0,03	3,03±0,03	10±0,15	39±0,10
	Set 2	12,3±0,05	5,97±0,13	0,38±0,16	1,90±0,04	0,9888±0,07	3,11±0,13	10±0,10	39±0,23
P23	Set 1	11,5±0,03	5,81±0,14	0,44±0,05	19,9±0,01	0,9974±0,10	3,03±0,03	10±0,35	39±0,16
	Set 2	11,4±0,10	6,12±0,06	0,46±0,03	14,6±0,13	0,9958±0,02	3,13±0,03	10±0,15	39±0,11
P24	Set 1	11,5±0,04	5,81±0,01	0,43±0,03	20,1±0,16	0,9976±0,03	3,01±0,13	10±0,28	39±0,19
	Set 2	11,7±0,07	6,12±0,02	0,46±0,07	17,8±0,10	0,9977±0,06	3,11±0,14	10±0,09	39±0,23
P25	Set 1	11,5±0,05	5,97±0,13	0,44±0,10	19,8±0,05	0,9973±0,13	3,04±0,03	10±0,16	39±0,27
	Set 2	12,2±0,11	6,12±0,14	0,48±0,01	1,2±0,16	0,9891±0,05	3,09±0,14	10±0,00	39±0,15
P26	Set 1	11,5±0,06	5,81±0,05	0,43±0,14	19,9±0,04	0,9975±0,11	3,05±0,05	10±0,00	39±0,11
	Set 2	11,6±0,02	6,12±0,10	0,43±0,11	16,5±0,13	0,9960±0,01	3,12±0,10	10±0,11	39±0,11
P27	Set 1	11,5±0,01	5,97±0,11	0,43±0,14	20,1±0,03	0,9973±0,07	3,04±0,09	10±0,04	39±0,09
	Set 2	11,6±0,16	5,80±0,03	0,45±0,04	19,7±0,06	0,9974±0,01	3,06±0,14	10±0,27	39±0,35
P28	Set 1	11,6±0,13	6,12±0,13	0,39±0,11	18,3±0,10	0,9963±0,11	3,15±0,13	10±0,23	38±0,20
	Set 2	12,4±0,11	6,12±0,07	0,45±0,10	2,00±0,02	0,9891±0,05	3,06±0,07	10±0,19	38±0,40
P29	Set 1	11,5±0,03	5,81±0,06	0,44±0,07	19,5±0,14	0,9976±0,10	3,07±0,01	10±0,03	39±0,11
	Set 2	11,5±0,07	6,12±0,13	0,41±0,01	14,7±0,04	0,9953±0,13	3,14±0,03	10±0,20	39±0,21
P30	Set 1	11,5±0,01	5,81±0,03	0,46±0,13	19,7±0,13	0,9974±0,03	3,06±0,10	10±0,04	39±0,16
	Set 2	11,7±0,16	5,80±0,05	0,43±0,02	20,2±0,01	0,9974±0,08	3,01±0,03	10±0,15	39±0,26

Tabelul 7.6/Table 7.6

Caracteristicile fizico-chimice ale probelor tratate cu 80 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
 Physico-chemical characteristics of variants treated with 80 mg/L SO₂ with/without DMDC

Probe	Set analize	Concentrația alcoolică % vol. alc.	Aciditatea totală g/L ac. tartric	Aciditatea volatilă g/L ac. acetic	Zaharuri g/L	Densitate	pH	SO ₂ liber mg/	SO ₂ total mg/L
P31	Set 1	11,5±0,01	5,81±0,02	0,44±0,10	19,5±0,16	0,9975±0,07	3,05±0,05	18±0,03	80±0,04
	Set 2	11,6±0,07	6,12±0,05	0,42±0,06	19,4±0,01	0,9972±0,18	3,02±0,02	18±0,23	80±0,22
P32	Set 1	11,5±0,03	5,81±0,02	0,45±0,18	19,5±0,03	0,9974±0,05	3,06±0,10	18±0,27	80±0,10
	Set 2	11,5±0,04	5,97±0,13	0,43±0,05	20,3±0,16	0,9977±0,03	2,99±0,11	18±0,15	80±0,26
P33	Set 1	11,5±0,05	5,97±0,06	0,43±0,01	20,4±0,18	0,9974±0,13	3,01±0,14	18±0,16	80±0,23
	Set 2	11,6±0,10	5,97±0,14	0,42±0,06	20,5±0,04	0,9975±0,03	2,99±0,10	18±0,03	80±0,09
P34	Set 1	11,5±0,11	5,97±0,03	0,41±0,10	20,4±0,13	0,9975±0,05	3,00±0,07	18±0,10	79±0,03
	Set 2	11,5±0,01	5,97±0,03	0,39±0,11	20,2±0,06	0,9977±0,01	2,98±0,04	18±0,16	79±0,15
P35	Set 1	11,5±0,02	5,97±0,05	0,41±0,02	20,7±0,03	0,9976±0,11	2,98±0,05	17±0,15	79±0,16
	Set 2	11,6±0,01	5,97±0,04	0,41±0,16	20,7±0,13	0,9975±0,05	2,97±0,02	17±0,27	79±0,28
P36	Set 1	11,5±0,18	5,97±0,10	0,41±0,01	20,8±0,07	0,9975±0,14	2,98±0,03	17±0,10	79±0,08
	Set 2	11,5±0,13	5,97±0,11	0,41±0,18	20,8±0,02	0,9973±0,11	2,97±0,06	17±0,00	79±0,00
P37	Set 1	11,5±0,03	5,97±0,14	0,40±0,11	20,6±0,10	0,9976±0,03	2,98±0,18	17±0,15	79±0,10
	Set 2	11,6±0,16	5,97±0,05	0,42±0,02	20,7±0,01	0,9975±0,03	2,96±0,10	17±0,40	79±0,10
P38	Set 1	11,5±0,06	5,97±0,04	0,41±0,07	20,9±0,18	0,9976±0,06	2,98±0,01	17±0,01	79±0,35
	Set 2	11,6±0,05	5,97±0,10	0,41±0,01	20,6±0,02	0,9974±0,13	2,97±0,04	17±0,12	79±0,10
P39	Set 1	11,5±0,04	5,97±0,03	0,43±0,13	20,9±0,16	0,9974±0,01	2,98±0,11	17±0,24	79±0,05
	Set 2	11,6±0,01	5,80±0,03	0,45±0,05	19,4±0,13	0,9976±0,03	3,06±0,05	17±0,00	79±0,15
P40	Set 1	11,5±0,02	5,97±0,06	0,40±0,18	20,7±0,10	0,9976±0,01	2,97±0,16	17±0,23	79±0,08
	Set 2	12,2±0,13	6,12±0,11	0,46±0,10	20,9±0,05	0,9895±0,05	3,04±0,13	17±0,35	79±0,12
P41	Set 1	11,4±0,01	5,97±0,05	0,41±0,03	20,8±0,02	0,9976±0,14	2,97±0,07	17±0,15	79±0,00
	Set 2	11,5±0,05	5,80±0,13	0,44±0,14	19,4±0,01	0,9975±0,18	3,04±0,09	17±0,40	79±0,00
P42	Set 1	11,5±0,07	5,97±0,01	0,41±0,11	21,0±0,07	0,9975±0,05	2,97±0,14	17±0,07	79±0,24
	Set 2	11,5±0,05	5,80±0,07	0,44±0,03	19,6±0,18	0,9976±0,05	3,05±0,03	17±0,01	79±0,40
P43	Set 1	11,5±0,11	5,97±0,09	0,40±0,02	20,9±0,05	0,9974±0,01	2,97±0,18	17±0,23	79±0,03
	Set 2	12,2±0,01	6,12±0,13	0,36±0,07	20,7±0,10	0,9891±0,06	3,13±0,11	17±0,37	79±0,15
P44	Set 1	11,5±0,13	5,97±0,03	0,41±0,01	20,8±0,02	0,9974±0,03	2,96±0,05	17±0,12	79±0,07
	Set 2	11,6±0,05	5,8±0,011	0,43±0,13	19,6±0,05	0,9973±0,07	3,03±0,07	17±0,28	79±0,27
P45	Set 1	11,5±0,01	5,97±0,07	0,42±0,11	20,9±0,03	0,9976±0,06	2,97±0,13	17±0,08	79±0,00
	Set 2	11,5±0,04	5,80±0,05	0,45±0,01	19,7±0,10	0,9974±0,03	3,03±0,10	17±0,35	79±0,23

Pentru experimentul al doilea s-au monitorizat aceeași parametri studiați pentru experimentul I, prezentați în tabelele 7.4, 7.5., 7.6.

Concentrația alcoolică înregistrată în grupul P1-P15 este similară între probe, variațiile fiind reduse, între 11,3-11,6 pentru primul set de analize iar în cazul setului II de analize se observă modificări ale concentrațiilor de la 11,4-12,4 % vol.alc. datorită acțiunii levuriene întreprinse în corelație cu rezultatele microbiologice. În cazul probelor P16-P30, trendul este similar între celor două perioade de analize, respectiv 11,5-11,6 vol. alc. set I și 11,5-12,7 vol.alc. set II. În schimb, o stabilitate fizico-chimică se remarcă în cazul probelor P31-P45 tratate cu cea mai mare doză de SO₂ și DMDC , rezultând valori ale concentrației alcoolice cuprinse între 11,5-11,6 % vol. alcool.

Parametrul *aciditate totală* variază în cadrul ambelor grupuri P1-P15 și P16-P30 de la 5,81-6,12 g/L acid tartric, iar în cazul grupului P31-P45 de la 5,80-5,97 g/L acid tartric, variația fiind mai redusă comparativ cu primele două grupe de probe menționate.

Aciditatea volatilă se încadrează între limitele 0,35-0,40 g/L acid acetic pentru P1-P15, 0,38-0,48 g/L acid acetic pentru P16-P31 și 0,39-0,45 g/L acid acetic pentru P31-P45. În ceea ce privește acest parametru se observă că nu sunt diferențe semnificative între probe ceea ce demonstrează că tratamentele aplicate nu au avut un impact negativ în acest caz.

Concentrația de zaharuri din probele analizate prezintă diferențe semnificative între cele două seturi de analize. Inițial, concentrația zaharurilor pentru P1-P15 a variat de la 13,7-21,1 g/L zaharuri iar în al doilea set de analize acțiunea levurilor a determinat o scădere a concentrațiilor de până la 1,1 în unele probe. Aceeași constatare și în cazul probelor P16-P30, concentrația încadrându-se între 18,3-21,4 g/L zaharuri și scăzând în cazul unor probe până la 1,2 g/L zaharuri. În ceea ce privește probele P31-P45 se evidențiază o stabilitate în urma rezultatelor, variațiile fiind nesemnificative între cele două seturi de analize, respectiv 19,5-21 g/L zaharuri (set I) și 19,4-20,8 (set 2). Astfel, se poate constata că tratamentele cu 80 mg/L SO₂ și DMDC oferă stabilitate din punct de vedere fizico-chimic.

Rezultatele obținute în urma analizelor pentru stabilirea concentrațiile de SO₂ au înregistrat pentru grupa P1-P15 cu 20 mg/L SO₂ și/fără DMDC valori de 4 mg/L SO₂ liber pentru 14 probe, mai puțin pentru proba martor (P3) tratată și cu DMDC care a obținut valoarea 5 mg/L SO₂ liber. Pentru SO₂ total s-au obținut în acest caz valorile 19 și 20 mg/L. Pentru grupa probelor tratate în acest caz cu 40 mg/L SO₂ și DMDC (P16-P30) valorile pentru SO₂ liber au fost de 10 sau 11 mg/L și de 38 (P28), 39 și 40 mg/L SO₂ total. În schimb, pentru probele P31-P45, tratate cu 80 mg/L SO₂ și/fără DMDC valorile au fost de 17 sau 18 mg/L SO₂ liber și 79 sau 80 mg/L SO₂ total. În acest caz se observă că valorile au avut un trend descrescător minor, față de valorile inițiale ale tratamentelor administrate, stabilitatea din punct de vedere fizico-chimic fiind remarcată și în acest caz.

Rezultatele fizico-chimice ale probelor P1-P45 confirmă faptul că tratamentele cu 20/40 mg/L SO₂ și/fără DMDC variază de la o schemă de tratament la alta, iar cele obținute în urma tratamentului cu 80 mg/L SO₂ și DMDC oferă stabilitate fizico-chimică între parametrii studiați.

7.2. Cuantificarea compușilor volatili din vinurile obținute

Compușii volatili sunt compuși importanți ai vinului, compoziția lor determinând caracteristicile senzoriale a acestui aliment. În ceea ce privește originile lor, aromele pot fi clasificate în varietale, fermentative și de învechire. Compușii de aromă varietali din vin sunt în mare parte derivați din struguri, fiind extrași în timpul etapei de macerare. Procesul de fermentare poate produce, de asemenea, numeroși compuși volatili în vin, contribuind semnificativ la mirosurile de fermentație, și fiind cunoscuți sub denumirea de arome secundare. În timpul procesului de învechire al vinului (terțiare) se pot forma compuși de aromă printr-o serie de reacții, care ar putea îmbunătăți maturarea acestuia.

Compușii volatili de importanță majoră în definirea profilului senzorial al vinurilor sunt reprezentați în special de alcooli și acizi, dar și de un număr însemnat de esteri (acetatii de etil fiind cei mai comuni din motive kinetice) (Ribereau-Gayon ș.a., 2006). Compușii volatili identificați în variantele experimentale sunt reprezentați de acetaldehidă, acetat de etil, metanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, acetat de izoamil, 1-butanol, 2-pentanol și lactatul de etil (tabelele 7.7, 7.8, 7.9).

Acetaldehida, cunoscută și sub denumirea de etanal reprezintă un compus carbonilic volatil, care poate rezulta în urma activității levurilor în timpul proceselor biologice sau prin oxidarea vinului (Nykanen, 1986). Aceasta manifestă un rol semnificativ în ceea ce privește aroma vinului, culoarea și stabilitatea (Osborne ș.a., 2006). Compusul este instabil și poate reacționa cu aminoacizii pentru a produce compuși de aromă nedoriti (Griffith și Hammond, 1989). În cantități mici are aspecte pozitive, poate produce în vinul proaspăt fermentat note erbacee (iarbă verde) (Soldatenko, 2021), arome fructate sau nuci, dar excesul de acetaldehidă în concentrații de peste 125 mg/L produce iritații, modificări și mirosuri nedorite în vinuri (Miyake T. și Shibamoto T., 1993; Byrne și Howell, 2017).

Tratamentul cu dioxid de sulf este frecvent utilizat pentru inhibarea fermentației alcoolice realizată datorită acțiunii levurilor *Saccharomyces cerevisiae* și la producerea de băuturi cu rest de zaharuri. Cu toate acestea, SO₂ provoacă o schimbare metabolică a levurii active care duce la formarea acetaldehidei și are ca rezultat cerințe mai mari de conservare în urma adaosului de SO₂ în produsul final (Erhu-Li, 2020, Francois, 2020). Probele tratate cu 40 mg/L SO₂ și fără DMDC au înregistrat valori ale acetaldehidei cuprinse între 4,58 mg/L (V4) și 6,6 mg/L (V13). Variantele tratate cu 40 mg/L SO₂ și 100 mg/L DMDC au valori cuprinse între 4,37 mg/L (V2) și 12,27 mg/L (V14). Probele tratate cu 40 mg/L SO₂ și 200 mg/L DMDC cuprind valori în intervalul 4,53 mg/L (V6)-6,12 mg/L (V15). Probele tratate cu 80 mg/L SO₂, fără DMDC cuprind valori ale compusului în intervalul 18,49 mg/L (V25) și 27,44 mg/L (V28). Variantele tratate în plus cu 100 mg/L DMDC înregistrează valori cuprinse între 14,63 mg/L (V20) și 27,63 mg/L (V23). Probele tratate cu 200 mg/L DMDC se încadrează în intervalul 13,01 mg/L (V21) și 25,21 mg/L (V30). Vinurile obținute în urma adaosului de 160 mg/L SO₂ cuprind valori între 7,48 mg/L (V34) și 11,29 mg/L (V40). Vinurile tratate cu aceeași cantitate de SO₂ dar și cu 100 mg/L DMDC au înregistrat valori între 6,25 mg/L (V38) - 11,11 mg/L (V35). În plus, cele tratate cu aceeași doză de SO₂ dar cu 200 mg/L DMDC înregistrează valori cuprinse în intervalul 7,18 mg/L (V44) - 13,23 mg/L (V45). Probele tratate cu cele trei

concentrații diferite de SO₂, respectiv 40, 80, 160 mg/L și sau fără DMDC au înregistrat valori minime ale concentrației de acetaldehidă ceea ce demonstrează ca tratamentele aplicate nu au avut un efect negativ semnificativ asupra profilelor senzoriale ale variantelor analizate.

Diversi esteri, în special *acetatul de etil*, pot contribui la percepția senzorială a acidității volatile. Acetatul de etil este principalul ester produs de levuri și la intervale scăzute poate contribui la accentuarea aromelor „fructate” oferind totodată și complexitate vinului. Concentrația de acetat de etil variază de la aproximativ 30-60 mg/L la vinurile „curate”, până la aproximativ 150-200 mg/L la vinurile cu defecte (Ribereau-Gayon (1978). Factorii care pot influența formarea acetatului de etil de către levuri includ tulpina de levură utilizată, temperatura de fermentație și nivelurile de dioxid de sulf din vinuri. Ca și în cazul acidului acetic, levurile native sau sălbatice, cum ar fi *Hansenula* și *Kloeckera*, pot produce concentrații mari de acetat de etil înainte și în timpul etapelor de fermentare. S-a observat că dezvoltarea bacteriilor acidului acetic în prezența redusă a oxigenului poate duce la niveluri mai ridicate de acetat de etil. Percepția olfactivă a acetatului de etil poate fi diferită de la un vin la altul, în funcție de soiul de struguri (roșu sau alb) utilizat la producerea sa (Zoecklein, 2012). Cu toate acestea, conform lui Ribereau-Gayon (1978) acest compus poate avea efecte favorabile asupra aromei vinului dacă se găsește în concentrații sub 80 mg/L. De asemenea, este în mare măsură responsabil pentru proprietățile senzoriale negative, tipice acescenței (Plata ș.a., 2003) dacă concentrațiile depășesc 80 mg/L. Acetatul de etil a fost identificat în probele tratate cu 40 mg/L SO₂ și/fără DMDC ca având o concentrație cuprinsă între 56,65 mg/L (V3) și 120,93 mg/L (V1). Probele tratate cu 80 mg/L SO₂ și DMDC cuprind valori între 24,87 mg/L (V21) și 48,94 mg/L (V28). În ceea ce privește probele tratate cu cea mai mare cantitate de SO₂, 160 mg/L și DMDC concentrația compusului este cuprinsă între 21,71 mg/L (V38) și 47,19 mg/L (V43).

Metanolul este un lichid incolor cu miros caracteristic, miscibil în apă, cu punct de fierbere 65 °C și punct de topire -98 °C (FIVS, 2016). Este produs înainte și în timpul fermentației alcoolice din hidroliza pectinelor de către enzimele pectinazei - metil pectinesteraze care sunt prezente în mod natural în fructe. O cantitate mai mare de metanol poate fi produs atunci când mustul este supus macerării (în general mai mult în vinurile roșii decât în vinurile rosé sau albe). Conținutul de metanol din vinuri este strict reglementat de Organizația Internațională a Viei și Vinului (OIV) la < 400 mg/ L pentru vinurile roșii și < 250 mg/L pentru vinul alb sau rosé (OIV, 2019). Cantitățile de metanol din vin depind de mai mulți factori, cum ar fi: soiul de struguri (Ribereau-Gayon ș.a., 2006), starea de sănătate a strugurilor, temperatura de fermentație, tratamentul de macerare și diferite tratamente aplicate în procesul de vinificație (Cabaroğlu, 2005). Probele tratate cu 40 mg/L SO₂ și fără DMDC înregistrează valoarea minimă a conținutului de metanol de 52,11 la V7 iar valoarea maximă de 76,97 mg/L la V13. În schimb, probele tratate cu 100 mg/L DMDC înregistrează valoarea cea mai mică de 93,44 mg/L la V20 și cea mai mare de 121,09 mg/L la V14, iar cele tratate cu 200 mg/L DMDC cuprind valori între 115,87 mg/L (V12) - 160,2 mg/L (V40). În ceea ce privește

tratamentul cu 80 mg/L SO₂ fără adaos de DMDC, proba (V25) conține 51,07 mg/L iar (V28) conține 64,52 mg/L metanol. Variantele la care s-a administrat în plus și 100 mg/L DMDC cuprind valori încadrate între 92,43 mg/L (V20) și 102,02 mg/L (V23). Vinurile la care s-a administrat 40 mg/L SO₂ și 200 mg/L DMDC înregistrează un interval cuprins între 95,93 mg/L (V21) - 155,71 mg/L (V30). Adaosul de 160 mg/L dioxid de sulf formează metanol în vinuri în concentrație de 47,04 (V34) și 69,02 la (V43). Adaosul de 100 mg/L DMDC la aceeași cantitate de dioxid de sulf formează 69,64 mg/L metanol (V44) și 100,95 mg/L (V41). În schimb, în urma aplicării tratamentului cu 200 mg/L DMDC se observă o creștere a conținutului în metanol de la 119,75 mg/L (V36) și până la 148,82 mg/L metanol (V39). Trendul crescător al concentrației de metanol din probele analizate se datorează hidrolizei DMDC-ului în metanol și dioxid de carbon. Cu toate acestea, concentrațiile rezultate în urma aplicării acestui tratament se încadrează în limita admisă în vinurile albe, și anume de 250 mg/L metanol (OIV, 2019), motiv pentru care probele analizate sunt echilibrate și nu pot fi considerate ca fiind periculoase pentru sănătatea consumatorilor.

Acetatul de izoamil este obținut în urma acțiunii levurilor din timpul fermentării. Concentrația formată este dependentă de tipul de levură utilizată. Macerarea carbonică, aerarea mustului și claritatea au de asemenea, o influență asupra cantităților de compus formate. Compusul imprimă note de banane, fructe tropicale în special în vinurile albe dar și în cele roșii. Când este prezent în exces, poate masca caracterele cheie, specifice soiurilor de struguri din care este obținut vinul. Acetatul de izoamil este evidențiat prin cantități relativ mici în toate cele trei combinații de tratamente administrate, mai exact în probele tratate doar cu 40 mg/L SO₂ sau și cu DMDC a înregistrat valori cuprinse între 3,4 mg/L (V6,V7) și 3,54 mg/L (V1). În ceea ce privește tratamentul cu doza de 80 mg/L SO₂ și cu/fără DMDC s-au obținut valori minime cuprinse între 3,29 mg/L (V25) și 3,5 mg/L (V30). De asemenea, la variantele cu 160 mg/L SO₂ și/fără DMDC diferențele au fost minime, 3,41 mg/L (V32) și 3,56 mg/L (V43).

1-Propanol s-a identificat în probele tratate cu 40 mg/L SO₂ și cu/fără DMDC în concentrație variate de la 26,63 mg/L (V4) și 37,15 mg/L (V8). La tratamentul cu 80 mg/L SO₂ fără/cu DMDC compusul înregistrează valori cuprinse în intervalul 24,85 mg/L (V21) – 34,26 mg/L (V18). Cea mai mare doză de 160 mg/L SO₂ fără/cu DMDC indică diferențe similare cu celelalte doze administrate, respectiv 24,09 mg/L (V44) și 36,77 mg/L (V39). Acest compus are o influență din punct de vedere organoleptic conferind vinului note fructate (banană).

2 Metil-1-propanol s-a detectat în variantele tratate cu 40 mg/L SO₂ și fără/cu DMDC într-un interval cuprins între 21,41 mg/L (V6) și 29,53 mg/L (V14). La variantele 80 mg/L SO₂ fără/cu DMDC s-au obținut valori de la 19,78 mg/L (V21) până la 26,89 mg/L (V18). Cea mai mare doză de 160 mg/L SO₂ fără/cu DMDC indică concentrații variabile de la 18,87 mg/L (V38) până la 25,12 mg/L (V43). Compusul se remarcă în vinificație din punct de vedere organoleptic conferind vinului note fructate (fructe verzi).

1-Butanol a înregistrat valori relativ mici în toate schemele de tratament prezentate. Mai exact, în vinurile tratate cu 40 mg/L SO₂ și fără/cu DMDC se găsește în concentrație

cuprinsă între 1,07 mg/L (V12) și 1,36 mg/L (V8). În cazul tratamentului cu 80 mg/L SO₂ fără/cu DMDC intervalul este de 1,06 mg/L (V24) și 1,19 mg/L (V30). Tratamentul cu cea mai mare doză de 160 mg/L SO₂ fără/cu DMDC indică un interval cuprins între 1,03 mg/L (V44) și 1,27 mg/L (V39). Acest compus conferă vinului note fructate, tropicale de banane în special.

Lactatul de etil caracterizat printr-o aromă de unt, de lapte sau cu nuanțe fructate poate fi considerat un caz special deoarece prezența sa este legată de fermentația malolactică și implicarea unor enzime de origine bacteriană precum esteraza. Având în vedere faptul că în procesul tehnologic de obținere a vinurilor roșii, fermentația malolactică este un proces benefic care determină diminuarea astringenței, atribuind un gust mai fin și mai catifelat. Ajută la obținerea unor vinuri armonioase. În cazul vinurilor albe acest proces nu este dorit, deoarece determină o scădere a acidității, implicit și o destructurare a vinurilor. Potrivit lui Torrens ș.a., 2010 și Riu-Aumatell ș.a., 2006, compusul este considerat ca fiind un „ester de învechire” iar concentrația sa crește în urma activității celulelor de levuri în timpul celei de-a doua fermentații. Lactatul de etil s-a evidențiat prin diferențe mari, doar în cazul probelor tratate cu 40 mg/L SO₂ și DMDC, mai exact 34,25 mg/L (V12) și 94,59 (V2). La variantele tratate cu 80 mg/L SO₂, diferențele sunt reduse, 17,45 mg/L (V23) și 22,31mg/L (V26). Rezultate similare s-au obținut și la vinurile tratate cu 160 mg/L SO₂ fără/cu DMDC, 17,63 mg/L (V31) și 23,27 (V40) mg/L. Administrarea tratamentelor s-a dovedit a fi benefică pentru variantele analizate evidențiind încadrarea concentrațiilor compușilor volatili în limitele legislative și de asemenea stagnarea creșterii excesive a compușilor care pot deprecia vinurile. Astfel, se demonstrează eficacitatea tratamentelor cu dioxid de sulf și dimetildicarbonat, care au asigurat stabilitate vinurilor și au inhibat dezvoltarea microorganismelor patogene din vinurile studiate.

Analiza Componentelor Principale, a evidențiat corelațiile pozitive existente între variabile, la un interval de încredere de 95 % (de exemplu, acetaldehidă - acetat de etil - metanol - 1-propanol - 2-metil-1-propanol - acetat de izoamil - 1-butanol - lactat de etil), dar și a asemănărilor și respectiv a deosebirilor dintre unitățile statistice (probele prelevate) luând în considerare variabilele menționate anterior ($r > 0,8$). În urma testării ipotezei de independență dintre variabile, (testele KMO și Bartlett), valoarea probabilității asociate statisticii test calculate (Sig.) este mai mică de 0,05, ceea ce înseamnă că se respinge ipoteza nulă, de independență. Astfel, cu o probabilitate garantată de 95 % se poate afirma că există legături statistice semnificative între variabile. Având în vedere că valoarea obținută (tabelul 7.11) este egală cu 0,657, deci mai mare de 0,05, atunci aplicarea acestor teste este relevantă pentru analiza compușilor volatili studiați.

Tabelul 7.7/Table 7.7

Cuantificarea principalilor compușilor volatili din variantele tratate cu 40 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
 Quantification of main volatile compounds in 40 mg/L SO₂ treated variants with/without DMDC

Variante	Acetaldehidă mg/L	Acetat de etil mg/L	Metanol mg/L	1-Propanol mg/L	2-Metil-1-propanol mg/L	Acetat de izoamil mg/L	1-Butanol mg/L	Lactat de etil mg/L
V1	5,92±0,01	120,93±0,13	58,67±0,15	28,41±0,2	22,64±0,08	3,54±0,19	1,17±0,07	85,5±0,16
V2	4,37±0,12	80,61±0,16	100,08±0,14	35±0,07	28,46±0,08	3,57±0,15	1,31±0,18	94,59±0,08
V3	5,48±0,08	56,63±0,04	119,38±0	28,86±0,13	22,82±0,16	3,41±0,2	1,21±0,05	53,55±0,01
V4	4,58±0,18	80,73±0,01	53,92±0,04	4,37±0,12	20,87±0,02	3,42±0,15	1,13±0,19	58,94±0,01
V5	5,10±0,03	53,84±0,05	107,31±0,19	35,65±0,07	27,81±0,18	3,37±0,01	1,24±0,08	60,59±0,08
V6	4,53±0,01	67,33±0,03	117,57±0,04	27,61±0,05	21,41±0,16	3,4±0,12	1,19±0,13	63,56±0,2
V7	5,27±0,07	58,42±0,12	52,11±0,06	28,07±0,15	22,43±0	3,4±0,19	1,17±0,06	83,31±0,08
V8	5,99±0,19	94,2±0,08	118,66±0,2	37,15±0,01	28,98±0,18	3,52±0,12	1,36±0,18	93,62±0,07
V9	7,70±0,08	95,71±0,15	160,2±0,04	34,78±0,19	26,48±0,05	3,45±0,2	1,28±0,16	95,01±0,08
V10	6,01±0,15	50,89±0,19	63,43±0,08	30,79±0,02	23,43±0,01	3,26±0,04	1,13±0,15	52,13±0,13
V11	5,85±0,2	78,81±0,01	93,44±0,12	30,44±0,2	24,03±0,08	3,41±0,18	1,19±0,01	60,67±0,12
V12	6,01±0,04	40,81±0,15	115,87±0,08	27,85±0,07	21,94±0,01	3,34±0,13	1,07±0,05	34,25±0,16
V13	6,6±0,05	78,13±0,08	76,97±0,12	36,45±0	28,66±0,19	3,41±0,16	1,20±0,04	47,78±0,07
V14	12,27±0,16	68,61±0,01	121,09±0,01	37,9±0,08	29,53±0,18	3,31±0,08	1,21±0,12	44,23±0,01
V15	6,12±0,13	60,17±0,05	126,32±0,08	28,81±0,15	22,46±0,12	3,41±0,18	1,12±0,19	39,42±0,08

Tabelul 7.8/Table 7.8

Determinarea principalilor compușilor volatili din variantele tratate cu 80 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
Quantification of main volatile compounds in 80 mg/L SO₂ treated variants with/without DMDC

Variante	Acetaldehidă mg/L	Acetat de etil mg/L	Metanol mg/L	1-Propanol mg/L	2-Metil-1-propanol mg/L	Acetat de izoamil mg/L	1-Butanol mg/L	Lactat de etil mg/L
V16	19,89±0,12	40,91±0,09	63,34±0,11	30,93±0,07	24,03±0,14	3,43±0,05	1,11±0,13	18,05±0,04
V17	21±0,03	41,6±0,02	101,66±0,05	33,46±0,13	26,09±0,09	3,44±0,11	1,16±0,07	20,37±0,15
V18	19,05±0,14	38,98±0,07	137±0,12	34,26±0,11	26,89±0,04	3,48±0,14	1,16±0,07	20,18±±0,09
V19	20,39±0,09	37,45±0,06	60,3±0,03	29,63±0,09	22,43±0,15	3,4±0,05	1,09±0,13	19,09±0,02
V20	14,63±0,07	30,13±0,04	92,43±0,13	32,64±0,09	25,66±0,03	3,46±0,11	1,2±0,07	19,38±0,14
V21	13,01±0,11	24,87±0,03	95,93±0,05	24,85±0,11	19,78±0,07	3,35±0,12	1,07±0,13	17,9±0,09
V22	26,21±0,05	44,68±0,15	67,51±0,09	33,55±0,14	25,67±0,09	3,39±0,11	1,14±0,07	19,89±0,03
V23	27,93±0,13	47,09±0,04	102,02±0,09	31,47±0,11	24,57±0,07	3,35±0,14	1,11±0,05	17,45±0,12
V24	16,59±0,04	30,54±0,05	111,87±0,04	28,27±0,04	21,98±0,03	3,37±0,11	1,06±0,09	18,76±0,14
V25	18,49±0,02	26,83±0,04	51,07±0,15	27,43±0,11	21,53±0,07	3,29±0,12	1,08±0,09	18,72±0,11
V26	20,88±0,06	38,28±0,05	97,24±0,03	32,17±0,09	24,9±0,14	3,41±0,15	1,13±0,04	22,31±0,15
V27	20,37±0,16	40,48±0,13	137,12±0,07	32,44±0,12	25,11±0,09	3,4±0,11	1,14±0,03	20,97±0,05
V28	27,44±0,18	48,94±0,15	64,52±0,09	30,63±0,11	23,71±0,09	3,43±0,07	1,09±0,14	19,04±0,08
V29	24,47±0,09	45,76±0,12	101,22±0,03	31,83±0,04	24,58±0,13	3,45±0,11	1,13±0,09	18,29±0,07
V30	25,21±0,15	47,2±0,09	155,71±0,07	36,82±0,11	28,42±0,14	3,5±0,05	1,19±0,12	22,22±0,03

Tabelul 7.9/Table 7.9

Determinarea principalilor compușilor volatili din variantele tratate cu 160 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
 Quantification of main volatile compounds in 160 mg/L SO₂ treated variants with/without DMDC

Variante	Acetaldehidă mg/L	Acetat de etil mg/L	Metanol mg/L	1-Propanol mg/L	2-Metil-1-propanol mg/L	Acetat de izoamil mg/L	1-Butanol mg/L	Lactat de etil mg/L
V31	10,7±0,12	39,38±0,03	60,87±0,15	30,18±0,09	23,31±0,08	3,46±0,07	1,11±0,14	17,63±0,011
V32	10,34±0,03	38,04±0,12	87,66±0,08	28,23±0,03	22,14±0,15	3,41±0,011	1,14±0,09	18,82±0,16
V33	10,73±0,09	36,55±0,07	121,79±0,011	28,82±0,14	21,93±0,09	3,42±0,03	1,11±0,15	19,62±0,08
V34	7,48±0,15	27,58±0,08	47,04±0,16	27,21±0,12	22,06±0,07	3,44±0,011	1,08±0,02	17,7±0,14
V35	11,11±0,08	36,23±0,15	94,95±0,011	30,6±0,03	23,45±0,09	3,48±0,08	1,16±0,07	20,52±0,16
V36	9,89±0,07	32,2±0,14	119,75±0,07	28,14±0,08	21,72±0,15	3,43±0,12	1,09±0,03	20,27±0,09
V37	9,51±0,14	39,65±0,16	64,93±0,15	30,2±0,03	23,3±0,011	3,5±0,07	1,12±0,08	25±0,14
V38	6,25±0,06	21,71±0,09	70,08±0,08	24,45±0,15	18,87±0,07	3,37±0,03	1,06±0,12	20,89±0,011
V39	10,93±0,02	45,9±0,03	148,82±0,07	36,77±0,14	28,79±0,09	3,54±0,15	1,27±0,08	22,19±0,16
V40	11,29±0,13	41,46±0,15	59,69±0,16	27,11±0,03	20,54±0,08	3,45±0,07	1,09±0,09	23,27±0,12
V41	9,23±0,16	42,44±0,02	100,95±0,09	32,31±0,07	24,99±0,14	3,52±0,011	1,13±0,15	19,8±0,03
V42	8,7±0,09	39,86±0,15	124,25±0,02	30,25±0,011	23,71±0,03	3,55±0,12	1,1±0,09	19,19±0,08
V43	11,19±0,1	47,19±0,03	69,02±0,16	32,5±0,09	25,12±0,08	3,56±0,15	1,16±0,07	20,39±0,14
V44	7,18±0,09	31,04±0,15	69,64±0,011	24,09±0,03	19,16±0,12	3,42±0,07	1,03±0,09	18,16±0,08
V45	13,23±0,011	41,22±0,12	146,69±0,16	33,42±0,08	25,19±0,03	3,47±0,15	1,16±0,06	20,92±0,07

Tabelul 7.10/Table 7.10

Corelația Pearson pentru evoluția compușilor volatili din probele experimentului I (V1-V45)
 Pearson correlation for the evolution of volatile compounds in the experiment I samples (V1-V45)

Variabile	Acetaldehida	Acetat de etil	Metanol	1-Propanol	2-Metil-1-propanol	Acetat de izoamil	1-Butanol	Lactat de etil
Acetaldehida	1,000	- 0,379	0,051	0,227	0,181	- 0,104	- 0,256	- 0,574
Acetat de etil	- 0,379	1,000	0,092	0,345	0,377	0,249	0,659	0,867
Metanol	0,051	0,092	1,000	0,486	0,464	0,185	0,424	0,074
1-Propanol	0,227	0,345	0,486	1,000	0,990	0,304	0,744	0,220
2-Metil-1-propanol	0,181	0,377	0,464	0,990	1,000	0,325	0,772	0,268
Acetat de izoamil	- 0,104	0,249	0,185	0,304	0,325	1,000	0,389	0,112
1-Butanol	- 0,256	0,659	0,424	0,744	0,772	0,389	1,000	0,694
Lactat de etil	- 0,574	0,867	0,074	0,220	0,268	0,112	0,694	1,000

Tabelul 7.11/Table 7.11

Rezultatele indicelui KMO și a testului Bartlett
 Results of KMO and Bartlett's test

Indicele KMO-Kaiser-Meyer-Olkin și testul Bartlett	0,657
Valoarea aproximativă a lui Chi pătrat	366,012
Numărul gradelor de libertate (df)	28
Sig.	0,000

Valorile proprii ale matricei corelațiilor și varianța explicată de axele factoriale pot fi analizate în tabelul 7.12.

Tabelul 7.12/Table 7.12

Analiza componentelor principale - Varianța totală
Principal component analyses - Total variance

Componente	Valorile inițiale ale vectorilor proprii			Suma pătratelor factorilor reținuți		
	Total	% din varianța totală	Cumulativ %	Total	% din varianța totală	Cumulativ %
1	3,792	47,396	47,396	3,792	47,396	47,396
2	1,992	24,903	72,299	1,992	24,903	72,299
3	0,869	10,860	83,159			
4	0,747	9,338	92,498			
5	0,394	4,928	97,426			
6	0,147	1,843	99,269			
7	0,050	0,627	99,896			
8	0,008	0,104	100,000			

Numărul de axe factoriale care se interpretează în cazul datelor este egal cu 2, deoarece conform criteriului lui Kaiser, sunt interpretate acele axe factoriale pentru care valorile proprii sunt mai mari decât valoarea 1 (valorile proprii se regăsesc în a doua coloană a tabelului). Astfel, în urma aplicării analizei în componente principale, au fost extrase 8 componente principale, care au însumat 72,99 % dint varianța totală, fiind utilizate 2 axe factoriale. În figura 7.1, 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. Corelații negative s-au obținut între perechile de compuși: lactat de etil – acetaldehida; acetat de etil– acetaldehida; 1-butanol – acetaldehida.

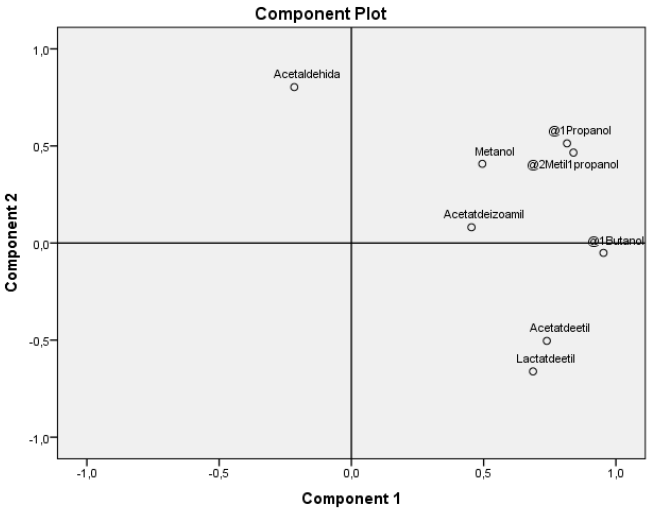


Figura 7.1 Reprezentarea grafică a variabilelor în sistemul primelor două axe factoriale
Figure 7.1 Graphical representation of variables in the system of the first two factorial axes

În figura 7.2 se pot observa dispunerea grupurilor omogene în sistemul axelor factoriale, evidențiindu-se o corelație pozitivă între majoritatea variantelor experimentale studiate.

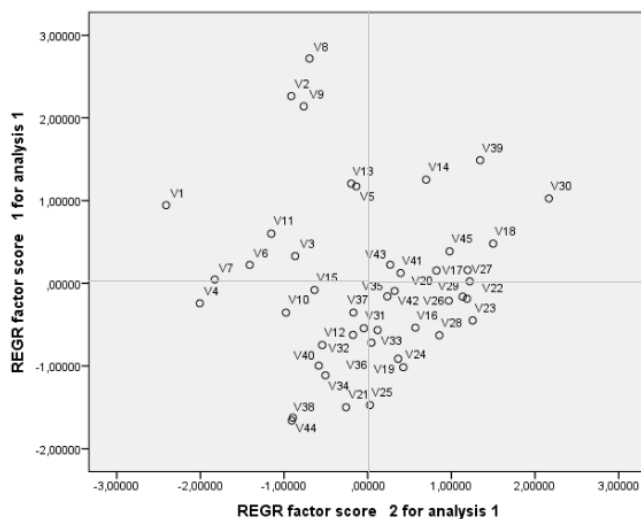


Figura 7.2 Reprezentarea unităților statistice a variantelor experimentului I (V1-V45) în sistemul celor două axe factoriale

Figure 7.2 Representation of the statistical units of the variants of experiment I (V1-V45) in the system of the two factorial axes

În urma cuantificării compușilor volatili identificați în probele experimentului II se pot observa și în acest caz diferențe între valorile obținute în urma aplicării tratamentelor în doze diferite (20, 40, 80 mg/L SO₂ și 0, 100, 200 DMDC). De asemenea, levurile *Brettanomyces bruxellensis* și *Saccharomyces cerevisiae* inoculate au avut un impact asupra unor compuși studiați (acetaldehidă, acetat de etil, metanol, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, acetat de izoamil, 1-butanol, lactat de etil și în plus, față de compușii identificați în variantele experimentului I, 1-pentanol).

În cazul probelor în care s-a administrat doar 20 mg/L SO₂, s-au înregistrat concentrații ale acetaldehidei cuprinse între 4,07 mg/L (P7)-16,79 mg/L (P1-vinul bază). În probele tratate în plus cu 100, respectiv 200 mg/L DMDC se pot observa diferențe între concentrații, respectiv 3,93 mg/L (P3)-22,03 mg/L (P6). Probele tratate doar cu 40 mg/L SO₂ au prezentat valori între 7,38 mg/L (P22)-22,63 mg/L (P19) iar în cazul celor tratate cu 100 mg/L DMDC, valorile au variat de la 12,06 (P23) la 19 mg/L (P26). În urma tratamentului cu 200 mg/L DMDC s-a evidențiat un trend descendent, diferit față de probele tratate doar cu 40 mg/L SO₂, mai exact, concentrații cuprinse între 2,81 mg/L-5,83 mg/L (P30). Probele tratate cu 80 mg/L SO₂ și fără DMDC au prezentat valori ale acetaldehidei între 54,89 mg/L (P1)-155,40 mg/L (P43), valorile cele mai mari din această categorie înregistrându-se la probele cu inocul de 100 UFC/mL *Brettanomyces bruxellensis*-120,97 mg/L (P37) și la probele cu inocul de 100 UFC/mL *Saccharomyces cerevisiae*-155,40 (P43). Rezultate similare au fost confirmate și în studiile realizate de Fleet și Heard, 1993; Romano ș.a., 1994, capacitatea de a produce acetaldehidă fiind o

proprietate a diferitelor levuri din vinuri, iar cercetările anterioare indică faptul că tulpinile de *Saccharomyces cerevisiae* produc niveluri relativ ridicate de acetaldehidă, de la 50 până la 120 mg/L sau mai mult, în funcție de structura vinului, numărul de microorganisme și tratamentele aplicate. De asemenea, pentru a reduce toxicitatea dioxidului de sulf, levurile folosesc mai multe mecanisme, cum ar fi creșterea producției de acetaldehidă pentru a se lega de SO₂ și astfel reducerea fracției libere (Cisilotto ș.a., 2021).

Acetatul de etil s-a identificat în toate cele 45 probe după cum urmează: în probele cu 20 mg SO₂ și/fără DMDC, 20,74 mg/L (P4)-41,86 (P1), în cele cu 40 mg/L SO₂ și/fără DMDC, 16,43 (P22)-39,23 (P17), respectiv cu 80 mg/L SO₂ și/fără DMDC, 21,12 (P41)-43,21 (P43).

În cazul metanolului se înregistrează diferențe majore între variantele cu dioxid de sulf și cele cu dioxid și dimetildicarbonat, similar cu efectul manifestat și în cazul primului experiment. Concentrațiile metanolului din probele cu 20 mg/L SO₂ fără DMDC se încadrează între 7,41 (P13)-12,58 (P4). Probele tratate în plus cu 100 mg/L DMDC înregistrează valori mai mari comparative cu primul set de probe fără DMDC și anume, 19,05 (P5)-23,30 (P8) iar cele cu 200 mg/L DMDC fluctuează între 35,04 (P9)-43,07 (P12). În probele cu 40 mg/L SO₂, fără DMDC, concentrația metanolului variază de la 7,48 (P16)-11,41 (P25), iar în ceea ce privește adaosul maxim de 200 mg/L DMDC se observă de asemenea o creștere a concentrațiilor, 32,03 (P21)-39,01 (P24). În urma adaosului de 80 mg/L SO₂ fără DMDC, s-au obținut valori între 6,62 (P40)-8,33 (P31), în probele cu 100 DMDC, concentrațiile se încadrează între 22,02 (P35)-39,23 (P38) iar în cele cu 200 mg/L DMDC s-au obținut valori ale concentrațiilor între 38,23 (P45)-44,76 (P39). Rezultatele obținute în cazurile probelor cu DMDC se încadrează în limita admisă de legislațiile în vigoare, concentrațiile mai mari rezultând în urma hidrolizei DMDC-ului în metanol și dioxid de carbon (valorile au crescut proporțional cu doza de DMDC).

În ceea ce privește compușii precum 1-propanol, 2-metil-1-propanol, acetat de izoamil și 1-butanol se poate remarca în tabelele 7.6., 7.7., 7.8., că valorile înregistrate sunt reduse, similare între grupele analizate (prima grupă P1-P15-20mg/L SO₂ și DMDC, a doua grupă P16-P30-40 mg/L SO₂ și DMDC și a treia grupă P31-P45 mg/L SO₂ și DMDC).

1-propanol s-a evidențiat în toate cele 45 de probe analizate cu valori reduse, astfel că probele cu 20 mg/L SO₂ și/fără DMDC au înregistrat valori cuprinse între 3,76 (P3)-5,26 (P10), cele cu 40 mg/L SO₂ și/fără DMDC valori între 3,59 (P21, P27)-4,63 (P43) și de asemenea, cu valori similare s-a remarcat și grupa probelor tratate cu 80 mg/L SO₂ și DMDC, 3,40 (P41)-4,96 (P43). Fiind obținute valori reduse ale acestui compus, se constată că nu va avea efecte negative asupra profilului senzorial al probelor.

În ceea ce privește 2-metil-1-propanolul s-a observat că în probele cu 20,40,80 mg/L SO₂ și/fără DMDC s-au înregistrat valori cu diferențe minime și anume, 6,33 (P10)-9,47(P1), 6,66 (P21)-8,70 (P19), respectiv 6,45 (P37)-8,35 (P43).

Valorile înregistrate în cazul acetatului de izoamil s-au încadrat între 0,76 (P10)-0,82 (P1) pentru grupa probelor cu 20 mg/L SO₂ și/fără DMDC, 0,77 (P22)-0,83 (P28)

pentru grupa cu 40 mg/L SO₂ și DMDC și 0,80 (P33, P35, P39, P41, P44)-0,91 (P37) pentru cea de-a treia grupă cu 80 mg/L SO₂ și DMDC.

1-butanol s-a remarcat prin valori reduse , astfel că prima grupă de probe s-a remarcat prin valori încadrate între 0,26 (P5, P9, P13)-0,31 (P1), a doua grupă între 0,25 (P26)-0,31 (P20) și în a treia grupă 0,21 (P40)-0,33 (P43).

Lactatul de etil s-a evidențiat prin valori cuprinse între 39,20 P5-81,94 P2 în variantele primei grupe analizate, în cele din grupa a doua 30,86 (P17)-67,69 (P22), și în a treia grupă 25,19 (P40)-66,57 (P33).

1-pentanol a fost identificat în probele P1-P15 cu valori cuprinse între 0,22 (P4)-9,01 (P9), în probele P16-P30 cu valori între 3,14 (P22)-10,21 (P21) și în probele P31-P45, 1,15 (P42)-7,56 (P31).

În corelație cu Tabelul 7.16. și conform analizei în componente principale (figura 7.3) 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; acetaldehida-1-pentanol; metanol-acetat de izoamil, metanol-acetat de etil, 1-pentanol-2-metil-1-propanol etc. În vederea testării ipotezei de independență dintre variabile, softul SPSS furnizează valoarea indicelui KMO și testul Bartlett. Valoarea probabilității asociate statisticii test calculate sigma (sig. este mai mică de 0,05), ceea ce înseamnă că se respinge ipoteza nulă, ipoteza de independență, astfel, cu o probabilitate garantată de 95 % se poate afirma că există legături statistice semnificative între variabilele reprezentate de compușii volatili identificați și că se poate aplica ACP asupra datelor și în acest caz.

Tabelul 7.13/Table 7.13

Cuantificarea principalilor compușilor volatili din probele tratate cu 20 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
 Quantification of main volatile compounds in 20 mg/L SO₂ treated variants with/without DMDC

Probe	Acetaldehidă mg/L	Acetat de etil mg/L	Metanol mg/L	1-Propanol mg/L	2-Metil-1-propanol mg/L	Acetat de izoamil mg/L	1-Butanol mg/L	Lactat de etil mg/L	1-Pentanol mg/L
P1	16,79±0,02	41,86±0,16	9,49±0,21	4,92±0,03	9,47±0,17	0,82±0,05	0,31±0,09	52,38±0,11	0,52±0,24
P2	11,34±0,21	26,61±0,13	21,87±0,05	4,13±0,09	7,16±0,11	0,80±0,03	0,28±0,12	81,94±0,02	0,50±0,16
P3	3,93±0,17	26,79±0,12	37,51±0,03	3,76±0,02	7,03±0,05	0,80±0,17	0,27±0,09	52,66±0,11	0,48±0,21
P4	4,33±0,03	20,74±0,11	12,58±0,21	5,19±0,17	8,52±0,09	0,79±0,03	0,30±0,02	60,95±0,05	0,22±0,12
P5	11,26±0,05	25,59±0,15	19,05±0,24	3,86±0,16	6,78±0,11	0,80±0,21	0,26±0,09	39,20±0,12	0,53±0,03
P6	22,03±0,09	30,41±0,12	37,19±0,03	4,16±0,09	7,37±0,05	0,81±0,24	0,29±0,11	50,70±0,17	0,53±0,02
P7	4,07±0,11	33,88±0,05	8,94±0,17	4,81±0,11	8,47±0,02	0,88±0,03	0,29±0,02	54,47±0,09	7,50±0,21
P8	12,83±0,24	30,54±0,09	23,30±0,02	4,03±0,21	7,12±0,03	0,81±0,17	0,28±0,05	51,01±0,02	8,52±0,11
P9	11,21±0,20	26,14±0,13	35,04±0,11	4,27±0,15	7,46±0,05	0,81±0,21	0,26±0,09	51,26±0,16	9,01±0,17
P10	5,38±0,16	7,45±0,17	9,34±0,09	5,26±0,21	6,33±0,24	0,76±0,03	0,27±0,11	67,87±0,05	4,32±0,03
P11	16,00±0,12	30,25±0,02	22,61±0,05	3,99±0,03	6,85±0,11	0,80±0,09	0,27±0,17	46,61±0,12	7,29±0,16
P12	14,69±0,25	33,50±0,09	43,07±0,21	4,48±0,16	7,76±0,02	0,81±0,24	0,28±0,03	74,50±0,05	6,24±0,17
P13	6,27±0,13	26,62±0,02	7,41±0,17	4,11±0,03	6,70±0,05	0,80±0,09	0,26±0,02	43,13±0,11	7,68±0,21
P14	11,04±0,06	27,78±0,02	22,03±0,21	4,13±0,09	7,12±0,17	0,80±0,03	0,28±0,16	54,19±0,05	8,90±0,02
P15	18,45±0,15	32,38±0,03	36,91±0,11	4,04±0,24	6,97±0,05	0,81±0,21	0,28±0,02	49,94±0,09	8,60±0,17

Tabelul 7.14/Table 7.14

Determinarea principalilor compușilor volatili din probele tratate cu 40 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
 Quantification of main volatile compounds in 40 mg/L SO₂ treated variants with/without DMDC

Probe	Acetaldehidă mg/L	Acetat de etil mg/L	Metanol mg/L	1-Propanol mg/L	2-Metil-1-propanol mg/L	Acetat de izoamil mg/L	1-Butanol mg/L	Lactat de etil mg/L	1-Pentanol mg/L
P16	13,91±0,04	27,31±0,02	7,48±0,21	4,16±0,03	8,15±0,09	0,82±0,11	0,27±0,17	39,49±0,16	8,07±0,05
P17	18,32±0,01	39,13±0,17	24,23±0,05	4,44±0,11	7,61±0,24	0,82±0,02	0,29±0,21	30,86±0,09	7,67±0,03
P18	3,19±0,18	27,45±0,16	36,58±0,21	3,81±0,09	7,14±0,05	0,80±0,03	0,27±0,17	49,63±0,11	9,05±0,12
P19	22,63±0,23	38,86±0,12	9,56±0,03	4,62±0,16	8,70±0,21	0,81±0,09	0,27±0,11	66,50±0,24	6,30±0,05
P20	13,10±0,06	29,65±0,21	24,81±0,02	4,22±0,03	7,39±0,17	0,80±0,05	0,31±0,12	62,05±0,02	7,03±0,09
P21	2,81±0,05	23,51±0,09	32,03±0,13	3,59±0,15	6,66±0,02	0,80±0,21	0,26±0,03	34,93±0,11	10,21±0,01
P22	7,38±0,03	16,43±0,11	9,90±0,15	4,63±0,05	8,26±0,17	0,77±0,09	0,27±0,16	67,69±0,12	3,14±0,02
P23	12,06±0,24	28,32±0,16	24,26±0,02	4,24±0,09	7,33±0,12	0,80±0,05	0,28±0,17	56,53±0,05	7,23±0,03
P24	3,58±0,11	28,26±0,21	39,01±0,17	3,84±0,03	7,20±0,05	0,80±0,24	0,27±0,02	50,71±0,09	7,37±0,13
P25	12,29±0,02	28,81±0,02	11,41±0,12	4,55±0,25	7,75±0,11	0,82±0,03	0,28±0,16	49,84±0,21	4,83±0,05
P26	19,00±0,09	29,43±0,03	22,17±0,17	3,88±0,05	6,88±0,24	0,80±0,12	0,25±0,02	58,26±0,11	7,49±0,21
P27	4,05±0,05	30,77±0,13	36,95±0,12	3,59±0,15	6,89±0,21	0,79±0,11	0,29±0,09	47,00±0,24	6,56±0,02
P28	8,71±0,02	27,03±0,09	7,88±0,21	4,20±0,11	7,53±0,16	0,83±0,05	0,26±0,17	47,77±0,13	7,40±0,03
P29	15,10±0,25	34,91±0,15	24,66±0,24	4,39±0,03	7,63±0,02	0,81±0,12	0,28±0,11	65,03±0,05	7,71±0,09
P30	5,83±0,17	25,90±0,21	36,26±0,05	4,06±0,12	7,12±0,13	0,80±0,09	0,26±0,24	58,08±0,02	7,78±0,03

Tabelul 7.15/Table 7.15

Determinarea principalilor compușilor volatili din probele tratate cu 80 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
 Quantification of main volatile compounds in 80 mg/L SO₂ treated variants with/without DMDC

Probe	Acetaldehidă mg/L	Acetat de etil mg/L	Metanol mg/L	1-Propanol mg/L	2-Metil-1-propanol mg/L	Acetat de izoamil mg/L	1-Butanol mg/L	Lactat de etil mg/L	1-Pentanol mg/L
P31	54,89±0,21	32,30±0,03	8,33±0,02	4,29±0,11	7,42±0,09	0,81±0,16	0,28±0,05	51,35±0,13	7,56±0,17
P32	3,79±0,09	31,11±0,17	38,86±0,05	3,78±0,24	7,08±0,21	0,81±0,12	0,25±0,03	59,96±0,01	7,17±0,11
P33	4,08±0,02	30,19±0,11	40,30±0,21	3,72±0,03	6,84±0,02	0,80±0,09	0,26±0,05	66,57±0,21	4,53±0,15
P34	76,86±0,16	34,46±0,02	7,86±0,09	4,24±0,13	7,23±0,17	0,82±0,05	0,28±0,15	39,33±0,01	4,20±0,24
P35	3,17±0,21	26,70±0,05	22,02±0,12	3,53±0,02	6,69±0,09	0,80±0,13	0,24±0,01	47,43±0,02	3,78±0,03
P36	4,19±0,03	34,22±0,24	40,41±0,02	3,86±0,16	7,23±0,03	0,81±0,17	0,27±0,05	60,06±0,09	3,05±0,21
P37	120,97±0,11	29,30±0,02	7,22±0,13	3,65±0,05	6,45±0,15	0,91±0,12	0,26±0,03	57,08±0,02	2,13±0,01
P38	3,23±0,05	27,21±0,13	39,23±0,21	3,76±0,11	7,10±0,09	0,81±0,03	0,26±0,17	54,05±0,05	3,25±0,17
P39	3,72±0,12	29,54±0,16	44,76±0,15	3,78±0,03	6,77±0,05	0,80±0,02	0,24±0,13	57,51±0,09	1,60±0,21
P40	59,70±0,13	23,60±0,12	6,62±0,09	3,83±0,01	6,90±0,11	0,82±0,24	0,21±0,05	25,19±0,16	2,22±0,03
P41	2,59±0,09	21,12±0,21	26,39±0,24	3,40±0,02	6,57±0,12	0,80±0,02	0,23±0,13	65,32±0,11	2,94±0,05
P42	5,05±0,17	37,53±0,02	40,14±0,05	3,91±0,17	7,33±0,03	0,81±0,09	0,26±0,21	46,24±0,12	1,15±0,02
P43	155,40±0,02	43,21±0,03	7,31±0,09	4,96±0,21	8,35±0,11	0,86±0,05	0,33±0,02	53,45±0,16	2,52±0,12
P44	4,08±0,05	32,93±0,12	24,38±0,21	3,93±0,16	7,38±0,24	0,80±0,03	0,28±0,13	54,96±0,11	1,73±0,09
P45	4,98±0,03	31,94±0,11	38,23±0,13	4,86±0,02	7,44±0,17	0,84±0,09	0,28±0,21	39,27±0,02	1,28±0,05

Tabelul 7.16/Table 7.16

Corelația Pearson pentru evoluția compușilor volatili din probele experimentului II (P1-P45)
 Pearson correlation table for the evolution of volatile compounds in the samples of experiment II (P1-P45)

Pearson correlation table for the evolution of volatile compounds in the samples of experiment 11 (1-143)										
Variabile	Acetaldehidă	Acetat de etil	Metanol	1-Propanol	2-Metil-1-propanol	Acetat de izoamil	1-Butanol	1-Pentanol	Lactat de etil	
Corelații	Acetaldehida	1,000	0,319	- 0,444	0,145	0,093	0,611	0,228	- 0,138	- 0,126
	Acetat de etil	0,319	1,000	0,087	0,057	0,632	0,517	0,430	0,011	- 0,140
	Metanol	- 0,444	0,087	1,000	- 0,457	- 0,082	- 0,266	- 0,151	0,029	0,131
	1-Propanol	0,145	0,057	- 0,457	1,000	0,138	0,060	0,614	- 0,107	0,181
	2-Metil-1-propanol	0,093	0,632	- 0,082	0,138	1,000	0,342	0,323	- 0,035	- 0,068
	Acetat de izoamil	0,611	0,517	- 0,266	0,060	0,342	1,000	0,169	- 0,076	- 0,189
	1-Butanol	0,228	0,430	- 0,151	0,614	0,323	0,169	1,000	- 0,026	0,184
	1-Pentanol	- 0,138	0,011	0,029	- 0,107	- 0,035	- 0,076	- 0,026	1,000	-0,129
	Lactat de etil	- 0,126	- 0,140	0,131	0,181	- 0,068	- 0,189	0,184	- 0,129	1,000

Tabelul 7.17/Table 7.17

Rezultatele indicelui KMO și a testului Bartlett
 KMO and Bartlett's test

Indicele KMO-Kaiser-Meyer-Olkin și testul Bartlett	0,563
Valoarea aproximativă a lui Chi pătrat	122,503
Numărul gradelor de libertate (df)	36
Sig.	0,000

Analiza componentelor principale -Varianța totală
Principal component analyses -Total Variance

Componente	Valorile inițiale ale vectorilor proprii		Suma pătratelor factorilor reținuți			
	Total	% din varianța totală	Total	% din varianța totală	Total	Cumulativ %
1	2,765	30,718	30,718	2,765	30,718	30,718
2	1,624	18,040	48,758	1,624	18,040	48,758
3	1,424	15,823	64,581			
4	1,059	11,762	76,344			
5	0769	8,539	84,883			
6	0,593	6,592	91,475			
7	0,345	3,837	95,312			
8	0,218	2,421	97,733			
9	0,204	2,267	100,000			

Primele două axe factoriale explică aproximativ 49 % din varianța totală. Interpretarea rezultatelor se va face pentru cele două axe factoriale. Reprezentarea grafică a variabilelor (compușii volatili identificați) pe cele două axe factoriale și a unităților statistice (probelor) pe cele două axe factoriale se evidențiază în figura 7.3.

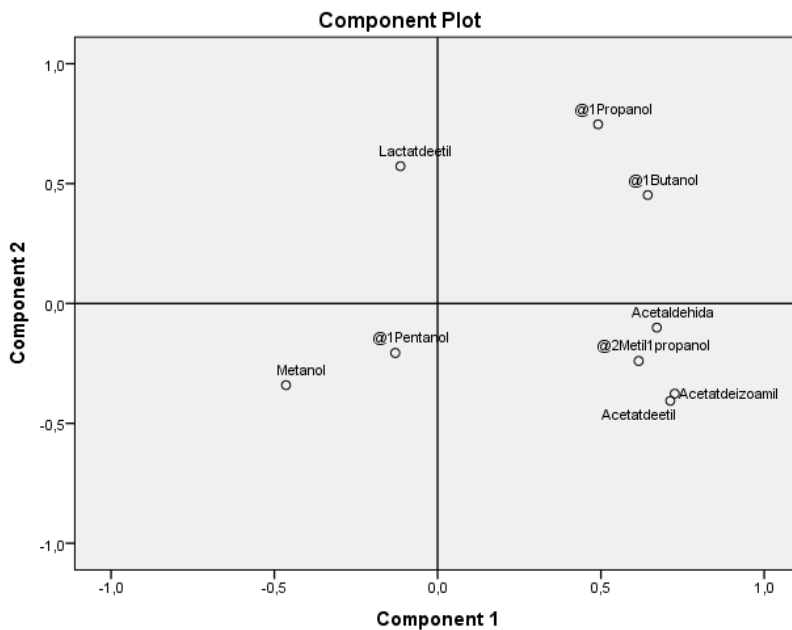


Figura 7.3. Reprezentarea grafică a variabilelor în sistemul primelor două axe factoriale
 Figure 7.3. Graphical representation of the variables in the system of the first two factorial axes

În figura 7.4. se poate observa dispunerea grupurilor omogene în sistemul axelor factoriale, evidențiindu-se o tendință liniară (ascendentă) între majoritatea variantelor experimentale studiate.

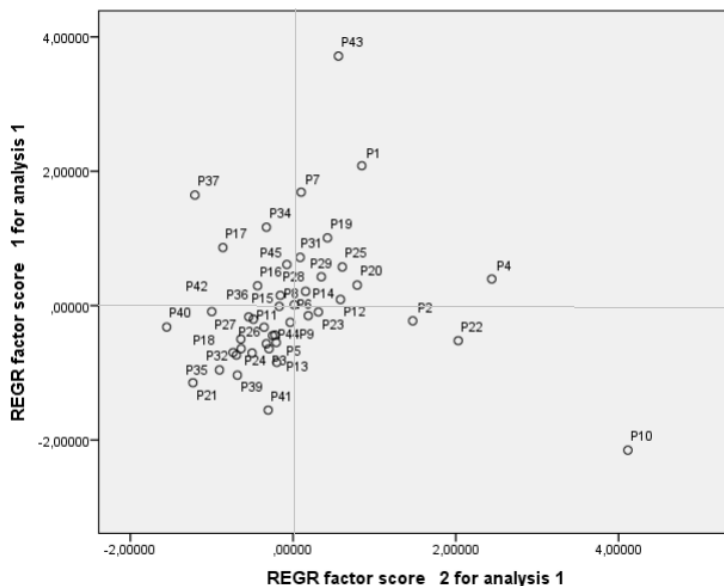


Figura 7.4. Reprezentarea unităților statistice (P1-P45) în sistemul celor două axe factoriale

Figure 7.4. Representation of statistical units (P1-P45) in the two factorial axis

7.3. Identificarea parametrilor cromatici ai variantelor experimentale

Parametrii cromatici ai vinurilor reprezintă un criteriu definitoriu în stabilirea calității acestora. Culoarea unui vin este influențată de o serie de factori printre care se amintesc: soiul de struguri, pH-ul, temperatura, diversele tratamente oenologice aplicate prefermentativ fie postfermentativ, anumite procese fizico-chimice, tehnologia de vinificație aplicată, etc.

În vederea stabilirii evoluției parametrilor de culoare s-au realizat două seturi de analize la interval de șase luni. În tabelele 7.19, 7.20, 7.21 a fost reprezentat primul set de analiză (după 7 zile de la efectuarea experimentului) iar cel de-al doilea set (după șase luni) reprezentat în tabelele 7.22, 7.23, 7.24.

Având în vedere că în urma aplicării testului Anova, în cazul celor 3 variabile selectate (L^* , a^* , b^*) valoarea Sig. este mai mică de 0,05, se poate afirma că cel puțin o medie diferă de celelalte, ceea ce înseamnă că valorile probelor analizate sunt influențate semnificativ de cantitatea de dioxid de sulf administrată dar și de tratamentele cu DMDC.

Claritatea sau luminozitatea, considerat parametru de calitate al vinurilor face referire la existența sau non-existența în masa vinurilor a unor materii coloidale ce dau senzația de turbureală. Cu cât claritatea (L^*) unui vin tinde spre valoarea maximă de 100, cu atât vinul este mai limpede și invers, cu cât valoarea (L^*) scade, cu atât vinurile sunt mai turburi. Conform figurii 7.5 pentru primul grup de probe V1-V15, valoarea indicelui L^* crește proporțional cu nivelul de dioxid de sulf administrat. Astfel, pentru grupul de probe cu dioxid de sulf - 40 cu/fără DMDC, valorile medii obținute ale lui L^* sunt de aproximativ 82; circa 97 pentru dioxid de sulf - 80; cu/fără DMDC aproximativ 99 în cazul variantelor dioxid de sulf - 160 cu/fără DMDC. Pentru probele la care s-a aplicat

tratamentul cu 40 mg/L SO₂ și/fără DMDC, parametrul claritate **L*** a înregistrat valori cuprinse între 66,7 (V9) și 89,6 (V1). Primele 15 probe (V1-V15) au înregistrat valori mai scăzute ale acestui parametru ceea ce indică că vinul este tulbure, cu o culoare cărămizie datorată apariției gradului de oxidare.

În ceea ce privește parametrul **a***, în cazul probelor cu dioxid de sulf - 40 cu/fără DMDC valoarea medie a prezentat cea mai mare intensitate (aproximativ 9), fiind descendentă odată cu creșterea concentrației de dioxid de sulf (aproximativ 0,7 pentru cele cu dioxid de sulf - 80 cu/fără DMDC și 0,5 pentru dioxid de sulf -160 cu/fără DMDC). Parametrul „+ a *” roșu a înregistrat valori pozitive, cea mai mică valoare fiind reprezentată de 5,55 (V2) și cea mai mare de 12,20 (V8). Astfel, se poate constata că vinurile nu au culoarea specifică, spre verde, când parametrul „-a *” ar trebui să aibă valori negative. Intensitatea culorii variază între 0,51 (V1) cea mai deschisă la culoare și 1,65 (V9) proba cu cea mai închisă culoare, cărămizie.

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 cu/fără DMDC, s-a obținut o valoare medie de aproximativ 23, de aproape 4 ori mai mică pentru probele cu dioxid de sulf - 80 cu/fără DMDC și de circa 6 ori mai mică pentru cele cu dioxid de sulf - 160 cu/fără DMDC. Pe măsură ce cantitatea de SO₂ crește, respectiv la adaosul de 80 mg/L și/fără DMDC se observă o îmbunătățire a culorii, parametru **L** atingând valori mai mari, cuprinse între 96,4 (V30) și 97,9 (V25), astfel observându-se rolul antioxidant pe care îl manifestă SO₂ în vinurile analizate. Intensitatea culorii variază de la 0,14 (V25) până la 0,19 (V30).

În urma tratamentului cu cea mai mare doză de SO₂ și/fără DMDC se observă o creștere progresivă a parametrului **L** comparativ cu celelalte doze prezentate anterior, astfel că parametrul **L** are valori cu diferențe minime între 98,2 (V32) și 98,5 (V31) ceea ce demonstrează din nou efectul antioxidant manifestat de SO₂ în vinurile analizate.

Croma sau **saturația** reprezintă un parametru care are rolul de a evidenția intensitatea sau gradul de întunecare a culorii. Variantele au înregistrat valori diferite ale acestui parametru, în funcție de tipul de tratament și de concentrațiile administrate. În primul set de analize, pentru prima grupă de variante, V1-V15, valorile au variat de la 18,93 (V1, proba martor)-29,91(V9). Pentru grupa a doua V16-V30, valorile s-au încadrat între 6,07 (V17)-6,40 (V25) iar pentru a treia grupă de variante V31-V45, 4,87 (V42)-5,50 (V31). În ceea ce privește indicatorul **tonalitate**, s-au evidențiat valori pozitive în cazul primului set de analize pentru toate cele trei categorii de probe, înregistrându-se creșteri în funcție de dozele de SO₂ și DMDC administrate, mai exact, de la 63,47 (V15)-89,99 (V45).

În a doua perioadă de analiză se observă că probele V1-V15 au un grad de oxidare ridicat, culorile vinurilor având nuanțe cărămizii ceea ce demonstrează că tratamentul cu 40 mg/L SO₂ a fost insuficient și nu oferă 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 cu 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 (de la 9 – în cazul primului grup de probe, până la -0,5 la setul de variante dioxid de sulf - 160). Se observă astfel o bună stabilitate a vinurilor oferită de tratamentele cu SO₂ și DMDC.

Analizând parametrul **b***, valorile medii au scăzut de la 33 pentru grupul de probe dioxid de sulf - 40, până la valoarea 5, pentru variantele dioxid de sulf - 160. Celelalte probe se remarcă prin valorile mari ale parametrului claritate, 96,5 (V19) și 97,1 (V22) pentru probele tratate cu 80 mg/L SO₂ și/fără DMDC iar pentru cele tratate cu 160 mg/L SO₂ și/ fără DMDC s-au obținut valori similare în intervalul 98,0-98,6 pentru cele mai multe probe.

În ceea ce privește al doilea set de analize, pentru indicatorul **croma** trendul este similar, descrescător, în funcție de cantitatea de SO₂ și DMDC administrată și anume, variantele V1-V15 au prezentat valori între 32,02 (V13)-34,83(V8), variantele V16-V30, 7,15 (V22)-7,59 (V19), iar pentru V31-V45, 5,52 (V42)-5,98 (V44). În schimb, în setul al doilea s-au remarcat valori pozitive ale indicatorului **tonalitate** doar pentru grupele de variante V1-V15 și V16-V31, mai exact fluctuații între 73,17 (V8)-84,78 (V22) și în schimb valori negative pentru variantele V31-V45, -86,39 (V34) și -88,42 (V45). În urma rezultatelor se observă o diferență cromatică vizibilă între probele tratate cu 40/80 mg/L SO₂ și DMDC și cele cu 160 mg/L SO₂ și DMDC, confirmând ipoteza că tratamentele administrate pot contribui la stabilizarea culorii vinurilor.

În urma identificării parametrilor cromatici s-a constatat că doza cea mai mare de SO₂ 160 mg/L și/fără DMDC oferă stabilitate vinurilor albe, protecție antioxidantă și stabilitate pe o perioadă de cel puțin șase luni.

Tabelul 7.19/Table 7.19

Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 40 mg/L SO₂ cu/fără DMDC (Set I)
Measurement of colour parameters of samples treated with 40 mg/L SO₂ with/without DMDC (Set I)

Probe	Luminozitatea L 0-100	Coordonatele colorimetrice		Croma C	Tonalitatea	Intensitatea	Tenta	Simularea culorii
		a roșu (+)/verde (-)	b galben (+)/albastru (-)					
V1	89,6±0,03	7,16±0,19	17,52±0,11	18,93±0,20	67,76±0,01	0,51±0,07	1,65±0,16	
V2	84,5±0,09	5,55±0,01	21,98±0,03	22,67±0,19	75,84±0,18	0,80±0,9	1,91±0,01	
V3	77,8±0,11	9,0±0,09	23,04±0,20	24,73±0,07	68,69±0,03	1,07±0,11	1,58±0,19	
V4	81,7±0,19	9,57±0,11	21,39±0,05	23,44±0,01	65,89±0,20	0,88±0,09	1,51±0,03	
V5	87,9±0,20	7,41±0,19	18,34±0,18	19,78±0,11	68,00±0,16	0,59±0,07	1,63±0,01	
V6	75,7±0,01	11,19±0,03	24,82±0,11	27,22±0,9	65,74±0,03	1,17±0,19	1,51±0,05	
V7	80,6±0,04	10,39±0,9	23,72±0,19	25,90±0,01	66,34±0,20	0,94±0,11	1,54±0,03	
V8	70,6±0,08	12,20±0,16	26,07±0,03	28,79±0,07	64,92±0,05	1,44±0,9	1,48±0,18	
V9	66,7±0,14	12,36±0,09	27,23±0,11	29,91±0,19	65,59±0,03	1,65±0,01	1,49±0,03	
V10	86,4±0,12	9,08±0,03	18,88±0,20	20,95±0,01	64,31±0,18	0,64±0,9	1,50±0,11	
V11	80,7±0,07	7,80±0,09	20,41±0,11	21,86±0,07	69,13±0,16	0,92±0,20	1,59±0,07	
V12	87,3±0,05	7,98±0,19	17,62±0,20	19,34±0,09	65,64±0,03	0,59±0,11	1,63±0,01	
V13	86,6±0,18	8,38±0,01	18,16±0,18	20,01±0,19	65,23±0,07	0,64±0,20	1,53±0,07	
V14	88,5±0,16	7,80±0,03	18,35±0,09	20,01±0,11	66,44±0,16	0,56±0,19	1,60±0,05	
V15	77,9±0,22	11,70±0,11	23,44±0,20	26,20±0,01	63,47±0,03	1,05±0,9	1,44±0,18	

Tabelul 7.20/Table 7.20

Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 80 mg/L SO₂ cu/fără DMDC (Set 1)
 Measurement of colour parameters of samples treated with 80 mg/L SO₂ with/without DMDC (Set 1)

Probe	Luminozitatea L 0-100	Coordonatele colorimetrice		Croma C	Tonalitatea	Intensitatea	Tenta	Simularea culorii
		a roșu (+)/verde (-)	b galben (+)/albastru (-)					
V16	96,9±0,13	1,21±0,03	6,16±0,09	6,27±0,19	78,87±0,18	0,17±0,11	2,26±0,16	
V17	97,4±0,25	0,78±0,11	6,02±0,07	6,07±0,01	82,63±0,20	0,15±0,22	2,53±0,03	
V18	97,2±0,02	0,91±0,20	6,07±0,05	6,14±0,03	81,43±0,13	0,16±0,9	2,42±0,19	
V19	97,5±0,03	0,61±0,09	6,22±0,19	6,25±0,18	84,40±0,20	0,15±0,07	2,68±0,01	
V20	97,2±0,11	0,91±0,20	6,13±0,01	6,13±0,09	81,60±0,16	0,16±0,11	2,47±0,05	
V21	97,1±0,09	0,95±0,07	6,17±0,19	6,25±0,16	81,26±0,03	0,16±0,20	2,44±0,01	
V22	97,1±0,20	0,88±0,11	6,17±0,01	6,23±0,22	81,88±0,07	0,16±0,11	2,49±0,03	
V23	97,4±0,19	0,70±0,05	6,16±0,03	6,20±0,07	83,52±0,20	0,15±0,09	2,63±0,18	
V24	97,1±0,01	1,06±0,07	6,21±0,11	6,29±0,16	80,34±0,03	0,16±0,19	2,49±0,22	
V25	97,9±0,09	0,14±0,18	6,40±0,19	6,40±0,20	88,72±0,01	0,14±0,11	3,16±0,05	
V26	97,2±0,05	0,93±0,11	6,19±0,03	6,26±0,18	81,46±0,19	0,16±0,16	2,48±0,07	
V27	97,0±0,16	0,75±0,19	6,09±0,16	6,14±0,01	82,98±0,20	0,17±0,09	2,42±0,18	
V28	97,7±0,07	0,32±0,03	6,35±0,9	6,35±0,05	87,14±0,16	0,15±0,11	2,96±0,20	
V29	96,5±0,22	0,93±0,18	6,09±0,11	6,16±0,20	81,33±0,03	0,18±0,16	2,22±0,01	
V30	96,4±0,19	0,93±0,05	6,10±0,03	6,17±0,16	81,34±0,07	0,19±0,11	2,23±0,09	

Tabelul 7.21/Table 7.21

Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 160 mg/L SO₂ cu/fără DMDC (Set 1)
Measurement of colour parameters of samples treated with 160 mg/L SO₂ with/without DMDC (Set 1)

Probe	Luminozitatea L 0-100	Coordonatele colorimetrice		Croma C	Tonalitatea	Intensitatea	Tenta	Simularea culorii
		a roșu (+)/verde (-)	b galben (+)/albastru (-)					
V31	98,5±0,11	0,54±0,01	5,47±0,03	5,50±0,07	84,40±0,05	0,12±0,19	3,99±0,09	
V32	98,2±0,09	0,41±0,18	5,28±0,19	5,30±0,01	85,61±0,11	0,12±0,03	3,57±0,01	
V33	98,2±0,20	0,26±0,07	5,19±0,20	5,20±0,16	87,08±0,22	0,13±0,20	3,15±0,07	
V34	98,4±0,19	0,24±0,01	5,14±0,16	5,14±0,03	87,33±0,18	0,11±0,01	3,60±0,11	
V35	98,4±0,13	0,19±0,03	4,98±0,11	4,98±0,05	87,78±0,20	0,11±0,01	3,56±0,09	
V36	98,3±0,03	0,21±0,05	5,10±0,09	5,10±0,01	87,60±0,19	0,11±0,11	3,51±0,20	
V37	98,0±0,11	0,27±0,19	4,93±0,20	4,94±0,13	86,89±0,07	0,13±0,03	2,93±0,09	
V38	98,4±0,18	0,25±0,13	4,96±0,09	4,97±0,22	87,11±0,25	0,11±0,01	3,47±0,16	
V39	98,4±0,01	0,16±0,07	5,05±0,16	5,06±0,11	88,23±0,18	0,11±0,09	3,52±0,05	
V40	98,5±0,16	0,11±0,09	5,05±0,05	5,05±0,20	88,77±0,07	0,11±0,11	3,52±0,03	
V41	98,3±0,20	0,21±0,11	4,93±0,03	4,93±0,01	87,57±0,19	0,11±0,05	3,28±0,18	
V42	98,6±0,16	0,22±0,20	4,87±0,05	4,87±0,19	87,47±0,03	0,10±0,09	3,75±0,01	
V43	98,5±0,11	0,17±0,09	5,17±0,01	5,17±0,07	88,10±0,16	0,11±0,03	3,67±0,05	
V44	98,4±0,19	0,29±0,03	5,33±0,18	5,33±0,11	89,79±0,20	0,11±0,01	3,40±0,09	
V45	98,3±0,09	0,31±0,11	5,33±0,20	5,33±0,01	89,99±0,03	0,12±0,19	3,34±0,11	

Tabelul 7.22/Table 7.22

Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 40 mg/L SO₂ cu/fără DMDC (Set II)
 Measurement of colour parameters of samples treated with 40 mg/L SO₂ with/without DMDC (Set II)

Probe	Luminozitatea L 0-100	Coordonatele colorimetrice		Croma C	Tonalitatea	Intensitatea	Tenta	Simularea culorii
		a roșu (+)/verde (-)	b galben (+)/albastru (-)					
V1	55,3±0,03	8,86±0,19	31,29±0,01	32,52±0,20	74,18±0,16	2,44±0,09	1,68±0,13	
V2	58,5±0,11	8,52±0,07	31,81±0,05	32,93±0,03	75,00±0,01	2,26±0,19	1,72±0,16	
V3	54,7±0,13	9,15±0,19	32,61±0,09	33,87±0,16	74,33±0,11	2,52±0,03	1,72±0,25	
V4	63,5±0,09	8,44±0,18	32,40±0,11	33,47±0,07	75,04±0,05	1,97±0,09	1,78±0,01	
V5	60,9±0,20	8,74±0,90	32,46±0,01	33,62±0,22	74,93±0,11	2,12±0,13	1,75±0,03	
V6	64,2±0,05	8,38±0,19	31,98±0,03	33,06±0,07	75,32±0,19	1,92±0,09	1,77±0,22	
V7	56,4±0,16	9,27±0,09	32,41±0,11	33,72±0,13	74,03±0,03	2,40±0,01	1,70±0,07	
V8	54,8±0,07	10,09±0,20	33,34±0,01	34,83±0,19	73,17±0,05	2,52±0,09	1,71±0,03	
V9	55,5±0,18	9,28±0,03	31,86±0,07	33,19±0,9	73,76±0,16	2,44±0,11	1,69±0,25	
V10	59,8±0,19	9,00±0,11	32,82±0,05	34,04±0,22	74,68±0,03	2,19±0,18	1,74±0,19	
V11	67,4±0,01	7,95±0,90	32,15±0,18	33,12±0,19	76,10±0,07	1,75±0,11	1,83±0,20	
V12	60,2±0,20	9,33±0,19	30,65±0,01	32,04±0,22	73,06±0,09	2,12±0,16	1,68±0,03	
V13	65,9±0,22	7,47±0,03	31,13±0,07	32,02±0,20	76,51±0,05	1,82±0,19	1,79±0,18	
V14	61,9±0,11	8,91±0,20	31,38±0,18	32,62±0,01	74,15±0,03	2,04±0,07	1,72±0,09	
V15	60,2±0,03	8,93±0,19	32,15±0,09	33,37±0,16	74,48±0,13	2,16±0,11	1,74±0,16	

Tabelul 7.23/Table 7.23

Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 80 mg/L SO₂ cu/fără DMDC (Set II)
 Measurement of colour parameters of samples treated with 80 mg/L SO₂ with/without DMDC (Set II)

Probe	Luminozitatea L 0-100	Coordonatele colorimetrice		Croma C	Tonalitatea	Intensitatea	Tenta	Simularea culorii
		a roșu (+)/verde (-)	b galben (+)/albastru (-)					
V16	96,6±0,25	1,17±0,03	7,39±0,18	7,49±0,11	80,97±0,16	0,19±0,09	2,40±0,22	
V17	96,8±0,09	1,08±0,05	7,31±0,20	7,39±0,01	81,57±0,19	0,18±0,13	2,46±0,25	
V18	96,7±0,11	1,12±0,19	7,29±0,07	7,37±0,05	81,23±0,03	0,18±0,18	2,42±0,16	
V19	96,5±0,07	1,29±0,01	7,48±0,09	7,59±0,22	80,18±0,13	0,19±0,20	2,37±0,11	
V20	96,7±0,03	1,09±0,05	7,37±0,18	7,45±0,11	81,63±0,07	0,19±0,01	2,42±0,09	
V21	96,7±0,22	1,13±0,09	7,29±0,20	7,37±0,19	81,17±0,05	0,19±0,03	2,40±0,16	
V22	97,1±0,16	0,65±0,11	7,12±0,07	7,15±0,13	84,78±0,09	0,17±0,20	2,69±0,18	
V23	96,9±0,19	0,88±0,20	7,20±0,01	7,26±0,22	83,03±0,11	0,18±0,25	2,54±0,03	
V24	96,8±0,05	0,99±0,03	7,25±0,18	7,31±0,9	82,22±0,16	0,18±0,19	2,49±0,07	
V25	96,9±0,01	0,96±0,07	7,17±0,11	7,23±0,05	82,35±0,22	0,18±0,01	2,49±0,09	
V26	96,7±0,18	1,15±0,09	7,41±0,19	7,50±0,01	81,19±0,13	0,19±0,20	2,41±0,22	
V27	96,7±0,11	1,15±0,05	7,40±0,16	7,49±0,07	81,18±0,03	0,19±0,16	2,41±0,01	
V28	96,4±0,09	1,00±0,03	7,26±0,18	7,33±0,11	82,16±0,25	0,20±0,19	2,37±0,09	
V29	96,8±0,20	0,97±0,11	7,30±0,01	7,37±0,22	82,42±0,09	0,18±0,18	2,49±0,03	
V30	96,7±0,03	0,98±0,07	7,37±0,16	7,44±0,20	82,46±0,13	0,19±0,11	2,47±0,01	

Tabelul 7.24/Table 7.24

Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 160 mg/L SO₂ cu/fără DMDC (Set II)
 Measurement of colour parameters of samples treated with 160 mg/L SO₂ with/without DMDC (Set II)

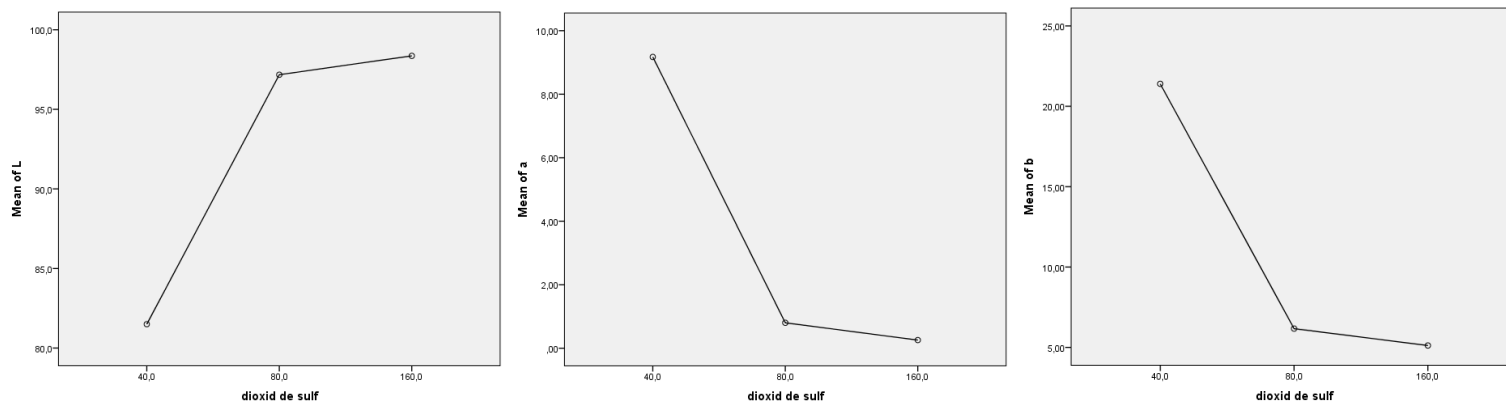
Probe	Luminozitatea L 0-100	Coordonatele colorimetrice		Croma C	Tonalitatea	Intensitatea	Tenta	Simularea culorii
		a roșu (+)/verde (-)	b galben (+)/albastru (-)					
V31	98,2±0,11	-0,25±0,20	5,67±0,01	5,70±0,05	-87,50±0,19	0,12±0,13	3,48±0,25	
V32	98,2±0,19	-0,25±0,18	5,64±0,16	5,64±0,07	-87,40±0,20	0,13±0,90	3,50±0,01	
V33	98,2±0,01	-0,24±0,09	5,67±0,03	5,68±0,22	-87,31±0,11	0,13±0,19	3,50±0,20	
V34	98,2±0,20	-0,36±0,11	5,79±0,13	5,80±0,18	-86,39±0,90	0,13±0,01	3,66±0,19	
V35	98,2±0,07	-0,34±0,19	5,80±0,01	5,81±0,20	-86,62±0,16	0,13±0,05	3,63±0,09	
V36	98,1±0,09	-0,28±0,18	5,85±0,22	5,86±0,11	-87,27±0,19	0,13±0,03	3,46±0,20	
V37	98,4±0,20	-0,40±0,09	5,52±0,03	5,53±0,07	-85,86±0,01	0,12±0,11	3,81±0,19	
V38	98,4±0,19	-0,38±0,05	5,56±0,01	5,57±0,16	-86,05±0,20	0,12±0,09	3,80±0,18	
V39	98,3±0,03	-0,22±0,11	5,62±0,16	5,62±0,05	-87,80±0,01	0,12±0,19	3,55±0,20	
V40	98,4±0,20	-0,31±0,07	5,54±0,09	5,55±0,18	-86,81±0,03	0,12±0,11	3,69±0,16	
V41	98,2±0,01	-0,29±0,05	5,61±0,01	5,62±0,22	-87,09±0,07	0,12±0,19	3,52±0,20	
V42	98,3±0,09	-0,31±0,03	5,51±0,18	5,52±0,20	-86,79±0,16	0,12±0,01	3,63±0,05	
V43	98,2±0,18	-0,22±0,07	5,92±0,01	5,92±0,16	-87,87±0,19	0,13±0,09	3,55±0,20	
V44	98,1±0,19	-0,17±0,09	5,97±0,20	5,98±0,13	-88,35±0,01	0,13±0,11	3,47±0,03	
V45	98,1±0,11	-0,16±0,16	5,96±0,05	5,96±0,07	-88,48±0,18	0,13±0,09	3,42±0,20	

Tabelul 7.25/Table 7.25

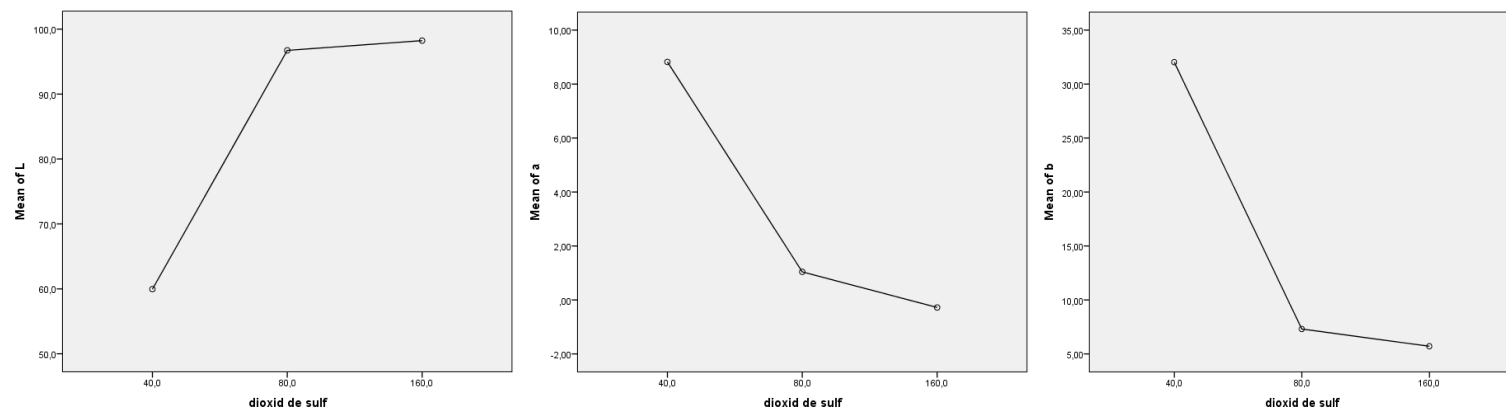
Analiza varianței (Anova - One Way) pentru principalii indicatori cromatici ai variantelor V1-V45
 Statistical test Anova-One-Way for chromatic parameters of V1-V45 samples

SET I-după 7 zile						
Variabile		Suma pătratelor	Numărul gradelor de libertate (df)	Media pătratică	F (raportul ANOVA)	Sigma
L*	Intergrup	2656,606	2	1328,303	85,781	0,000
	Intragrup	650,365	42	15,485		
	Totală	3306,971	44			
a*	Intergrup	749,239	2	374,620	267,717	0,000
	Intragrup	58,771	42	1,399		
	Total	808,010	44			
b*	Intergrup	2490,259	2	1245,129	357,021	0,000
	Intragrup	146,477	42	3,488		
	Total	2636,736	44			
SET II-după 6 luni						
L*	Intergrup	14106,888	2	7053,444	1249,008	0,000
	Intragrup	237,184	42	5,647		
	Totală	14344,072	44			
a*	Intergrup	725,447	2	362,724	2601,394	0,000
	Intragrup	5,856	42	0,139		
	Total	731,303	44			
b*	Intergrup	6532,553	2	3266,276	18455,624	0,000
	Intragrup	7,433	42	0,177		
	Totală	6539,986	44			

În urma aplicării testelor statistice, în cazul primului set de analize variabila factor este cantitatea de dioxid de sulf (dioxid de sulf 40, 80, 160) administrată, iar dependente sunt: L, a, b.



a-Set 1



b-Set 2

Figura 7.5.a,b Evidențierea modificărilor cromatice în raport cu doza de dioxid de sulf administrată (mg/L)
Figure 7.5 a, b Identification of colour changes in relation to the dose of sulphur dioxide (mg/L)

În cazul celui de-al doilea experiment, variabila factor este redată tot de cantitatea de dioxid de sulf (dioxid de sulf 20, 40, 80 mg/L) administrată, iar variabilele dependente sunt, de asemenea, reprezentate de indicatorii: **L***, **a***, **b***. Rezultatele obținute evidențiază diferențe semnificative între parametrii cromatici analizați (tabelul 7.29). În urma aplicării testului Anova, valoarea Sig. a indicatorul **a*** este mai mare de 0,05, ceea ce înseamnă că mediile sunt egale din punct de vedere statistic, deci nu sunt influențate de cantitatea de dioxid de sulf administrată. Pentru restul variabilelor, **L*** și **b***, Sig. este mai mic de 0,05, ceea ce înseamnă că cel puțin o medie este diferită de celelalte, valorile variabilelor analizate fiind semnificativ influențate de cantitatea de dioxid de sulf administrată și implicit de tratamentele cu DMDC.

Indicatorul **L*** a înregistrat fluctuații între cele trei grupuri de probe, respectiv, pentru P1-P15, cel mai scăzut nivel s-a obținut la P1 (96,46) și cel mai ridicat la P11 (99,67). Nivelul cel mai scăzut pentru probele P16-P31 s-a evidențiat la P17 (95,58) iar cel mai ridicat la P26 (99,78). În ceea ce privește grupa a treia a probelor P31-P45 se observă diferențe reduse între P31 (98,97)-100 P33,P36-P39, P41, P44, P45). În urma rezultatelor se pot observa creșteri proporționale ale indicatorului **L*** cu dozele tratamentelor administrate. Conform figurii 7.6. valorile indicatorului **L*** au fost ascendente pe măsura creșterii concentrației de dioxid de sulf (de la 98,9 pentru dioxid de sulf - 20 până la 99,8 pentru dioxid de sulf - 80).

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. Pentru probele P16-P30 valorile se încadrează între -0,37 (P18, P27) și -0,49 (P30) iar pentru probele P31-P45, valorile s-au situat între -0,32 (P31,P34) și -0,39 (P32-P38, P42, P43).

Pe de altă parte, pentru indicatorul **b*** se observă o încadrare a valorilor pentru P1-P15 între 2,76 (P9)-4,22 (P3), pentru probele P16-P30, între 2,47 (P17)-3,54 (P18), respectiv pentru P31-P45, între 2,60 (P34)-3,06 (P43). Din punct de vedere statistic, indicatorul **b*** care sugerează intensitatea nuanței de galben având valori pozitive, a arătat valori descrescătoare, semnificative sig.< 0,05, de la 3,25 în cazul setului cu dioxid de sulf - 20 cu/fără DMDC, 3,05 pentru variantele cu dioxid de sulf - 40 cu/fără DMDC, până la 2,78 pentru grupul probeor cu dioxid de sulf - 80 cu/fără DMDC.

Valorile obținute pentru indicatorul **croma**, se evidențiază de asemenea în funcție de dozele de tratamente administrate, astfel că, pentru probele P1-P15 tratate cu 20 mg/L SO₂ și/fără DMDC valorile au crescut de la 3,07 (P12) la 4,24 (P3), iar pentru celelalte doze de 40/80 mg/L SO₂ și/fără DMDC valorile au scăzut comparativ cu primul grup de probe după cum urmează, 2,49 (P17)-3,55 (P24) (pentru probele tratate cu 40 mg/L SO₂ și DMDC-P16-P30), respectiv același trend descrescător și în cazul probelor tratate cu 80 mg/L SO₂ și DMDC P31-P45, 2,62 (P31)-3,08 (P43). De asemenea, pentru indicatorul **tonalitate** s-au obținut valori cuprinse între -82 (P39) și -81,78 (P41).

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.

Tabel 7.26/Table 7.26

Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 20 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
Measurement of colour parameters of samples treated with 20 mg/L SO₂ with/without DMDC

Probe	Luminozitatea L 0-100	Coordonatele colorimetrice		Croma C	Tonalitatea	Intensitatea	Tenta	Simularea culorii
		a roșu (+)/verde (-)	b galben (+)/albastru (-)					
P1	96,46±0,03	-0,21±0,19	3,34±0,09	3,35±0,01	-86,39±0,05	0,34±0,22	1,99±0,13	
P2	99,47±0,11	-0,42±0,20	3,68±0,01	3,70±0,11	-83,46±0,07	0,13±0,16	6,43±0,05	
P3	98,92±0,19	-0,41±0,01	4,22±0,03	4,24±0,20	-84,47±0,22	0,18±0,19	4,45±0,07	
P4	98,79±0,20	-0,47±0,07	3,19±0,18	3,22±0,09	-81,62±0,16	0,16±0,09	3,58±0,01	
P5	99,41±0,09	-0,45±0,19	3,24±0,01	3,27±0,16	-82,10±0,07	0,12±0,11	5,65±0,20	
P6	98,85±0,01	-0,36±0,19	3,54±0,09	3,56±0,20	-84,25±0,03	0,17±0,01	3,87±0,22	
P7	99,14±0,05	-0,48±0,11	3,16±0,20	3,20±0,19	-81,43±0,05	0,13±0,09	4,44±0,03	
P8	99,59±0,01	-0,46±0,22	3,19±0,16	3,22±0,9	-81,73±0,20	0,1±0,18	7,15±0,07	
P9	98,00±0,18	-0,44±0,03	2,76±0,09	2,80±0,01	-80,95±0,01	0,21±0,01	2,56±0,20	
P10	99,37±0,11	-0,4±0,19	3,05±0,20	3,08±0,09	-82,62±0,03	0,12±0,05	5,20±0,13	
P11	99,67±0,05	-0,51±0,20	3,16±0,01	3,20±0,07	-80,83±0,16	0,10±0,11	8,33±0,19	
P12	98,97±0,09	-0,54±0,19	3,02±0,11	3,07±0,20	-79,95±0,18	0,15±0,09	3,95±0,03	
P13	99,22±0,03	-0,40±0,01	3,18±0,09	3,21±0,19	-82,89±0,01	0,13±0,07	4,66±0,20	
P14	99,19±0,11	-0,43±0,07	3,10±0,03	3,13±0,20	-82,02±0,05	0,13±0,09	4,57±0,19	
P15	98,61±0,20	-0,42±0,9	3,27±0,19	3,30±0,01	-82,74±0,22	0,18±0,03	3,34±0,16	

Tabel 7.27/Table 7.27

Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 40 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
Measurement of colour parameters of samples treated with 40 mg/L SO₂ with/without DMDC

Probe	Luminozitatea L 0-100	Coordonatele colorimetrice		Croma C	Tonalitatea	Intensitatea	Tenta	Simularea culorii
		a roșu (+)/verde (-)	b galben (+)/albastru (-)					
P16	99,48±0,20	-0,39±0,09	2,92±0,11	2,95±0,03	-82,32±0,16	0,11±0,01	5,74±0,22	
P17	95,58±0,01	-0,35±0,19	2,47±0,16	2,49±0,20	-82,01±0,09	0,39±0,05	1,67±0,11	
P18	99,39±0,03	-0,37±0,09	3,54±0,01	3,56±0,19	-84,00±0,07	0,13±0,03	5,59±0,13	
P19	99,54±0,11	-0,42±0,03	2,97±0,20	3,00±0,18	-81,96±0,22	0,10±0,09	6,36±0,25	
P20	99,04±0,19	-0,55±0,01	2,60±0,09	2,65±0,01	-81,93±0,20	0,13±0,19	4,05±0,03	
P21	99,67±0,18	-0,42±0,07	3,39±0,11	3,41±0,16	-82,87±0,13	0,10±0,01	8,15±0,20	
P22	99,6±0,01	-0,40±0,05	2,91±0,22	2,94±0,03	-82,82±0,07	0,10±0,19	6,80±0,05	
P23	99,64±0,09	-0,38±0,11	3,00±0,19	3,02±0,20	-82,75±0,01	0,10±0,18	7,16±0,13	
P24	99,28±0,16	-0,38±0,07	3,53±0,01	3,55±0,09	-83,89±0,05	0,14±0,16	5,07±0,22	
P25	99,05±0,18	-0,38±0,03	3,05±0,20	3,08±0,16	-82,85±0,22	0,14±0,11	4,00±0,19	
P26	99,78±0,11	-0,43±0,19	3,18±0,90	3,21±0,07	-82,37±0,03	0,09±0,20	9,90±0,01	
P27	99,03±0,20	-0,37±0,01	3,23±0,11	3,25±0,05	-83,50±0,18	0,15±0,09	4,10±0,16	
P28	99,22±0,07	-0,39±0,09	3,03±0,18	3,06±0,19	-82,72±0,16	0,13±0,01	4,60±0,03	
P29	99,21±0,19	-0,35±0,03	3,12±0,01	3,14±0,07	-83,58±0,09	0,12±0,11	4,46±0,20	
P30	99,49±0,9	-0,49±0,11	3,20±0,20	3,24±0,03	-81,33±0,22	0,12±0,01	6,40±0,19	

Tabel 7.28/Table 7.28

Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 80 mg/L SO₂ cu/fără DMDC
Measurement of colour parameters of samples treated with 80 mg/L SO₂ with/without DMDC

Probe	Luminozitatea L 0-100	Coordonatele colorimetrice		Croma C	Tonalitatea	Intensitatea	Tenta	Simularea culorii
		a roșu (+)/verde (-)	b galben (+)/albastru (-)					
P31	98,97±0,03	-0,32±0,11	2,64±0,19	2,66±0,09	-83,08±0,22	0,14±0,20	3,49±0,25	
P32	99,88±0,01	-0,39±0,09	2,85±0,13	2,88±0,18	-82,23±0,01	0,08±0,05	12,36±0,21	
P33	100±0,00	-0,39±0,22	2,82±0,01	2,84±0,11	-82,13±0,07	0,07±0,19	22,06±0,13	
P34	98,59±0,11	-0,32±0,16	2,60±0,19	2,62±0,16	-82,90±0,01	0,16±0,09	2,87±0,11	
P35	100±0,00	-0,39±0,20	2,79±0,11	2,82±0,01	-82,03±0,03	0,07±0,19	23,3±0,18	
P36	100±0,00	-0,39±0,07	2,81±0,09	2,84±0,20	-82,01±0,22	0,07±0,11	20,47±0,16	
P37	100±0,00	-0,39±0,03	2,81±0,19	2,84±0,18	-82,06±0,07	0,07±0,01	20,87±0,20	
P38	100±0,00	-0,39±0,19	2,77±0,11	2,80±0,20	-81,90±0,09	0,07±0,03	27,29±0,01	
P39	100,25±0,00	-0,39±0,18	2,79±0,01	2,82±0,03	-82,00±0,16	0,05±0,11	28,70±0,16	
P40	99,62±0,05	-0,38±0,9	2,87±0,16	2,90±0,19	-82,43±0,05	0,10±0,07	6,88±0,22	
P41	100±0,19	-0,40±0,03	2,77±0,11	2,80±0,09	-81,78±0,18	0,07±0,16	24,98±0,16	
P42	99,96±0,07	-0,39±0,16	2,83±0,01	2,86±0,07	-82,18±0,20	0,07±0,03	16,85±0,13	
P43	99,11±0,01	-0,36±0,05	3,06±0,03	3,08±0,11	-83,26±0,16	0,14±0,19	4,16±0,09	
P44	100±0,00	-0,39±0,09	2,77±0,19	2,80±0,20	-81,92±0,22	0,06±0,01	24,61±0,03	
P45	100±0,00	-0,38±0,20	2,70±0,11	2,70±0,09	-81,96±0,18	0,06±0,19	29,7±0,07	

Analiza varianței (Anova - One Way) pentru principalii indicatori cromatici ai probelor P1-P45
 Statistical test Anova-One-Way for chromatic parameters of P1-P45 samples

Variabile		Suma pătratelor	Numărul gradelor de libertate (df)	Media pătratică	F (raportul ANOVA)	Sigma
L*	Intergrup	5,987	2	2,993	4,723	0,014
	Intragrup	26,618	42	0,634		
	Totală	32,605	44			
b*	Intergrup	1,756	2	0,878	12,354	0,000
	Intragrup	2,986	42	0,071		
	Totală	4,742	44			
a*	Intergrup	0,018	2	0,009	2,911	0,065
	Intragrup	0,129	42	0,003		
	Totală	0,146	44			

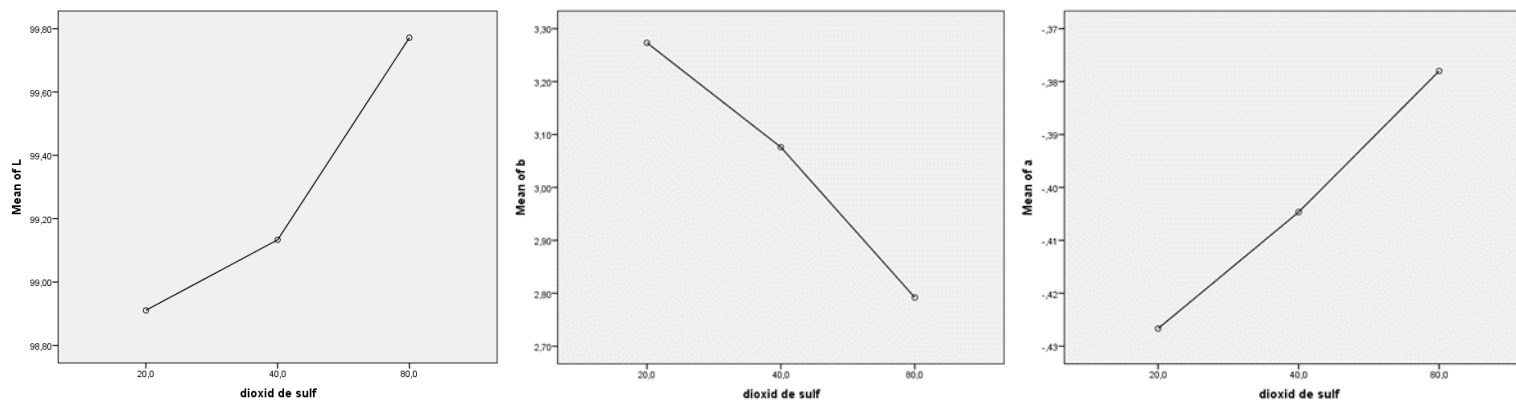


Figura 7.6. Evidențierea modificărilor cromatice în raport cu doza de dioxid de sulf administrată (mg/L)

Figure 7.6. Identification of colour changes in relation to the sulphur dioxide doses (mg/L)

7.4.Studiul modificărilor de natură microbiologică din probele de vin experimentale

Din punct de vedere tehnologic, rezistența levurilor la sulfiți sau la alte tratamente cu rol în inactivarea microorganismelor este de un interes major în cercetările recente și reprezintă un criteriu cheie de care trebuie să țină cont oenologii în procesele și etapele de vinificație. În acest studiu, pentru a evidenția capacitatea de rezistență specifică tulpinii în funcție de tratamentele aplicate vinurilor, au fost utilizate levurile *Schizosaccharomyces pombe* și *Brettanomyces bruxellensis* pentru primul experiment, și *Brettanomyces bruxellensis* și *Saccharomyces cerevisiae* pentru cel de-al doilea experiment.

Conform protocolului experimental, buteliile de vin au fost direcționate către laboratorul de Microbiologie pentru realizarea studiului microbiologic, din trei în trei luni, în vederea evaluării viabilității levurilor și pentru testarea eficacității tratamentelor aplicate vinurilor. Acestea au primit coduri diferite de laborator pentru a putea fi diferențiate. Pentru analiza probelor martor, fără levuri (probe notate cu Z), au fost utilizate două butelii/probă din care s-au realizat două plăci Petri, iar din probele cu DMDC (probele B și S) au fost analizate câte trei butelii/probă și câte două plăci Petri pentru fiecare butelie.

În urma analizelor probelor tratate cu 40 mg SO₂/L și cu/fără DMDC (probele 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 au fost identificate specii bacteriene care aparțin grupului de bacterii lactice, cu forme morfologice sferice (coci) și cilindrice (bacili) (figura 7.7). Vinul a prezentat un depozit la baza buteliei, modificări de culoare (oxidare) și a spumat puternic datorită acumulării de CO₂.

În cazul probelor tratate cu 80 mg SO₂/L și cu/fără DMDC (probele V16-V30), nu s-a identificat speciile levuriene introduse ca și inocul, dar nici alte categorii de microorganisme (bacterii), în toate probele testate, indiferent dacă au fost sau nu tratate cu DMDC. Vinul s-a prezentat ca fiind limpede, dar a spumat datorită acumulării de CO₂.

În cazul probelor tratate cu cea mai mare doză de dioxid de sulf, respectiv 160 mg SO₂/L și cu/fără DMDC (probele V31-V45), nu au fost puse în evidență levuri, dar nici alte categorii de microorganisme indiferent de doza de DMDC utilizată. Vinul are culoarea specifică soiurilor din care a fost obținut, galben-pai, lichid limpede, fiind remarcată absența procesului de refermentare. Acest aspect este datorat acțiunii sinergice dintre dioxid de sulf și dimetildicarbonat, confirmându-se capacitatea de inhibare a microorganismelor afirmată și de Ough, 1987 și Divol, 2005.

În urma rezultatelor obținute, absența levurilor inoculate (*Schizosaccharomyces pombe* și *Brettanomyces bruxellensis*) sugerează faptul că doza redusă de SO₂ (40 mg/L) influențează negativ multiplicarea.

Pentru a verifica veridicitatea rezultatelor obținute s-au reluat în analiză cele 45 probe, fiind realizate însămânțări la suprafață și în profunzime, de această dată pe mediile de cultură GPCA (glucose peptone chloramphenicol agar) și PDA (potato dextrose agar).

Probele au fost analizate similar, respectând protocolul de lucru, incubate timp de cinci zile la 28 °C după care s-au verificat plăcile.

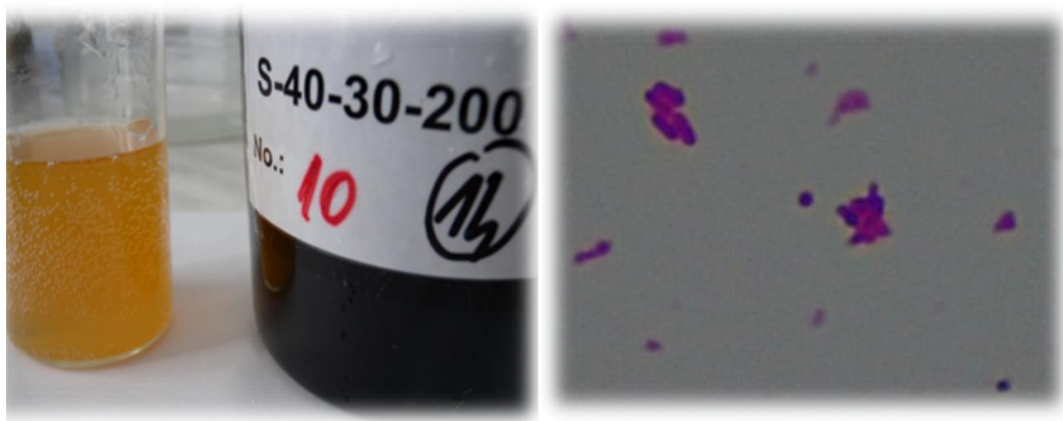


Figura 7.7. Aspect microscopic cu bacterii (coci și bacili) izolate din variantele tratate cu 40 mg SO₂/L cu/fără DMDC

Figure 7.7. Microscopic aspect of bacteria (cocci and bacilli) isolated from variants treated with 40 mg SO₂/L with/without DMDC

Rezultatele obținute au demonstrat faptul că în toate probele supuse analizelor microbiologice în laborator, nu au fost identificate levuri sau alte tipuri de microorganisme acest lucru reconfirmând rezultatele obținute anterior.

Tabel 7.30/Table 7.30

Rezultatele microbiologice ale probelor P1-P15
Microbiological results of P1-P15 samples

Probe	Set I (după 7 zile) UFC/mL	Set II (după 3 luni) UFC/mL	Set III (după 6 luni) UFC/mL
P1. Z-20-0-0	0	0	0
P2. Z-20-0-100	0	0	0
P3. Z-20-0-200	0	0	0
P4. B-20-30-0	>300	>300	>300
P5. B-20-30-100	0	>300	>300
P6. B-20-30-200	0	>300	>300
P7. B-20-100-0	>300	>300	>300
P8. B-20-100-100	0	>300	>300
P9. B-20-100-200	0	>300	>300
P10. S-20-30-0	>300	>300	>300
P11. S-20-30-100	0	>300	>300
P12. S-20-30-200	0	>300	>300
P13. S-20-100-0	>300	>300	>300
P14. S-20-100-100	0	>300	>300
P15. S-20-100-200	0	>300	>300

Valoarea 0 - absența levurilor (concentrația de levuri sub limita de detecție - perioadă de adaptare în primele 7 zile)

Tabel 7.31 /Table 7.31

Rezultatele microbiologice ale probelor P16-P30
Microbiological results of P16-P30 samples

Probe	Set I (după 7 zile) UFC/mL	Set II (după 3 luni) UFC/mL	Set III (după 6 luni) UFC/mL
P16. Z-40-0-0	0	0	0
P17. Z-40-0-100	0	0	0
P18. Z-40-0-200	0	0	0
P19. B-40-30-0	>300	>300	>300
P20. B-40-30-100	0	>300	>300
P21. B-40-30-200	0	>300	>300
P22. B-40-100-0	>300	>300	>300
P23. B-40-100-100	0	>300	>300
P24. B-40-100-200	0	>300	>300
P25. S-40-30-0	>300	>300	>300
P26. S-40-30-100	0	>300	>300
P27. S-40-30-200	0	>300	>300
P28. S.40-100-0	>300	>300	>300
P29. S-40-100-100	0	>300	>300
P30. S-40-100-200	0	>300	>300

Valoarea 0 - absența levurilor (concentrația de levuri sub limita de detecție - perioada de adaptare în primele 7 zile)

Tabel 7.32/Table 7.32

Rezultatele microbiologice ale probelor P31-P45/ Microbiological results of P31-P45 samples

Probe	Set I (după 7 zile) UFC/mL	Set II (după 3 luni) UFC/mL	Set III (după 6 luni) UFC/mL
P31. Z-80-0-0	0	0	0
P32. Z-80-0-100	0	0	0
P33. Z-80-0-200	0	0	0
P34. B-80-30-0	0	>300	>300
P35. B-80-30-100	0	0	0
P36. B-80-30-200	0	0	0
P37. B-80-100-0	0	>300	>300
P38. B-80-100-100	0	0	0
P39. B-80-100-200	0	0	0
P40. S-80-30-0	0	>300	>300
P41. S-80-30-100	0	0	0
P42. S-80-30-200	0	0	0
P43. S-80-100-0	0	>300	>300
P44. S-80-100-100	0	0	0
P45. S-80-100-200	0	0	0

Valoarea 0 - absența levurilor (concentrația de levuri sub limita de detecție - perioada de adaptare în primele 7 zile)

În ceea ce privește probele experimentului II, tratate în acest caz cu 20, 40, 80 mg/L SO₂ se pot observa diferențe cu privire la evoluția și activitatea microorganismelor pe parcursul păstrării vinurilor. Analizele au fost efectuate în trei etape, și anume: setul I de analize a fost efectuat la o săptămână după finalizarea experimentului cu scopul de a testa încărcătura microbiană inoculată sau prezența altor microorganisme în vinurile obținute (set I); a doua etapă de analize s-a efectuat după trei luni (set II), iar a treia etapă după șase luni de la finalizarea experimentului (set III). Probele de vin realizate au fost supuse analizelor microbiologice conform protocolului stabilit și s-a urmărit eficacitatea dicarbonatului de dimetil asupra microorganismelor existente în vinuri și care este capacitatea acestuia de a oferi stabilitate în timp rezultatele fiind centralizate în tabelele 7.30., 7.31., 7.32.

În prima săptămână au fost testate probele, în duplicat cele fără DMDC și în triplicat cele cu DMDC, conform protocolului aplicat și în cadrul experimentului I. Conform rezultatelor se pot observa diferențe semnificative între probele martor, fără DMDC și probele cu DMDC, astfel încât în P4, P7, P10, P13 tratate cu 20 mg/L SO₂ și P19, P22, P25, P28 tratate cu 20/40 mg/L SO₂ fără DMDC s-au evidențiat levurile inoculate (figura 7.9.a,b), datorită faptului că tratamentul aplicat, nu a manifestat protecție antimicrobiană suficientă. În celelalte plăci reprezentative pentru probele tratate în plus cu DMDC nu au fost evidențiate levuri sau alte microorganisme (P5, P6, P8, P9, P11, P12, P14, P15, P17, P18, P20, P21, P23, P24, P26, P27, P29, P30), rezultatele fiind remarcate în imaginile reprezentate în figura 7.9.a,b. Rezultate similare ale eficacității DMDC-ului au fost confirmate și de Ough, 1975; Ough ș.a., 1978; Costa ș.a., 2008. În ceea ce privește grupa probelor P31-P45 tratate cu 80 mg/L SO₂ și/fără DMDC nu s-au identificat levuri sau alte microorganisme. Se observă faptul că cea mai mare doză de tratament cu SO₂ administrat dar și DMDC-ul au stopat activitatea microorganismelor astfel încât în plăcile Petri însămânțate nu au fost evidențiate specii 7.9.a,b.

În urma testării probelor după trei luni de la efectuarea experimentului se pot observa modificări referitoare la încărcătura microbiană dar și la aspectul vizual al vinurilor pe parcursul păstrării figura 7.10.

Tratamentele cu dioxid de sulf 20, respectiv 40 mg/L și DMDC nu au asigurat protecție antimicrobiană suficientă probelor P4-P15, P19-30, majoritatea plăcilor fiind aglomerate cu levuri (>300 UFC/mL), numărul coloniilor fiind dificil de stabilit cu exactitate. În probele tratate doar cu 80 mg/L SO₂, respectiv P34, P37, P40, P43 s-au identificat colonii, dar în celelalte probe P35, P36, P38, P39, P41, P42, P44, P45 tratate cu DMDC nu s-au evidențiat colonii, plăcile au fost curate, rezultat remarcat în figura 7.10.

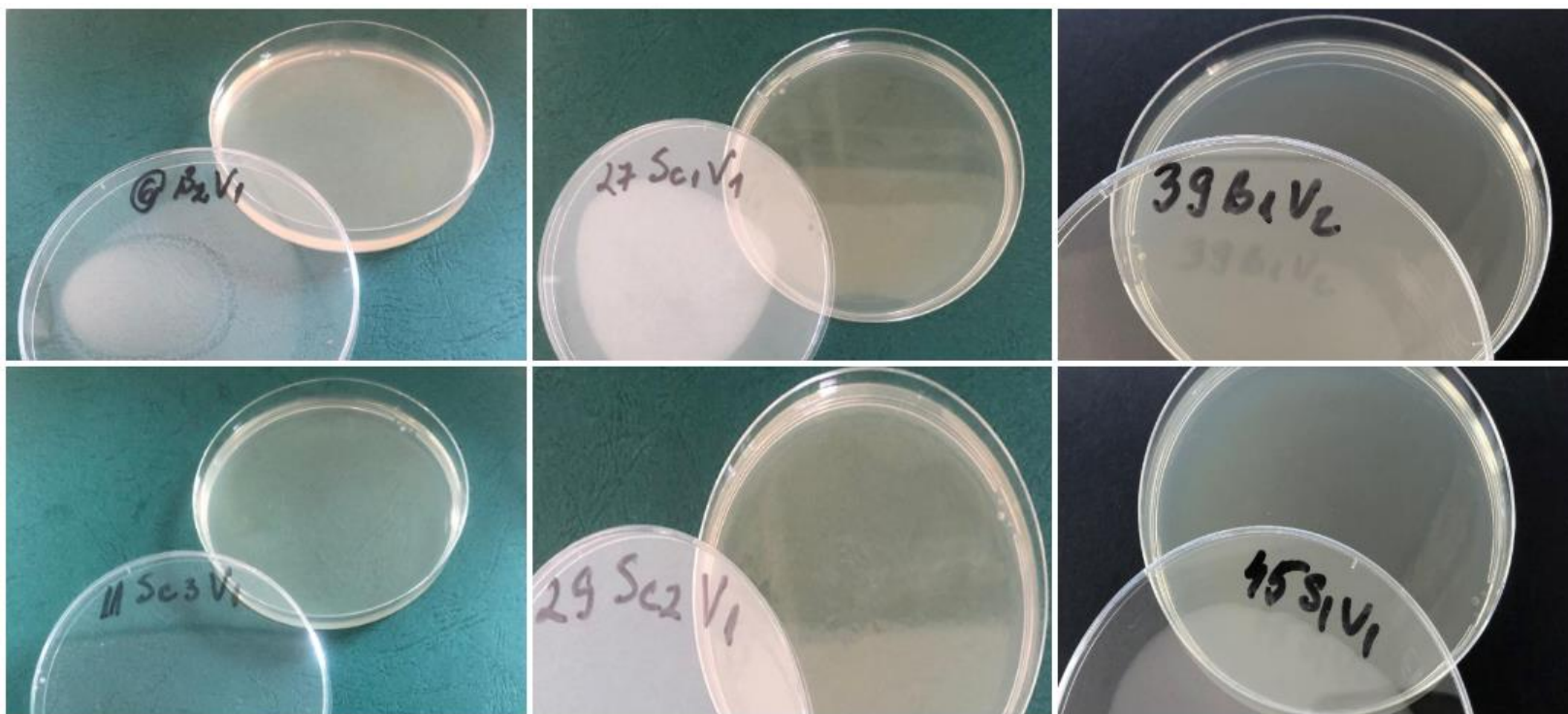
După șase luni de păstrare a probelor fiind efectuat al treilea set de analize microbiologice, s-a constatat de asemenea, că tratamentele cu 20/40 SO₂ și DMDC nu au asigurat protecție antimicrobiană vinurilor studiate iar coloniile de levuri din plăcile analizate nu au putut fi cuantificate cu exactitate (>300 UFC/mL), (figura 7.11). Divol ș.a., 2005 au confirmat de asemenea că levurile pot fi rezistente la tratamentele cu DMDC în concentrații sub 100 mg/L și doze reduse de SO₂, *Saccharomyces cerevisiae* reușind să supraviețuiască datorită inducerii unei stări VBNC – viabile dar necultivabile în laborator.

Cu toate acestea, tratamentul cu cea mai mare doză de SO₂, respectiv 80mg/L, în probele fără DMDC a înregistrat un număr însemnat de colonii comparativ cu primul set de analize ceea ce demonstrează că dioxidul de sulf administrat nu a fost suficient pentru a stopa activitatea microorganismelor și pentru a asigura stabilitate vinurilor pe o perioadă de 6 luni. Rezultate pozitive cu privire la efectul tratamentelor administrate au fost înregistrate în probele tratate și cu DMDC (P32, P33, P35, P36, P38, P39, P41, P42, P43, P45), plăcile realizate fiind curate, absența coloniilor de levuri fiind remarcată în fig. 7.11. Rezultate similare au fost confirmate și de Threlfall și Morris, 2002.

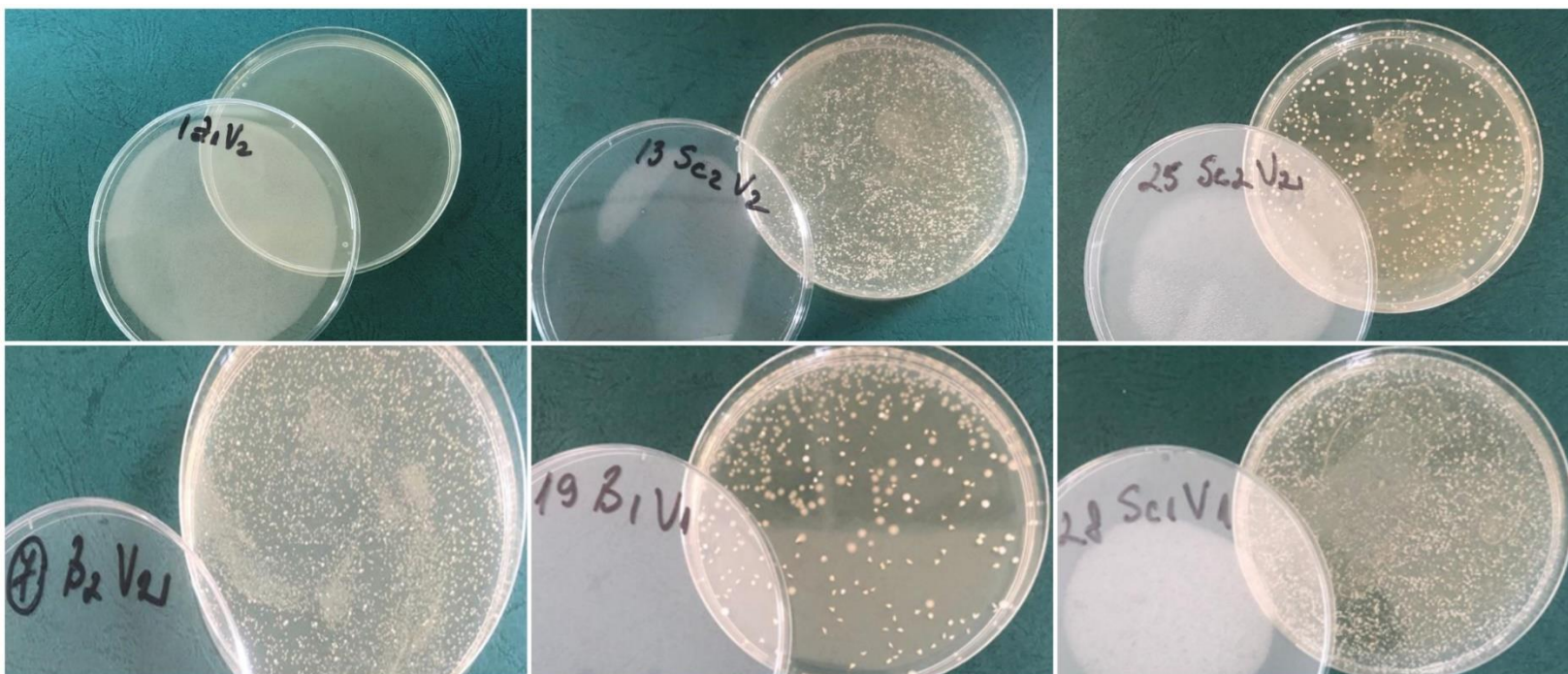
Pe baza acestor rezultate se constată că acțiunea sinergică dintre dioxid de sulf și dimetildicarbonat este evidențiată și de interes pentru cercetările ulterioare, fiind alternative cu rezultate optime pentru stabilitatea microbiologică și antioxidantă a vinurilor. Pe de altă parte s-a constatat și faptul că probele tratate cu cele mai mici doze de dioxid de sulf 20, respectiv 40 mg/L nu au oferit nici protecție antioxidantă suficientă, vinurile prezentând sedimente, fiind tulburi și refermentate. În schimb, pe măsură ce cantitatea de DMDC a crescut se observă o îmbunătățire a culorii vinului, lichidul fiind limpede, fără sedimente și fără refermentări.



Figura 7.8 Aplicarea protocolului microbiologic pentru testarea activității microorganismelor din vinurile tratate
 Figure 7.8 Microbiological protocol for testing the activity of microorganisms in treated wines



a



b

Figura 7.9 a,b Aspecte privind eficacitatea tratamentelor administrate asupra vinurilor experimentale (Set I – după 7 zile)

Figure 7.9 Aspects concerning the effectiveness of treatments on the experimental wines (Set I - after 7 days)

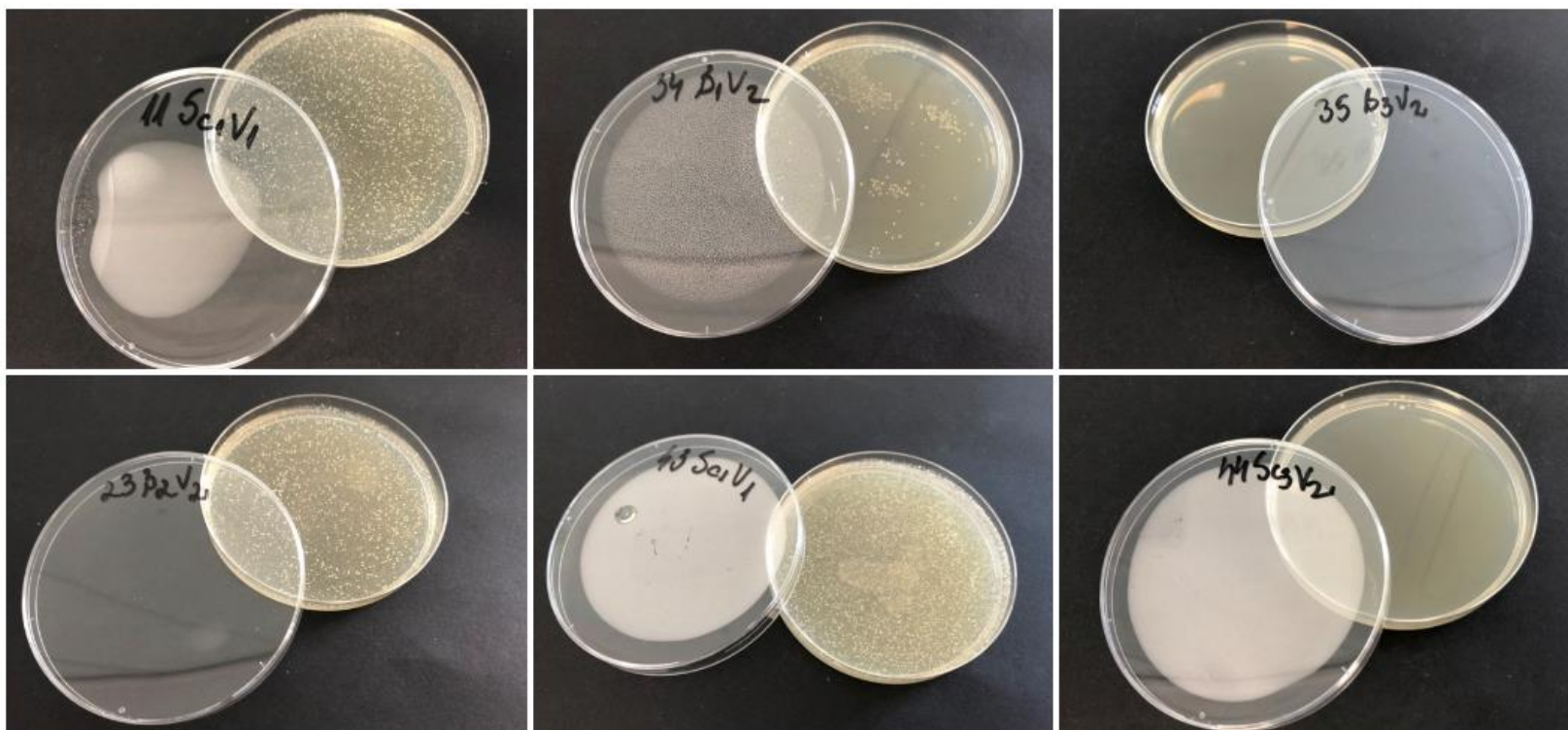


Figura 7.10 Aspecte privind eficacitatea tratamentelor administrate asupra vinurilor experimentale (Set II-după 3 luni)
 Figure 7.10 Aspects concerning the effectiveness of treatments on the experimental wines (Set II - after 3 months)

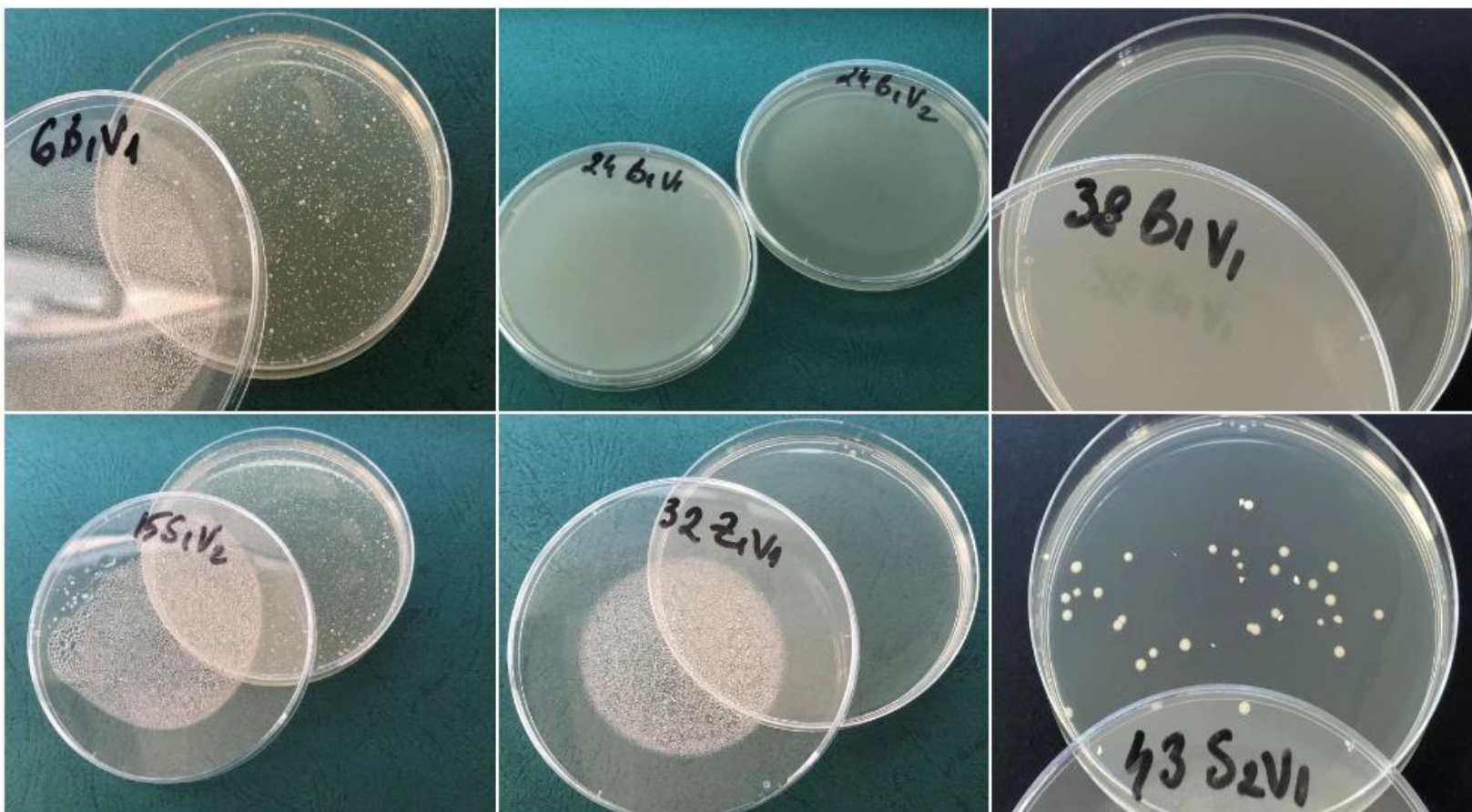


Figura 7.11. Aspecte privind eficacitatea tratamentelor administrate asupra vinurilor experimentale (Set III – după 6 luni)

Figure 7.11 Aspects concerning the effectiveness of treatments on the experimental wines (Set III - after 6 months)

7.5.Evaluarea caracteristicilor senzoriale a probelor de vin studiate

Scopul evaluării senzoriale presupune analiza efectelor sau modificărilor induse de tratamentele administrate în vinurile albe obținute în cadrul primului experiment, respectiv în cel de-al doilea experiment. Au fost luate în studiu 90 de variante experimentale tratate cu soluție de SO₂ 6 % și soluție lichidă de dimetil dicarbonat în diferite concentrații. Graficele profilurilor senzoriale, includ caracteristicile olfactive și gustative care au fost reprezentate ca diagrame ce indică media valorilor obținute pentru descriptorii senzoriali. Profilurile senzoriale ale vinurilor albe studiate au fost determinate pe baza analizei descriptive și, respectiv, de experți în degustare, după care datele obținute au fost centralizate în vederea realizării graficelor reprezentative. Intensitatea descriptorilor senzoriali evaluați poate fi observată în figurile 7.12., 7.13., 7.14. și pe baza figurii 7.15.

Vinurile tratate cu dioxid de sulf în cantitatea cea mai redusă (40 mg/L SO₂) cu/fără DMDC (figura 7.12.) notate cu aromele cele mai pregnante precum fructe coapte, mango, grapefruit și piersici s-au remarcat și prin cele mai mari valori ale parametrilor de oxidare și refermentare. Principala caracteristică care face diferența între *Schizosaccharomyces pombe* și alte levuri fermentative este capacitatea sa de a metaboliza acidul malic în etanol și CO₂ motiv pentru care se explică apariția refermentării în probele cu acest tip de levură rezultat confirmat și de Santiago, 2019.

Pe măsură ce concentrațiile tratamentelor cresc la 80 mg/L SO₂ și DMDC (observate în figura 7.13.) vinurile rezultate sunt mai echilibrate, implicit gradul de oxidare și refermentare s-a redus datorită acțiunii de stabilizare și conservare obținut în urma dozelor administrate.

Notele florale și fructate (fructe tropicale, fructe coapte, miere și flori sălbatice) ale probelor tratate cu DMDC sunt mai expresive în comparație cu variantele tratate doar cu SO₂. Variantele tratate cu cea mai mare cantitate de SO₂ (160 mg/L) și cu DMDC se remarcă prin profilul lor ‘curat’, echilibrat remarcându-se o bună stabilitate a acestora (figura 7.14.).

Delfini ș.a., (2002) confirmă că dimetildicarbonatul poate fi utilizat pentru a înlocui parțial SO₂, fiind și un bun conservant împotriva microorganismelor patogene care sunt responsabile de aromele nedorite din vinuri.

De asemenea, Threlfall ș.a., (2002) precizează de asemenea că avantajul utilizării DMDC-ului este acela de a împiedica acțiunea microorganismelor și de a produce mirosuri sau arome neplăcute în vin, în special când se utilizează doza maximă de 200 mg/L, autorizată de Organizația Internațională a Viei și Vinului, rezultat confirmat și în cadrul acestui studiu.

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.

Testul de omogenitate Levene (tabelul 7.34.) indică în ce măsură eșantioanele comparate sunt omogene din punct de vedere al varianței. Astfel, pentru toate variabilele analizate, valoarea sigma este mai mare de 0,05, astfel putem afirma că cele 3 eșantioane comparate (eșantion 1 dioxid de sulf = 40, eșantion 2 dioxid de sulf = 80, eșantion 3

dioxid de sulf =160) sunt omogene din punct de vedere al varianței, fiind posibilă aplicarea testului Anova One Way.

În urma aplicării testului Anova One Way, au fost evidențiați 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. Totuși s-a obținut o variație nesemnificativă a intensității a descriptorilor senzoriali analizați în raport cu tratamentul administrat în ceea ce privește nota fructată de mango, grapefruit, măr verde, miere, caracterul dulce, onctuos în ceea ce privește probele tratate cu cea mai mică doză de dioxid de sulf 40 mg/L SO_2 și cu/fără DMDC.

Tabelul Pearson evidențiază corelațiile existente între variabile în funcție de tratamentele administrate (tabelul 7.37).

Conform tabelului 7.37 și în concordanță cu figura 7.15 s-au obținut corelații înalte pozitive între caracterul oxidat și refermentat ($r = 0,991$).

În urma aplicării testelor KMO și Bartlett, valoarea probabilității asociate statisticii test calculate (sigma este mai mică de 0,05) $\text{sig.} < 0,05$, ceea ce înseamnă că se respinge ipoteza nulă, cu o probabilitate de 95 % se poate afirma că există legături statistice semnificative între variabile, iar rezultatele obținute la cele două experimente pot fi supuse testului de ACP (Analiza componentelor principale).

În tabelul 7.36 sunt prezentate rezultatele obținute în urma aplicării testului KMO și Bartlett, pe când tabelul 7.38 evidențiază varianța totală calculată în urma Analizei Componentelor Principale.

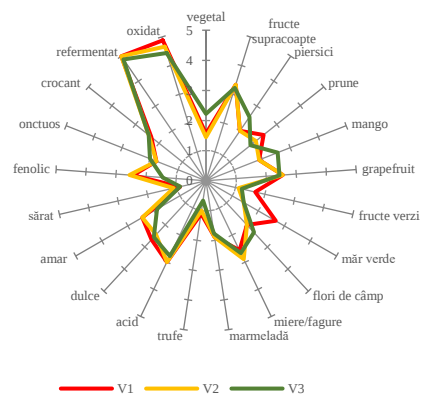
Valorile proprii ale matricei corelațiilor și varianța explicată de axele factoriale pot fi analizate în tabelul 7.38. Numărul de axe factoriale care se interpretează în cazul datelor noastre este egal cu 6, deoarece conform criteriului lui Kaiser, se interpretează acele axe factoriale pentru care valorile proprii sunt mai mari decât valoarea 1. Astfel, în cazul de față se vor interpreta 6 axe factoriale, acestea explicând împreună 75 % din varianța totală.

Tabelul 7.33 /Table 7.33

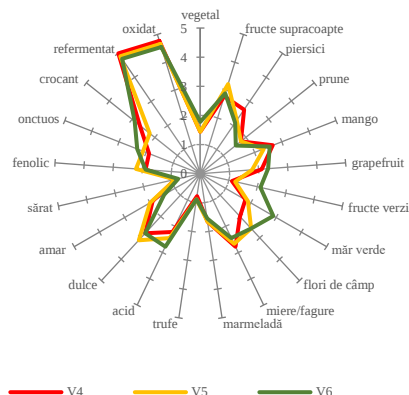
Fișa de degustare pentru evaluarea vinurilor din cadrul experimentului I (V1-V45)

Wine tasting sheet for experiment I samples (V1-V45)

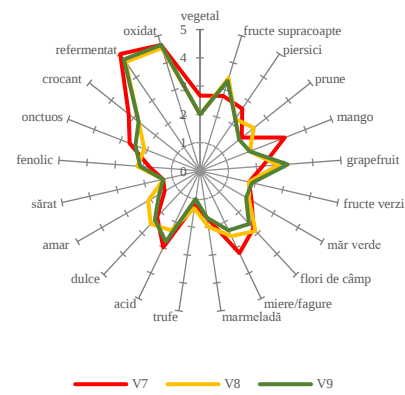
Puncte de bonificație		0	1	2	3	4	5
Profil olfactiv	Vegetal	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Fructe verzi	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Mere verzi	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Fructe supracoapte	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Piersici	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Prune	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Mango	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Grapefruit	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Flori de câmp	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Miere/Fagure	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Trufe	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Marmeladă	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Acid	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Dulce	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Amar	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Sărat	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Fenolic	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Profil tactil	Onctuos	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Crocant	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Observații	Oxidat	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Refermentat	☐	☐	☐	☐	☐	☐



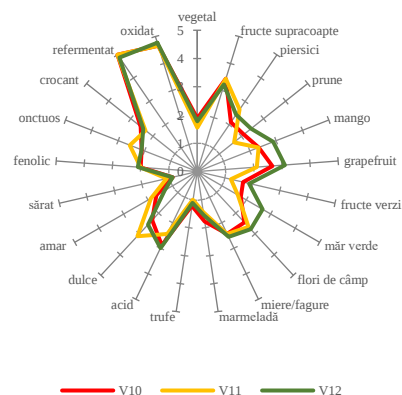
a.



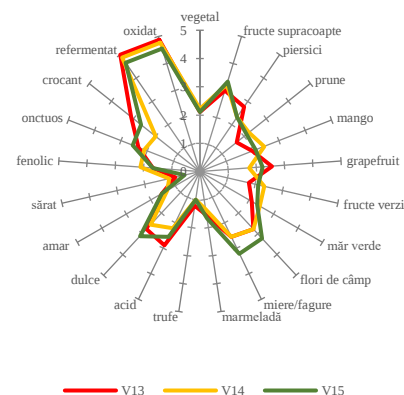
b.



c.



d.



e.

Figura 7.12 Evaluarea senzorială a variantelor V1-V15 (40 mg/L SO₂ cu/fără DMDC)
Figure 7.12 Sensory evaluation of samples V1-V15 (40 mg/L SO₂ with/without DMDC)

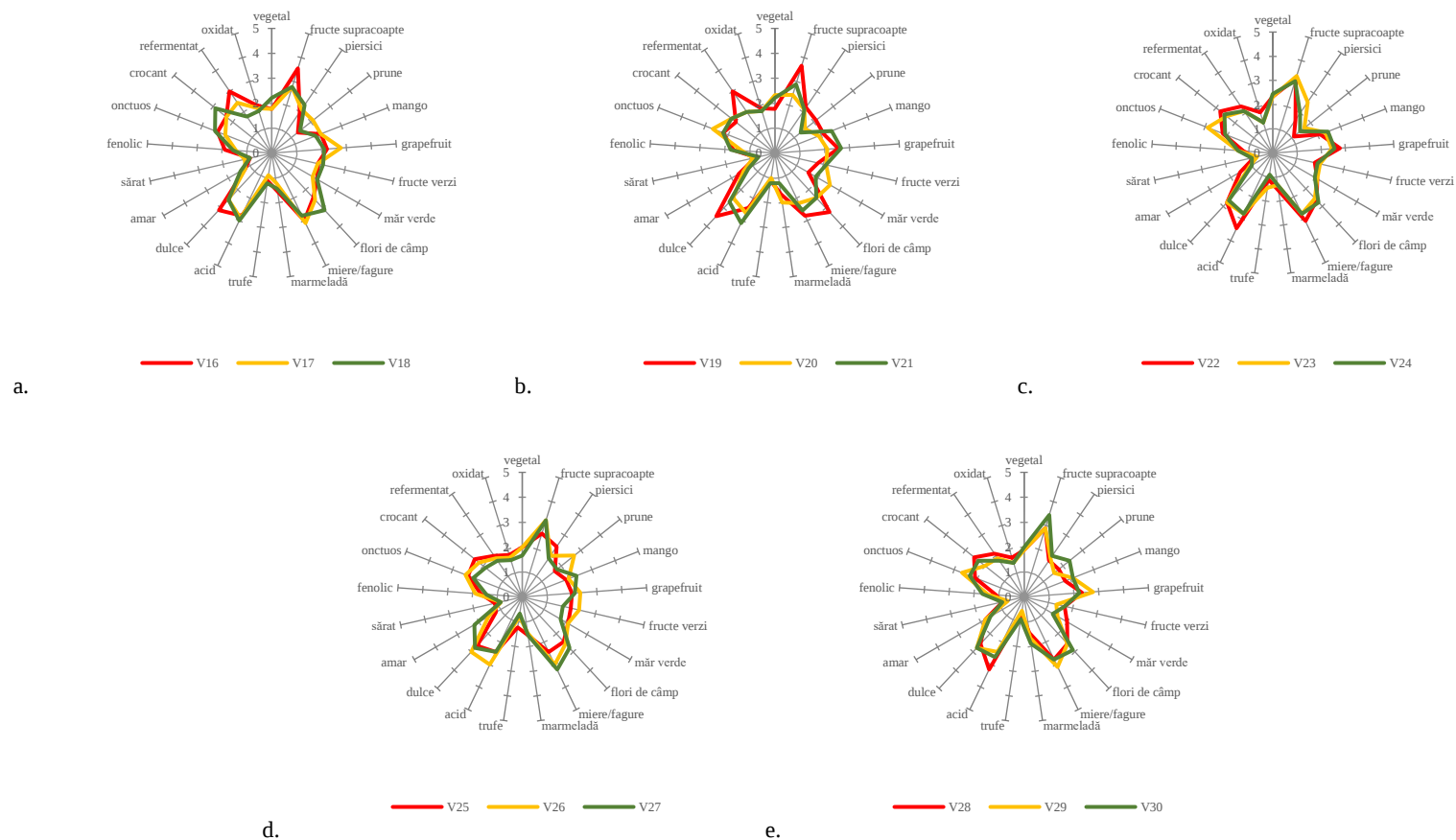


Figura 7.13 Evaluarea senzorială a variantelor V16-V30 (80 mg/L SO₂ cu/fără DMDC)
 Figure 7.13 Sensory evaluation of samples V16-V30 (80 mg/L SO₂ with/without DMDC)

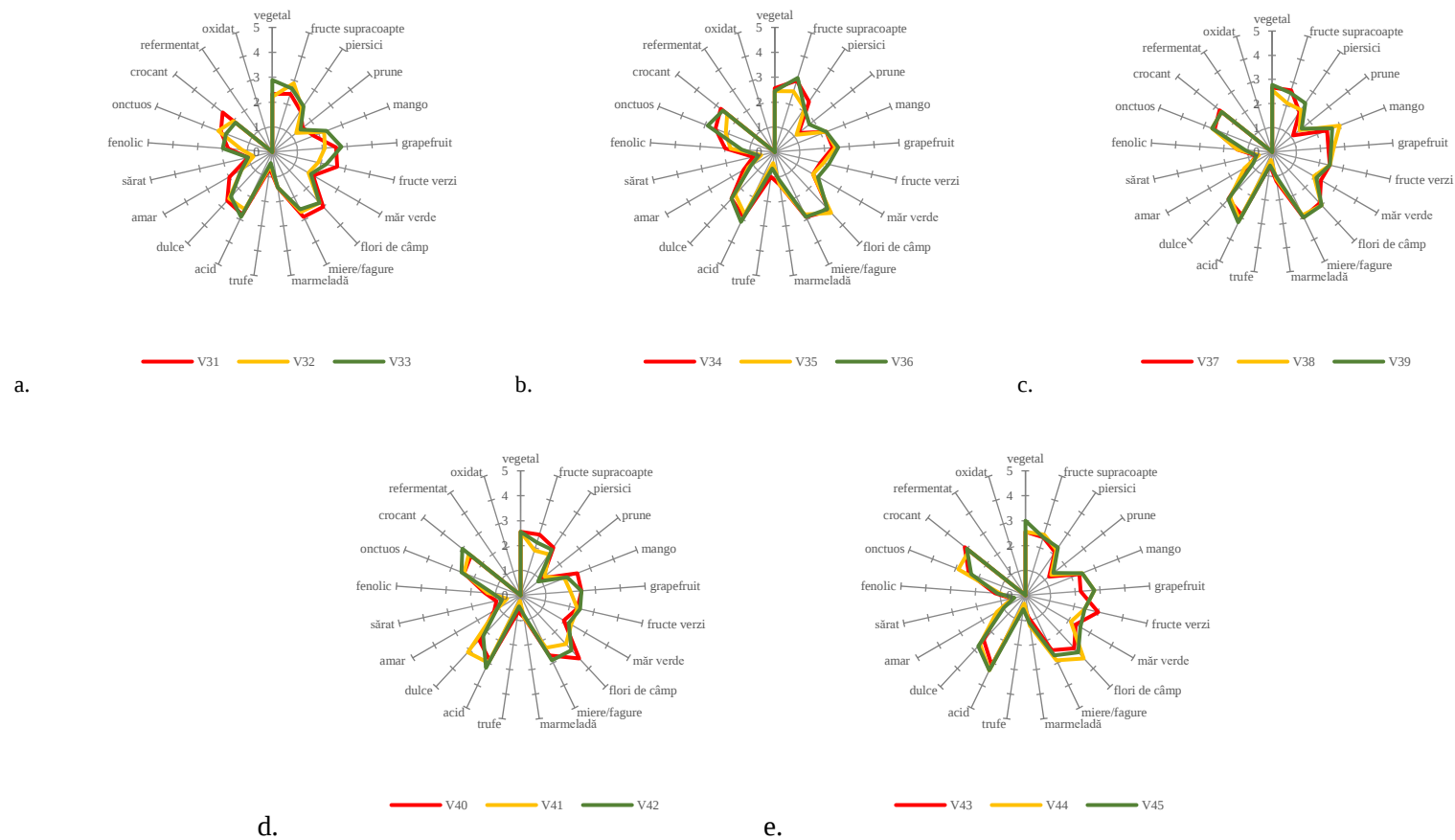


Figura 7.14 Evaluarea senzorială a variantelor V31-V45 (160 mg/L SO₂ cu/fără DMDC)
 Figure 7.14 Sensory evaluation of samples V31-V45 (160 mg/L SO₂ with/without DMDC)

Tabelul 7.34/Table 7.34

Testul de omogenitate al varianței pentru variantele V1-V45
 Test of Homogeneity of Variances for samples V1-V45

Descriptori senzoriali	Testul Statistic Levene	df 1	df2	Sig.
vegetal	3,363	2	42	0,064
fructe supracapte	1,488	2	42	0,238
piersici	2,572	2	42	0,088
prune	1,925	2	42	0,159
mango	2,270	2	42	0,116
grapefruit	2,359	2	42	0,107
fructe verzi	1,158	2	42	0,324
măr verde	1,947	2	42	0,155
flori de câmp	0,598	2	42	0,554
miere/fagure	0,327	2	42	0,723
marmeladă	0,786	2	42	0,462
trufe	2,423	2	42	0,101
acid	0,854	2	42	0,433
dulce	1,803	2	42	0,177
amar	3,790	2	42	0,031*
sărat	1,965	2	42	0,153
fenolic	0,698	2	42	0,503
onctuos	0,287	2	42	0,752
crocant	0,126	2	42	0,882
refermentat	3,100	2	42	0,055
oxidat	2,682	2	42	0,080

*- semnificativ din punct de vedere statistic (Sig. < 0,05); df1 – grade de libertate pentru varianta dintre grupe; df2 – grade de libertate pentru varianta din interiorul grupelor;

Tabelul 7.35/Table 7.35

Testul ANOVA pentru evaluarea senzorială a variantelor V1-V45
ANOVA test for sensory evaluation of V1-V45 variants

Descriptori senzoriali		Suma pătratelor	df-grade de libertate	Media pătratică	F test (Anova)	Sig.
vegetal	Intergrup	4,039	2	2,019	26,870	0,000*
	Intragrup	3,156	42	0,075		
	Totală	7,195	44			
fructe supracoaapte	Intergrup	3,484	2	1,742	18,016	0,000*
	Intragrup	4,061	42	0,097		
	Totală	7,545	44			
persici	Intergrup	0,521	2	0,261	5,105	0,010*
	Intragrup	2,144	42	0,051		
	Totală	2,666	44			
prune	Intergrup	3,321	2	1,660	14,937	0,000*
	Intragrup	4,668	42	0,111		
	Totală	7,989	44			
mango	Intergrup	0,604	2	0,302	3,193	0,051
	Intragrup	3,974	42	0,095		
	Totală	4,578	44			
grapefruit	Intergrup	0,010	2	0,005	0,051	0,951
	Intragrup	4,133	42	0,098		
	Totală	4,143	44			
fructe verzi	Intergrup	3,190	2	1,595	14,224	0,000*
	Intragrup	4,709	42	0,112		
	Totală	7,899	44			
măr verde	Intergrup	0,199	2	0,099	0,848	0,436
	Intragrup	4,921	42	0,117		
	Totală	5,119	44			
flori de câmp	Intergrup	1,920	2	0,960	11,759	0,000*
	Intragrup	3,428	42	0,082		
	Totală	5,348	44			
miere/fagure	Intergrup	0,155	2	0,077	1,211	0,308
	Intragrup	2,687	42	0,064		
	Totală	2,842	44			
marmeladă	Intergrup	2,282	2	1,141	27,524	0,000*
	Intragrup	1,741	42	0,041		
	Totală	4,024	44			
trufe	Intergrup	2,275	2	1,138	25,422	0,000*
	Intragrup	1,879	42	0,045		
	Totală	4,155	44			

*- semnificativ din punct de vedere statistic (Sig. < 0,05); df – grade de libertate; F- testul asociat Anova.

Tabelul 7.35/Table 7.35

Testul ANOVA pentru evaluarea senzorială a variantelor V1-V45 - continuare
ANOVA test for sensory evaluation of V1-V45 variants - continued

Descriptori senzoriali		Suma pătratelor	df-grade de libertate	Media pătratică	F test (Anova)	Sig.
acid	Intergrup	0,827	2	0,413	5,486	0,008*
	Intragrup	3,164	42	0,075		
	Totală	3,991	44			
dulce	Intergrup	0,216	2	0,108	1,675	0,200
	Intragrup	2,710	42	0,065		
	Totală	2,926	44			
amar	Intergrup	2,093	2	1,046	10,731	0,000*
	Intragrup	4,095	42	0,098		
	Totală	6,188	44			
sărat	Intergrup	0,656	2	0,328	9,924	0,000*
	Intragrup	1,389	42	0,033		
	Totală	2,045	44			
fenolic	Intergrup	3,084	2	1,542	19,870	0,000*
	Intragrup	3,260	42	0,078		
	Totală	6,344	44			
onctuos	Intergrup	0,631	2	0,316	4,710	0,014*
	Intragrup	2,813	42	0,067		
	Totală	3,444	44			
crocant	Intergrup	0,657	2	0,328	3,199	0,051
	Intragrup	4,311	42	0,103		
	Totală	4,968	44			
refermentat	Intergrup	173,772	2	86,886	402,962	0,000*
	Intragrup	9,056	42	0,216		
	Totală	182,828	44			
oxidat	Intergrup	159,262	2	79,631	336,968	0,000*
	Intragrup	9,925	42	0,236		
	Totală	169,187	44			

*- semnificativ din punct de vedere statistic (Sig. < 0,05); df – grade de libertate; F- testul asociat Anova.

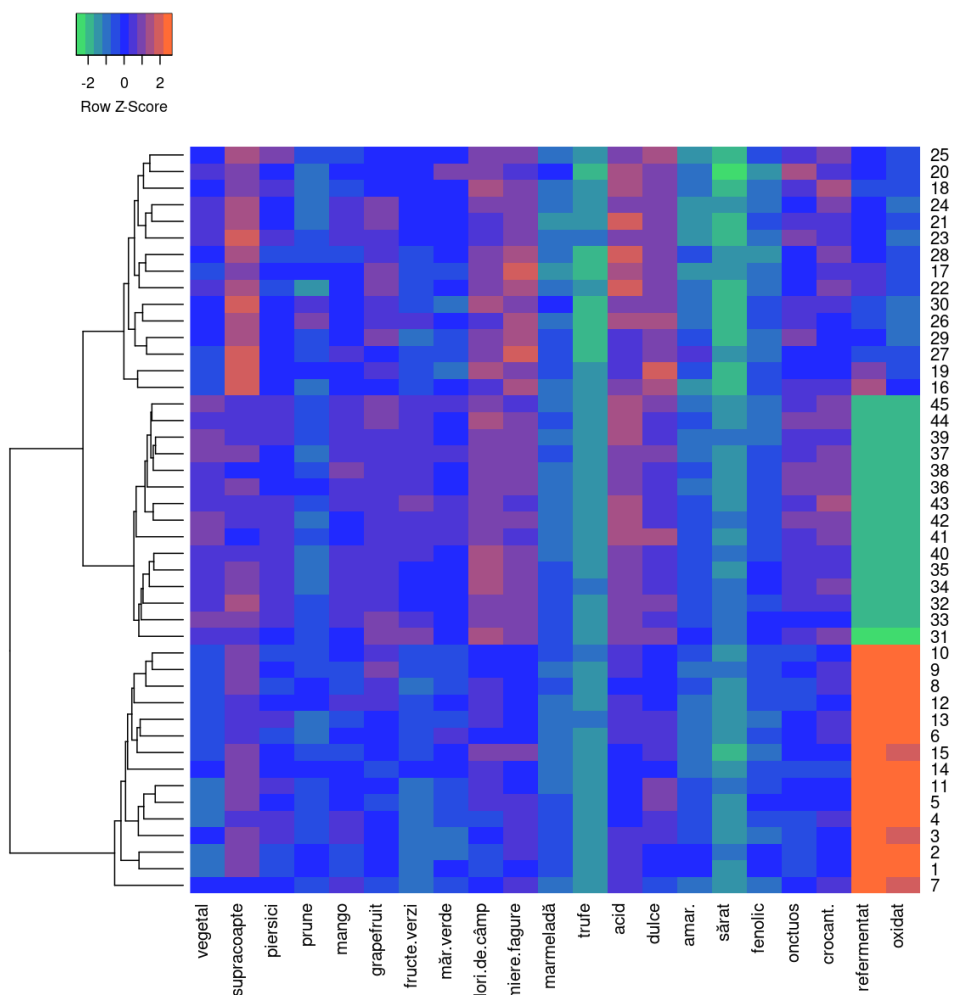


Figura 7.15. Reprezentarea intensității descriptorilor senzoriali analizați în variantele V1-V45
Figure 7.15 Representation of the sensory descriptors intensity in V1-V45 samples

Tabelul 7.36/Table 7.36
Rezultatele indicelui KMO și Bartlett pentru descriptorii senzoriali
KMO and Bartlett's Test for sensorial descriptors

Indicele KMO-Kaiser-Meyer-Olkin și testul Bartlett	0,745
Valoarea aproximativă a lui Chi pătrat	710,123
Numărul gradelor de libertate (df)	210
Sig. (<0,05)	0,000

Tabelul 7.37/Table 7.37

Corelația Pearson pentru analiza senzorială a variantele V1-V45
 Pearson correlation for sensory characteristics of V1-V45 samples

D	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	1,000	-0,620	0,069	-0,556	0,249	0,133	0,721	0,212	0,600	0,056	-0,608	-0,436	0,512	-0,357	-0,690	-0,373	-0,566	0,497	0,383	-0,704	-0,675
2	-0,620	1,000	0,022	0,614	-0,125	0,084	-0,590	-0,288	-0,282	0,083	0,641	0,669	-0,387	0,328	0,465	0,387	0,535	-0,292	-0,341	0,658	0,605
3	0,069	0,022	1,000	0,087	0,399	-0,125	-0,133	0,019	0,077	-0,192	-0,010	0,287	-0,232	-0,035	-0,125	0,210	0,145	0,172	0,283	0,316	0,345
4	-0,556	0,614	0,087	1,000	-0,063	0,085	-0,369	-0,042	-0,349	-0,007	0,607	0,457	-0,326	0,171	0,493	0,429	0,550	-0,357	-0,279	0,639	0,635
5	0,249	-0,125	0,399	-0,063	1,000	0,033	0,041	0,104	0,133	0,177	-0,212	-0,123	0,083	-0,150	-0,300	-0,138	-0,075	0,161	0,153	0,057	0,068
6	0,133	0,084	-0,125	0,085	0,033	1,000	0,053	-0,037	0,087	0,045	0,023	0,026	0,433	-0,271	-0,020	0,004	0,012	-0,050	0,153	-0,027	-0,034
7	0,721	-0,590	-0,133	-0,369	0,041	0,053	1,000	0,516	0,564	-0,044	-0,679	-0,393	0,444	-0,184	-0,639	-0,395	-0,449	0,448	0,314	-0,667	-0,631
8	0,212	-0,288	0,019	-0,042	0,104	-0,037	0,516	1,000	0,038	-0,233	-0,224	0,046	0,277	-0,032	-0,333	-0,212	-0,084	0,169	0,368	0,022	0,061
9	0,600	-0,282	0,077	-0,349	0,133	0,087	0,564	0,038	1,000	0,230	-0,497	-0,328	0,202	-0,022	-0,464	-0,332	-0,428	0,498	0,259	-0,569	-0,546
10	0,056	0,083	-0,192	-0,007	0,177	0,045	-0,044	-0,233	0,230	1,000	-0,085	-0,112	0,145	0,108	0,009	-0,135	-0,232	0,158	0,017	-0,174	-0,208
11	-0,608	0,641	-0,010	0,607	-0,212	0,023	-0,679	-0,224	-0,497	-0,085	1,000	0,573	-0,478	0,105	0,703	0,481	0,572	-0,401	-0,289	0,694	0,675
12	-0,436	0,669	0,287	0,457	-0,123	0,026	-0,393	0,046	-0,328	-0,112	0,573	1,000	-0,271	0,097	0,239	0,511	0,507	-0,162	-0,011	0,661	0,624
13	0,512	-0,387	-0,232	-0,326	0,083	0,433	0,444	0,277	0,202	0,145	-0,478	-0,271	1,000	-0,302	-0,368	-0,384	-0,423	0,235	0,506	-0,423	-0,410
14	-0,357	0,328	-0,035	0,171	-0,150	-0,271	-0,184	-0,032	-0,022	0,108	0,105	0,097	-0,302	1,000	0,109	-0,261	0,041	0,027	-0,294	0,145	0,090
15	-0,690	0,465	-0,125	0,493	-0,300	-0,020	-0,639	-0,333	-0,464	0,009	0,703	0,239	-0,368	0,109	1,000	0,432	0,576	-0,531	-0,277	0,554	0,564
16	-0,373	0,387	0,210	0,429	-0,138	0,004	-0,395	-0,212	-0,332	-0,135	0,481	0,511	-0,384	-0,261	0,432	1,000	0,567	-0,348	-0,102	0,535	0,536
17	-0,566	0,535	0,145	0,550	-0,075	0,012	-0,449	-0,084	-0,428	-0,232	0,572	0,507	-0,423	0,041	0,576	0,567	1,000	-0,522	-0,240	0,655	0,674
18	0,497	-0,292	0,172	-0,357	0,161	-0,050	0,448	0,169	0,498	0,158	-0,401	-0,162	0,235	0,027	-0,531	-0,348	-0,522	1,000	0,326	-0,431	-0,425
19	0,383	-0,341	0,283	-0,279	0,153	0,153	0,314	0,368	0,259	0,017	-0,289	-0,011	0,506	-0,294	-0,277	-0,102	-0,240	0,326	1,000	-0,042	-0,001
20	-0,704	0,658	0,316	0,639	0,057	-0,027	-0,667	0,022	-0,569	-0,174	0,694	0,661	-0,423	0,145	0,554	0,535	0,655	-0,431	-0,042	1,000	0,991
21	-0,675	0,605	0,345	0,635	0,068	-0,034	-0,631	0,061	-0,546	-0,208	0,675	0,624	-0,410	0,090	0,564	0,536	0,674	-0,425	-0,001	0,991	1,000

D-descriptori; 1-vegetal; 2-fructe supracoaapte; 3-piersici; 4-prune; 5-mango; 6-grapefruit; 7-fructe verzi; 8-măr verde; 9-flori de câmp; 10-miere/figure; 11-marmeladă; 12- trufe; 13- acid; 14- dulce; 15-amar; 16- sărat; 17-fenolic;18- onctuos; 19- crocant; 20- refermentat; 21- oxidat;

Tabelul 7.38/Table 7.38

Analiza componentelor principale-Varianța totală a descriptorilor senzoriali pentru probele P1-P45
Principal component analysis-Total variance of sensorial descriptors for P1-P45 samples

Componente	Valorile proprii initiale			Suma extracțiilor patratelor		
	Total	% Varianță	Cumulativ %	Total	% Varianță	Cumulativ %
1	8,009	38,139	38,139	8,009	38,139	38,139
2	2,340	11,145	49,284	2,340	11,145	49,284
3	1,723	8,205	57,489	1,723	8,205	57,489
4	1,483	7,064	64,553	1,483	7,064	64,553
5	1,322	6,293	70,846	1,322	6,293	70,846
6	1,073	5,107	75,953	1,073	5,107	75,953
7	0,883	4,203	80,156			
8	0,753	3,588	83,744			
9	0,633	3,015	86,759			
10	0,512	2,438	89,197			
11	0,413	1,968	91,165			
12	0,345	1,645	92,810			
13	0,328	1,561	94,371			
14	0,294	1,402	95,773			
15	0,236	1,126	96,899			
16	0,197	0,936	97,835			
17	0,157	0,747	98,582			
18	0,137	0,651	99,232			
19	0,097	0,461	99,693			
20	0,062	0,295	99,988			
21	0,002	0,012	100,000			

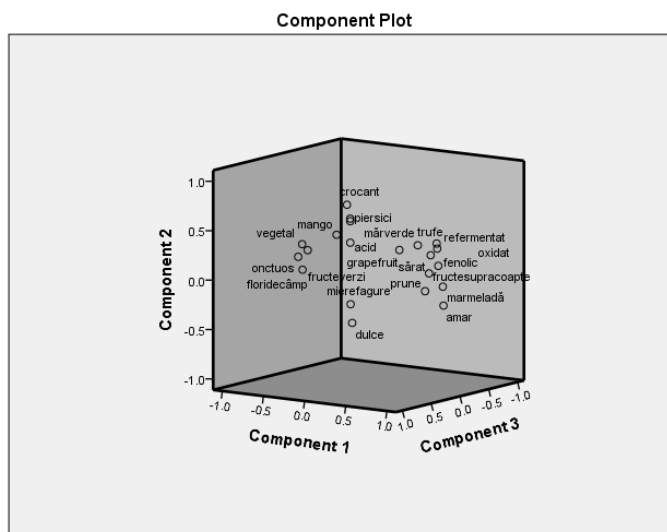


Figura 7.16. Reprezentarea grafică a variabilelor în sistemul celor 6 axe factoriale
Figure 7.16. Graphical representation of the variables in the 6 factorial axis system

Aromele dominante de fructe din probele de Grüner Veltliner sunt cele de lime, lămâie și grapefruit. Există, de asemenea, o aromă vegetală și ierboasă care este adesea descrisă ca fiind piper alb. Conform rezultatelor centralizate în urma evaluării senzoriale se pot observa aceste arome care au fost sesizate diferențiat în funcție de dozele de SO₂ și DMDC administrate.

Pentru a reduce eventualele erori de analiză, condițiile pentru desfășurarea degustării au fost îndeplinite iar temperatura optimă de servire a vinurilor a fost de 8-10°C pentru ca astfel complexitatea aromelor să poată fi dezvoltată în totalitate.

În cazul probelor experimentale analizate, se pot observa diferențe organoleptice majore în funcție de dozele tratamentelor administrate, SO₂ și DMDC, dar și de particularitățile soiului Grüner Veltliner. În ceea ce privește probele P1-P15 se poate remarca în graficele din figura 7.17 că aromele cele mai apreciate au fost cele de fructe verzi, piersici, lămâie, lime, grapefruit, miere, cu aciditate moderată, crocant și onctuos în special la cele tratate cu DMDC și arome discrete de flori de câmp și condimente iar la probele tratate doar cu SO₂ aceste arome sunt mai reduse și în plus caracterizate prin caracterul fenolic. Acesta apare datorită activității levurilor din genul *Brettanomyces* în special, care produc compuși secundari de tipul 4-etilfenol (4-EP) și 4-etilguaiacol (4-EG), rezultat confirmat și de Milheiro, ș.a., 2017 și Filipe-Ribeiro ș.a., 2018. De asemenea se remarcă la aceste probe și caracterul de oxidat și refermentat datorat activității levuriene și tratării insuficiente a vinurilor.

Odată cu creșterea dozelor tratamentelor administrate 40 mg/L SO₂ și DMDC (P16-P30) reprezentate în figura 7.18. se remarcă aromele caracteristice de fructe coapte, piersici, grapefruit, miere, caracterul crocant și aciditatea moderată, dar mai discrete în acest caz fiind notele de lămâie, lime, condimente. În ceea ce privește caracterul de oxidat și refermentat se observă apariția acestora în cazul probelor tratate doar cu SO₂ iar la cele

tratate în plus cu DMDC se observă o reducere semnificativă a acestor procese de nedorit în industria vinicolă pe măsură ce crește concentrația de DMDC.

Cele mai apreciate probe în urma analizei senzoriale au fost cele tratate cu cea mai mare doză, respectiv 80 mg/L SO₂ și/fără DMDC (P31-P45). Caracteristicile sunt reprezentate în figura 7.19. Probele s-au evidențiat printr-o complexitate de arome specifice soiului din care este produs vinul și printr-un profil curat, armonios, fiind creat un echilibru între aromele de lime, lămâie, grapefruit, piper alb și aciditate. De asemenea trendul constant al caracterelor crocant și onctuos poate fi remarcat în urma graficelor reprezentative, demonstrându-se că efectul sinergic dintre cele două tratamente administrate acționează pozitiv în ceea ce privește profilul senzorial al probelor analizate.

În ceea ce privește rezultatele experimentului II, tratamentul administrat a manifestat o acțiune semnificativă asupra indicatorilor senzoriali analizați, cu excepția caracterului vegetal, dulce, dar și crocant.

În urma aplicării analizei în componente principale, au fost extrase 18 componente principale. Valorile proprii ale matricei corelațiilor și varianța explicată de axele factoriale pot fi analizate în tabelul 7.44. Numărul de axe factoriale care se interpretează în cazul datelor analizate este egal cu 4, deoarece conform criteriului lui Kaiser, se interpretează acele axe factoriale pentru care valorile proprii sunt mai mari decât valoarea 1 (coloana a doua a tabelului). Cu toate acestea, interpretarea a 4 axe factoriale este extrem de dificilă, motiv pentru care au fost alese doar primele 2 axe factoriale. În figura 7.21 sunt reprezentate variabilele și unitățile statistice (probele studiate), în funcție de cele 2 axe factoriale.

Conform tabelului 7.43 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, în figura 7.21 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.

Tabelul 7.39 /Table 7.39

Fișa de degustare pentru evaluarea vinurilor din cadrul experimentului II (P1-P45)

Wine tasting sheet for experiment II samples (P1-P45)

Puncte de bonificație		0	1	2	3	4	5
Profil olfactiv	Vegetal	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Fructe verzi	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Fructe coapte	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Piersici	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Lime	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Lămâie	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Grapefruit	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Flori de câmp	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Miere/Fagure	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Condimente	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Piper alb	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Acid	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Dulce	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Amar	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Sărat	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Fenolic	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Profil gustativ	Onctuos	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Crocant	☐	☐	☐	☐	☐	☐
Profil tactil							
Observații	Oxidat	☐	☐	☐	☐	☐	☐
	Refermentat	☐	☐	☐	☐	☐	☐

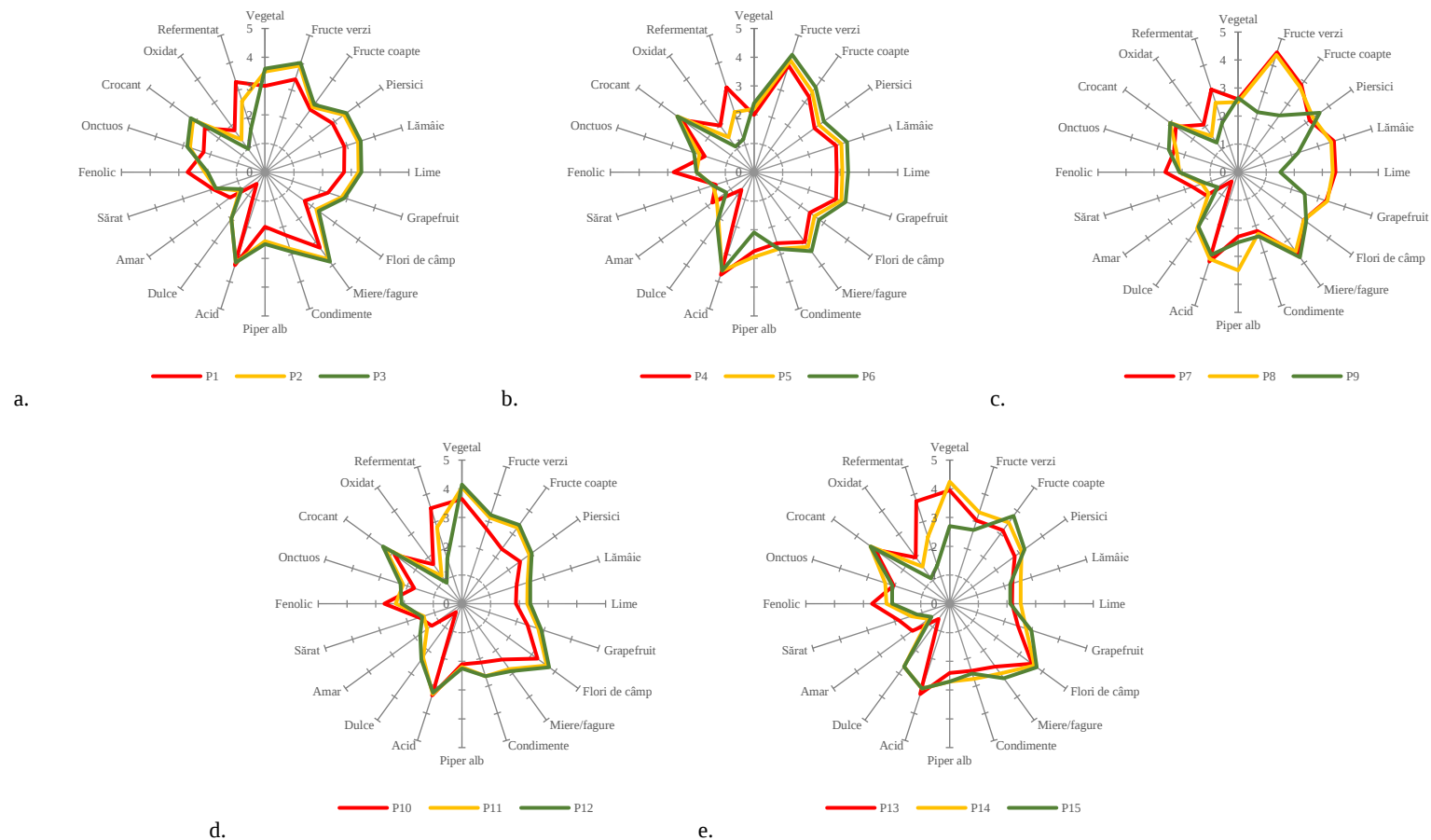
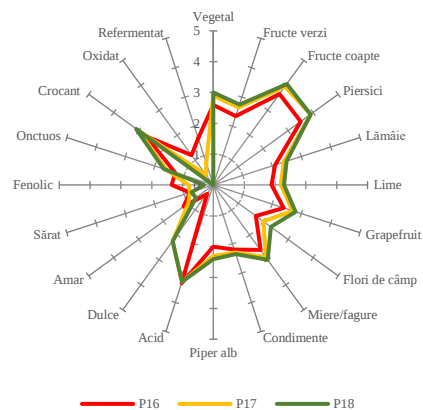
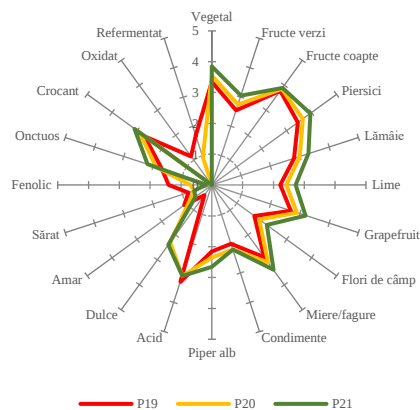


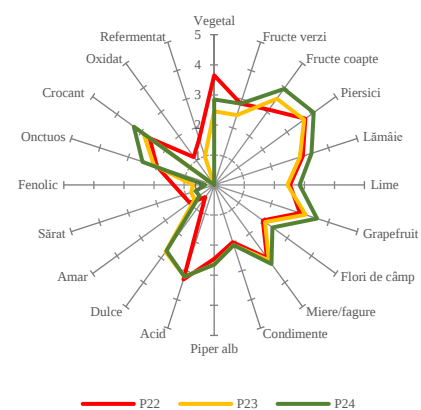
Figura 7.17 Evaluarea senzorială a probelor P1-P15 (20 mg/L SO₂ cu/fără DMDC)
 Figure 7.17 Sensory evaluation of samples P1-P15 (20 mg/L SO₂ with/without DMDC)



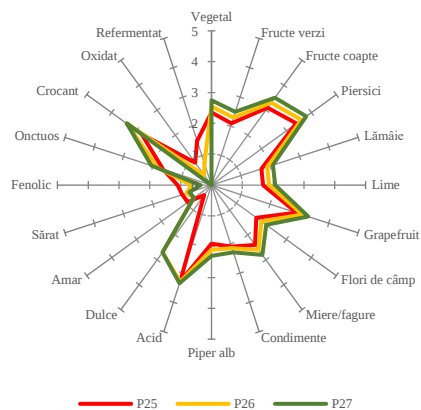
a.



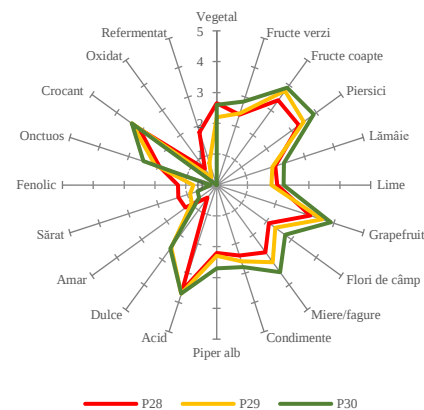
b.



c.

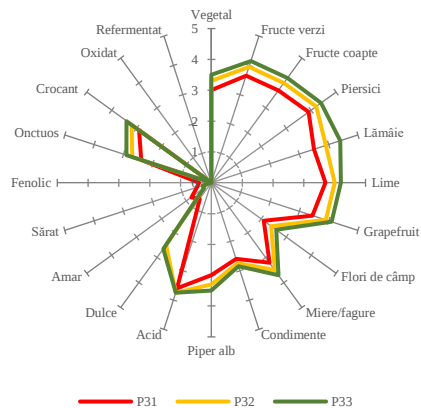


d.

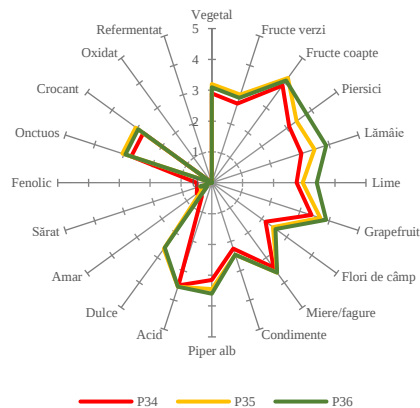


e.

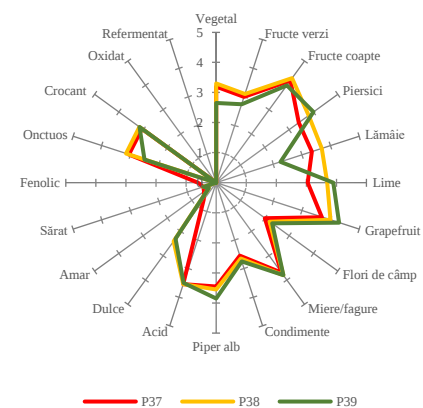
Fig 7.18 Evaluarea senzorială a probelor P16-P30 (40 mg/L SO₂ cu/fără DMDC)
Figure 7.18 Sensory evaluation of samples P16-P30 (40 mg/L SO₂ with/without DMDC)



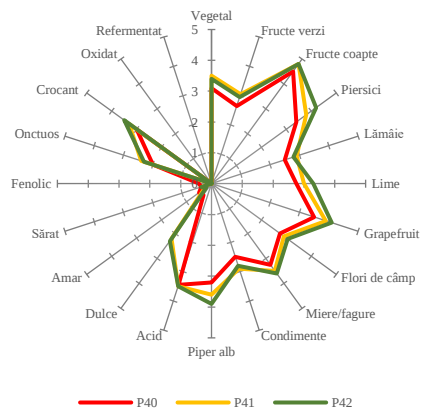
a.



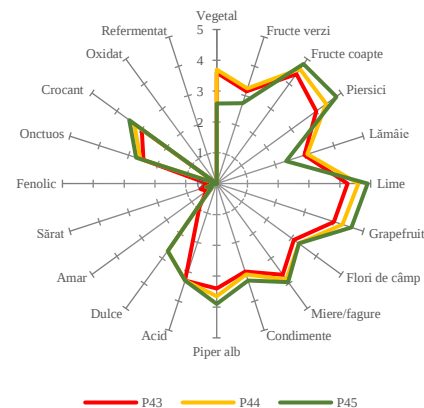
b.



c.



d.



e.

Fig 7.19 Evaluarea senzorială a probelor P31-P45 (80 mg/L SO₂ și/fără DMDC)
Figure 7.19 Sensory evaluation of samples P31-P45 (80 mg/L SO₂ with/without DMDC)

Tabelul 7.40/Table 7.40

Testul de omogenitate al varianței pentru probele P1-P45
Test of Homogeneity of Variances for P1-P45 samples

Descriptori senzoriali	Testul Statistic Levene	df1	df2	Sig.
Vegetal	10,672	2	42	0,000*
Fructe verzi	7,667	2	42	0,001*
Fructe coapte	1,768	2	42	0,183
Piersici	2,437	2	42	0,100
Lămâie	0,019	2	42	0,981
Lime	4,772	2	42	0,014*
Grapefruit	0,213	2	42	0,809
Flori de câmp	5,202	2	42	0,010*
Miere/fagure	3,517	2	42	0,039*
Condimente	0,596	2	42	0,556
Piper alb	1,197	2	42	0,312
Acid	0,539	2	42	0,588
Dulce	0,509	2	42	0,605
Amar	4,353	2	42	0,019*
Sărat	5,031	2	42	0,011*
Fenolic	3,698	2	42	0,033*
Onctuos	0,104	2	42	0,901
Crocant	0,702	2	42	0,501

*- semnificativ din punct de vedere statistic (Sig. < 0,05); df1 – grade de libertate pentru varianta dintre grupe; df2 – grade de libertate pentru varianta din interiorul grupelor;

Tabel 7.41/Table 7.41

Testul ANOVA pentru evaluarea senzorială a probelor P1-P45
ANOVA test for sensory evaluation of P1-P45 samples

Descriptori senzoriali		Suma pătratelor	df	Media pătratică	F test (Anova)	Sig.
Vegetal	Intergrup	0,855	2	0,428	1,364	0,267
	Intragrup	13,167	42	0,314		
	Totală	14,022	44			
Fructe verzi	Intergrup	6,736	2	3,368	13,719	0,000*
	Intragrup	10,311	42	0,246		
	Totală	17,048	44			
Fructe coapte	Intergrup	8,856	2	4,428	29,991	0,000*
	Intragrup	6,201	42	0,148		
	Totală	15,058	44			
Piersici	Intergrup	5,944	2	2,972	24,472	0,000*
	Intragrup	5,101	42	0,121		
	Totală	11,045	44			
Lămâie	Intergrup	3,835	2	1,917	5,764	0,006*
	Intragrup	13,971	42	0,333		
	Totală	17,806	44			
Lime	Intergrup	15,801	2	7,900	24,760	0,000*
	Intragrup	13,402	42	0,319		
	Totală	29,202	44			
Grapefruit	Intergrup	9,159	2	4,579	35,495	0,000*
	Intragrup	5,419	42	0,129		
	Totală	14,577	44			
Flori de câmp	Intergrup	5,611	2	2,805	12,407	0,000*
	Intragrup	9,497	42	0,226		
	Totală	15,108	44			
Miere/fagure	Intergrup	3,207	2	1,603	15,073	0,000*
	Intragrup	4,468	42	0,106		
	Totală	7,674	44			

*- semnificativ din punct de vedere statistic (Sig. < 0,05); df – grade de libertate; F- testul asociat Anova.

Tabel 7.41/Table 7.41

Testul ANOVA pentru evaluarea senzorială a probelor P1-P45 - continuare
ANOVA test for sensory evaluation of P1-P45 samples - continued

Descriptori senzoriali		Suma pătratelor	df	Media pătratică	F	Sig.
Condimente	Intergrup	1,720	2	0,860	14,091	0,000*
	Intragrup	2,564	42	0,061		
	Totală	4,284	44			
Piper alb	Intergrup	11,999	2	5,999	61,467	0,000*
	Intragrup	4,099	42	0,098		
	Totală	16,098	44			
Acid	Intergrup	0,295	2	0,147	4,916	0,012*
	Intragrup	1,259	42	0,030		
	Totală	1,554	44			
Dulce	Intergrup	0,185	2	0,092	0,102	0,903
	Intragrup	38,055	42	0,906		
	Totală	38,239	44			
Amar	Intergrup	6,720	2	3,360	56,058	0,000*
	Intragrup	2,517	42	0,060		
	Totală	9,237	44			
Sărat	Intergrup	9,900	2	4,950	160,340	0,000*
	Intragrup	1,297	42	0,031		
	Totală	11,197	44			
Fenolic	Intergrup	36,677	2	18,339	162,232	0,000*
	Intragrup	4,748	42	0,113		
	Totală	41,425	44			
Onctuos	Intergrup	3,985	2	1,993	19,411	0,000*
	Intragrup	4,312	42	0,103		
	Totală	8,297	44			
Crocant	Intergrup	0,069	2	0,034	0,559	0,576*
	Intragrup	2,586	42	0,062		
	Totală	2,654	44			

*- semnificativ din punct de vedere statistic (Sig. < 0,05); df – grade de libertate; F- testul asociat Anova.

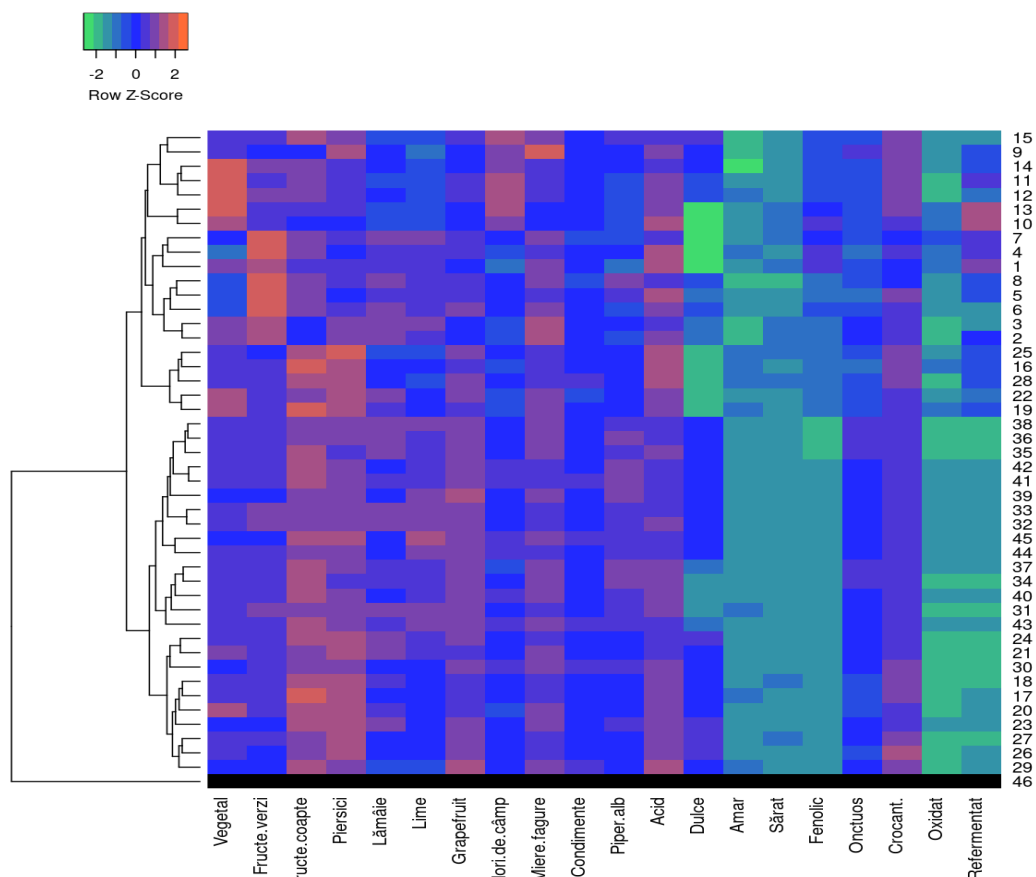


Figura 7.20 Reprezentarea intensității descriptorilor senzoriali analizați în probele P1-P45

Figure 7.20 Representation of the sensory descriptors intensity în P1-P45 samples

În tabelul 7.42 se prezintă rezultatele obținute în urma aplicării testului KMO și Bartlett, iar tabelul 7.44 evidențiază varianța totală calculată în urma Analizei Componentelor Principale pentru probele P1-P45.

Tabelul 7.42/Table 7.42

Testul KMO și Bartlett KMO and Bartlett's Test	
Testul KMO-Kaiser-Meyer-Olkin Bartlett	0,732
Valoarea aproximativă a lui Chi pătrat	910,606
Numărul gradelor de libertate (df)	153
Sig. (<0,05)	0,000

Tabel 7.43/Table 7.43

Corelația Pearson pentru analiza senzorială a probelor P1-P45
 Pearson correlation for sensory characteristics of P1-P45 samples

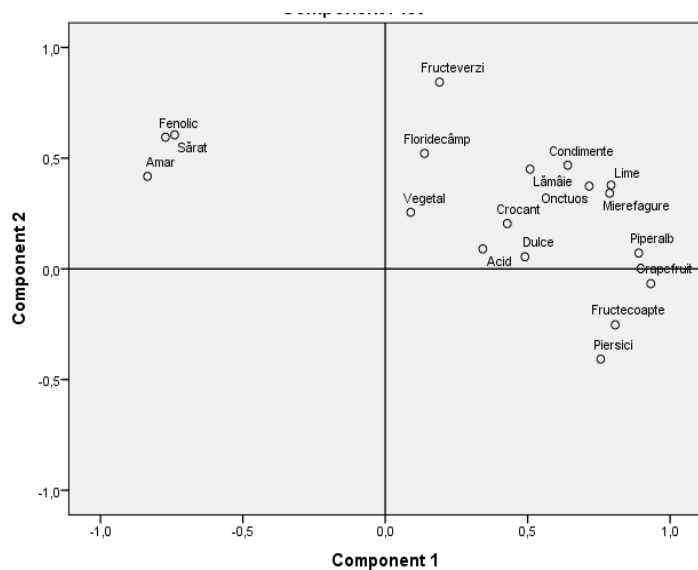
D	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	1,000	0,087	0,027	0,037	0,198	0,130	-0,086	0,366	0,047	0,153	0,080	-0,324	0,035	-0,089	0,008	0,012	0,222	0,074
2	0,087	1,000	-0,007	-0,167	0,708	0,567	0,123	0,212	0,413	0,385	0,189	0,288	0,055	0,241	0,337	0,320	0,344	0,100
3	0,027	-0,007	1,000	0,636	0,274	0,561	0,796	0,108	0,475	0,411	0,735	0,241	0,288	-0,707	-0,794	-0,757	0,314	0,311
4	0,037	-0,167	0,636	1,000	0,213	0,510	0,678	-0,134	0,493	0,312	0,536	0,024	0,444	-0,804	-0,748	-0,824	0,334	0,262
5	0,198	0,708	0,274	0,213	1,000	0,659	0,356	-0,101	0,613	0,192	0,452	0,279	0,147	-0,248	-0,175	-0,183	0,631	-0,097
6	0,130	0,567	0,561	0,510	0,659	1,000	0,736	0,159	0,755	0,658	0,748	0,285	0,190	-0,482	-0,357	-0,376	0,631	0,180
7	-0,086	0,123	0,796	0,678	0,356	0,736	1,000	0,136	0,664	0,588	0,841	0,450	0,384	-0,756	-0,714	-0,748	0,611	0,436
8	0,366	0,212	0,108	-0,134	-0,101	0,159	0,136	1,000	0,131	0,498	0,233	-0,198	0,296	0,066	0,192	0,258	0,174	0,551
9	0,047	0,413	0,475	0,493	0,613	0,755	0,664	0,131	1,000	0,605	0,726	0,182	0,365	-0,554	-0,322	-0,368	0,831	0,199
10	0,153	0,385	0,411	0,312	0,192	0,658	0,588	0,498	0,605	1,000	0,572	0,332	0,364	-0,311	-0,156	-0,197	0,507	0,633
11	0,080	0,189	0,735	0,536	0,452	0,748	0,841	0,233	0,726	0,572	1,000	0,312	0,319	-0,713	-0,648	-0,601	0,656	0,296
12	-0,324	0,288	0,241	0,024	0,279	0,285	0,450	-0,198	0,182	0,332	0,312	1,000	-0,117	-0,130	-0,255	-0,258	0,258	0,135
13	0,035	0,055	0,288	0,444	0,147	0,190	0,384	0,296	0,365	0,364	0,319	-0,117	1,000	-0,388	-0,261	-0,362	0,344	0,705
14	-0,089	0,241	-0,707	-0,804	-0,248	-0,482	-0,756	0,066	-0,554	-0,311	-0,713	-0,130	-0,388	1,000	0,857	0,886	-0,528	-0,233
15	0,008	0,337	-0,794	-0,748	-0,175	-0,357	-0,714	0,192	-0,322	-0,156	-0,648	-0,255	-0,261	0,857	1,000	0,942	-0,280	-0,133
16	0,012	0,320	-0,757	-0,824	-0,183	-0,376	-0,748	0,258	-0,368	-0,197	-0,601	-0,258	-0,362	0,886	0,942	1,000	-0,343	-0,214
17	0,222	0,344	0,314	0,334	0,631	0,631	0,611	0,174	0,831	0,507	0,656	0,258	0,344	-0,528	-0,280	-0,343	1,000	0,238
18	0,074	0,100	0,311	0,262	-0,097	0,180	0,436	0,551	0,199	0,633	0,296	0,135	0,705	-0,233	-0,133	-0,214	0,238	1,000

D-descriptori; 1-vegetal; 2- fructe verzi; 3- fructe coapte; 4- piersici; 5- lămâie; 6- lime; 7- grapefruit; 8- flori de câmp; 9- miere/fagure; 10- condimente; 11- piper alb; 12- acid; 13- dulce; 14- amar; 15- sărat; 16- Fenolic; 17- Onctuos; 18- Crocant.

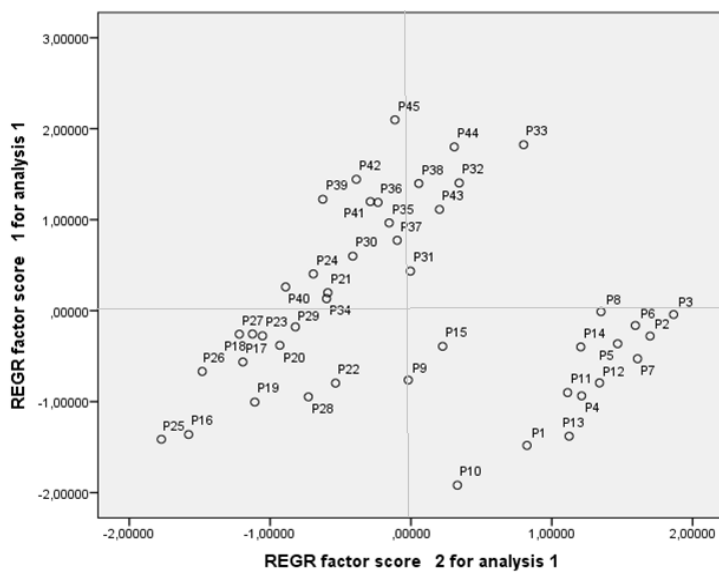
Tabel 7.44/Table 7.44

Analiza componentelor principale-Varianța totală a descriptorilor senzoriali pentru probele P1-P45
Principal component analysis-Total variance of P1-P45 samples

Componente	Valorile inițiale ale vectorilor proprii			Suma pătratelor factorilor reținuți		
	Total	% Varianță	Cumulativ %	Total	% Varianță	Cumulativ %
1	7,760	43,113	43,113	7,760	43,113	43,113
2	3,058	16,987	60,100	3,058	16,987	60,100
3	2,167	12,039	72,139			
4	1,433	7,963	80,102			
5	0,956	5,310	85,413			
6	0,657	3,653	89,065			
7	0,621	3,448	92,513			
8	0,473	2,627	95,140			
9	0,199	1,108	96,248			
10	0,164	0,914	97,162			
11	0,133	0,736	97,898			
12	0,102	0,564	98,462			
13	0,093	0,518	98,980			
14	0,065	0,361	99,341			
15	0,042	0,236	99,577			
16	0,033	0,181	99,758			
17	0,026	0,145	99,904			
18	0,017	0,096	100,000			



a



b

Figura 7.21 Analiza componentelor principale pentru probele P1-P45
Figure 7.21 Principal component analysis for samples P1-P45

CONCLUZII

În ceea ce privește rezultatele determinărilor fizico-chimice uzuale 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. Totuși, valorile parametrilor analizați la probele fără tratament de DMDC au variat între cele două perioade de analiză. În schimb, o bună stabilitate au prezentat variantele V31-V45 a căror schemă de tratamente a fost cea cu 160 mg/L SO₂ și DMDC, rezultatele fiind similare între probele analizate.

În ceea ce privește rezultatele fizico-chimice a probelor P1-P45 obținute după experimentul II se confirmă faptul că tratamentele cu 20 sau 40 mg/L SO₂ și sau fără DMDC variază de la o schemă de tratament la alta, iar cele obținute în urma tratamentului cu 80 mg/L SO₂ și DMDC oferă stabilitate fizico-chimică între parametrii studiați. De asemenea, în ceea ce privește concentrațiile de dioxid de sulf rezultate se observă că valorile determinate pentru vinurile martor în cazul celor două experimente sunt mai reduse comparativ cu momentul realizării experimentelor, datorită proceselor chimice favorizate de timpul de păstrare.

Analizând datele din punct de vedere statistic se constată că metoda de analiză a componentelor principale poate fi aplicată pe rezultatele analizei compușilor volatili din probele experimentului I, 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 în care valoarea $r > 0,8$. În schimb, corelații negative s-au obținut între perechile de compuși: lactat de etil – acetaldehidă; acetat de etil – acetaldehidă; 1-butanol – acetaldehidă. Acetatul de etil, 1-propanol, 2-metil-1-propanol, acetat de izoamil, 1-butanol, și lactatul de etil sunt compuși care conferă vinurilor arome fructate, florale îmbogățind profilul de aromă aspect confirmat în vinurile analizate.

Conform analizei în componente principale (ACP) s-au obținut corelații medii cu valoarea $r > 0,6$ între grupurile de compuși identificați în experimentul II: 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 (P40-P42-P17-P34-P7-P1, P27-P36-P16-P45-P31, P39-P13-P23-P12-P20, etc). În ceea ce privește variantele primului experiment, se observă un interval al concentrațiilor de metanol cuprins între 47,04 (V34) și 155,71 (V30). În probele experimentului II, concentrațiile se încadrează între 6,62 (P40) și 44,76 (P39).

Creșterea conținutului de metanol în probele analizate se datorează descompunerii DMDC-ului în metanol și dioxid de carbon dar cu toate acestea, concentrațiile rezultate în urma aplicării acestui tratament se încadrează în limita admisă în vinurile albe și anume de

250 mg/L metanol, din acest considerent, vinurile obținute fiind sigure pentru consumul uman fără a prezenta risc asupra sănătății.

Analiza statistică pentru primele rezultate ale determinării parametrilor cromatici ai variantelor din primul experiment (V1-V45), 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 dioxid de sulf - 40 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 mai închisă, cu o culoare cărămizie, fiind oxidată. De asemenea, indicatorul **b*** a prezentat valori invers proporționale nivelului de dioxid de sulf administrat. Astfel, pentru grupul de variante dioxid de sulf - 40 și cu/fără DMDC, s-a obținut o valoare medie, de aproape 4 ori mai mică pentru probele cu dioxid de sulf - 80 și cu/fără DMDC și de circa 6 ori mai mică pentru dioxid de sulf - 160 și 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 SO₂ a fost insuficient și nu a oferit protecție antioxidantă pe toată perioada păstrării, timp de 6 luni. 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 și cu/fără DMDC până la 99 pentru dioxid de sulf-160 și cu/fără DMDC). 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 SO₂ și DMDC. În cazul parametrului **b***, valorile medii au scăzut invers proporțional cu nivelul de dioxid de sulf și de dimetildicarbonat administrat. În schimb, indicatorii croma, tonalitate și intensitate au variat în funcție de dozele tratamentelor administrate, efect constatat 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 SO₂ și DMDC, schema de tratament propusă asigurând vinurilor o stabilitate din punct de vedere cromatic și implicit protecție antioxidantă.

În ceea ce privește parametrii cromatici evidențiați în experimentul II, 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 și dimetildicarbonat, (sig. < 0,05), În urma acestor rezultate se constată că în cazul vinurilor obținute, pe parcursul creșterii dozelor de tratamente a fost vizibilă îmbunătățirea cromatică, luminozitatea atingând valoarea

maximă (100), datorită eficacității tratamentelor asupra menținerii și stabilității cromatice a vinurilor.

În urma analizelor microbiologice a probelor tratate cu 40 mg SO₂/L cu/fără DMDC (V1-V15), levurile *Schizosaccharomyces pombe* și *Brettanomyces bruxellensis* nu au fost puse în evidență în urma testării probelor în plăcile Petri. Totuși s-au identificat specii bacteriene care aparțin grupului de bacterii lactice, coci și bacili, vinul a prezentat sedimente la baza buteliei, modificări de culoare (oxidare) și datorită acumulării de CO₂ gradul de spumare a crescut. În ceea ce privește probele tratate cu 80 mg/L SO₂ 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 s-au evidențiat în urma utilizării concentrațiilor maxime de 160 mg/L SO₂ și DMDC, în acest caz vinurile au prezentat stabilitate microbiologică, limpiditate ridicată, și o culoare specifică soiurilor din care au fost obținute, lipsite de oxidare și refermentare.

În cazul probelor tratate cu 20, 40, 80 mg/L SO₂ cu/fără DMDC din experimentul II se pot observa diferențe cu privire la evoluția și activitatea microorganismelor pe parcursul păstrării vinurilor. În primele 7 zile de la efectuarea experimentului levurile inoculate s-au multiplicat doar în probele martor, fără DMDC, tratate în acest caz cu 20 sau 40 mg/L SO₂. În schimb, în probele cu adaos de 80 mg/L și cu/fără DMDC nu au putut fi identificate microorganisme (sub limita de detecție), tratamentul având acțiune imediată datorată efectului sinergic cu SO₂. 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 sau 40 mg/L SO₂ dar și cu DMDC. În schimb, probele tratate cu 80 mg/L SO₂ și DMDC au prezentat cea mai bună stabilitate în toate perioadele de analiză, levurile fiind identificate doar în probele martor, fără DMDC.

Pe baza aplicării testului Anova One Way în cazul variantelor din experimentul I, au fost evidențiați descriptorii senzoriali care au prezentat diferențe semnificative (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. Rezultatele cele mai bune s-au remarcat pentru grupul de variante V31-V45 tratate cu 160 mg/L SO₂ și DMDC, vinurile fiind cele mai apreciate, echilibrate, confirmând și în acest caz eficacitatea tratamentelor asupra probelor obținute. Rezultatele sunt puse pe seama potențialului pe care îl manifestă DMDC-ul, de a îmbunătăți și conserva calitatea vinului și de a inhiba dezvoltarea microorganismelor patogene.

Din punct de vedere senzorial s-au obținut corelații pozitive între perechile de descriptori ai probelor P1-P45 din experimentul II: 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, etc. De cealaltă parte, corelații negative s-au obținut între probele P33-P1 sau P42-P2.

Datorită activității sinergice dintre dioxid de sulf și dimetildicarbonat manifestate asupra profilului senzorial, se menține sau se accentuează intensitatea unor descriptori senzoriali specifici soiurilor utilizate, aromele intense de fructe supracoapte, piersici, grapefruit, lime, tratamentele aplicate reprezentând o alternativă promițătoare pentru vinificația modernă.

Se confirmă faptul că dioxidul de sulf nu poate fi înlocuit în totalitate în vinuri, urmărindu-se reducerea cantității acestuia prin administrarea altor conservanți și aditivi cu rol antioxidant, antiseptic și antimicrobian, în cazul studiilor realizate, prin folosirea DMDC-ului.

Pe baza acestor rezultate se constată că acțiunea sinergică dintre dioxid de sulf și dimetildicarbonat este semnificativă și de interes pentru cercetările ulterioare, fiind alternative cu rezultate optime pentru stabilizarea microbiologică și oxidativă a vinurilor.

CONCLUSIONS

Regarding the results of the usual physical-chemical determinations for the variants of experiment I (V1-V45), it can be seen that there are no major differences between the variants studied, following the administration of treatments with sulphur dioxide and dimethyldicarbonate. However, the values of the parameters analysed in the samples, without DMDC treatment, varied between the two analysis periods. In contrast, the V31-V45 variants showed good stability when the treatment dose was 160 mg/L SO₂ and DMDC, with similar results between the samples analysed.

Regarding the physical-chemical results of P1-P45 samples obtained after experiment II, it is confirmed that treatments with 20 or 40 mg/L SO₂ and with or without DMDC vary from one treatment scheme to another, while those obtained after treatment with 80 mg/L SO₂ and DMDC provide physical-chemical stability between the studied parameters. Also, with regards to the resulting sulphur dioxide concentrations, it can be observed that the values determined for the control wines in the two experiments are lower compared to the time of the experiments, due to the chemical processes favoured by the storage time.

A statistical analysis of the data shows that the principal component analysis method can be applied to the results of the analysis of volatile compounds in the samples of experiment I, thus revealing the correlations between the variables studied at a 95 % confidence interval. According to these data, high positive correlations were obtained between the identified compounds: ethyl lactate - ethyl acetate and 2-methyl-1-propanol - 1-propanol where r -value > 0.8. In contrast, negative correlations were obtained between the pairs of compounds: ethyl lactate - acetaldehyde; ethyl acetate - acetaldehyde; 1-butanol - acetaldehyde. Ethyl acetate, 1-propanol, 2-methyl-1-propanol, isoamyl acetate, 1-butanol, and ethyl lactate are compounds that confer fruity, floral aromas to the wines enriching the aromatic profile aspect confirmed in the analysed wines.

According to principal component analysis (PCA), average correlations with r -value > 0.6 were obtained between the groups of compounds identified in experiment II: ethyl acetate - 2-methyl-1-propanol; ethyl acetate - isoamyl acetate; isoamyl acetate - acetaldehyde; 1-butanol - 1-propanol. Negative correlations can be observed between pairs of compounds: ethyl acetate - ethyl lactate; acetaldehyde - 1-pentanol; methanol - isoamyl acetate, methanol - ethyl acetate, 1-pentanol - 2-methyl-1-propanol, etc. Also, the arrangement of homogeneous groups in the factor axis system showed a positive correlation between most of the experimental variants studied (P40-P42-P17-P34-P7-P1, P27-P36-P16-P45-P31, P39-P13-P23-P12-P20, etc). Regarding the variants obtained in the first experiment, a range between 47.04 (V34) and 155.71 (V30) mg/L of methanol was identified. In the samples of experiment II, the concentrations ranged from 6.62 (P40) to 44.76 (P39).

The increase in methanol content in the samples analysed is due to the hydrolysis of DMDC into methanol and carbon dioxide, but nevertheless, the concentrations resulting from the application of this treatment are within the limit allowed in white wines, 250

mg/L methanol, and therefore the wines obtained are safe for human consumption without any health risk.

Statistical analysis for the first results of the determination of the chromatic parameters of the variants in the first experiment (V1-V45), showed an increase in the **L*** parameter proportional to the level of sulphur dioxide administered, for the first group of samples V1-V15. Regarding the **a*** parameter, in the case of the sulphur dioxide-40 samples and with/without DMDC, the mean value showed the highest intensity, decreasing with increasing sulphur dioxide concentration. Thus, it can be seen that the wines have no specific colour, towards green, when the parameter "**-a***" should have negative values. The intensity of colour varied according to the degree of oxidation, with the lighter coloured variant being chromatically stable and the darker sample, with a scarlet colour, being oxidised. The **b*** indicator also showed values inversely proportional to the level of sulphur dioxide administered. Thus, for the group sulphur dioxide-40 and with/without DMDC, an average value was obtained, almost 4 times lower for the sulphur dioxide-80 and with/without DMDC samples and about 6 times lower for sulphur dioxide-160 and with/without DMDC.

As for the second set of analyses, samples V1-V15 were found to have a high degree of oxidation, with the wine colours having an oxidised hue, which shows that the 40 mg/L SO₂ treatment was insufficient and did not provide antioxidant protection throughout the 6-month storage period. For the colour indicator **L***, a considerable increase of the value with increasing concentration of sulphur dioxide and DMDC administered (from 60 for the sulphur dioxide-40 and with/without DMDC variant set to 99 for sulphur dioxide-160 and with/without DMDC) is noted. In the case of indicator **a***, the values obtained were much lower in samples treated with higher amounts of sulphur dioxide. This shows the good stability of the wines provided by the SO₂ and DMDC treatments. In the case of parameter **b***, the mean values decreased inversely with the level of sulphur dioxide and dimethyldicarbonate administered. On the other hand, the indicators of chroma, hue and intensity varied according to the doses of the treatments administered, an effect observed from the values obtained in the two analysis periods. In this case, it can be seen that the best results were obtained for the variants treated with the maximum dose of 160 mg/L SO₂ and DMDC, as the proposed treatment scheme provided the wines with chromatic stability and thus antioxidant protection.

Regarding the chromatic parameters shown in experiment II, the values of **L*** were increasing with increasing sulphur dioxide concentration with/without DMDC. The indicator **a*** was highlighted in samples P1-P15 with values ranging from -0.21 (control sample P1) to -0.54 (P12) with the negative sign representing the intensity of green colour. From a statistical point of view, the indicator **b***, which suggests the intensity of the yellow hue having positive values, showed decreasing and significantly different values with increasing amounts of sulphur dioxide and dimethyldicarbonate, (sig. < 0.05). These results show that in the wines obtained, during the increase of the treatment doses, the chromatic improvement was visible, the brightness reaching the maximum value (100),

due to the effectiveness of the treatments on the maintenance and chromatic stability of the wines.

Microbiological analysis of samples treated with 40 mg SO₂/L with/without DMDC (V1-V15) did not reveal the yeasts *Schizosaccharomyces pombe* and *Brettanomyces bruxellensis* when the samples were tested in Petri dishes. However, bacterial species belonging to the group of lactic acid bacteria, cocci and bacilli were identified, the wine showed sediment at the bottom of the bottle, colour changes (oxidation) and due to the accumulation of CO₂ the degree of foaming increased. As regards the samples treated with 80 mg/L SO₂ with/without DMDC, there is an improvement in the colour of the wines and a lower degree of refermentation, but also the absence of the yeasts mentioned in the case of samples treated with DMDC only. The best results were obtained using maximum concentrations of 160 mg/L SO₂ and DMDC, in which case the wines showed microbiological stability, high clarity, and a colour specific to the varieties from which they were obtained, free of oxidation and refermentation.

In the case of samples treated with 20, 40, 80 mg/L SO₂ with/without DMDC in experiment II, differences can be observed in the evolution and activity of microorganisms during the storage of the wines. In the first 7 days after the experiment the inoculated yeasts multiplied only in the control samples without DMDC, treated in this case with 20 or 40 mg/L SO₂. On the other hand, no microorganisms could be detected (below the detection limit) in the 80 mg/L samples with/without DMDC, the treatment having an immediate action due to the synergistic effect with SO₂. On the other hand, in terms of the following analysis, after 3 months and after 6 months, yeast development can be observed in all samples treated with the lowest doses, i.e. 20 or 40 mg/L SO₂ but also with DMDC. In contrast, samples treated with 80 mg/L SO₂ and DMDC showed the best stability in all analysis periods, with yeasts being identified only in control samples without DMDC.

Based on the application of the Anova One Way test for the variants of experiment I, the sensory descriptors that showed significant differences (sig. < 0.05) for most of the variants analysed were highlighted, namely: vegetal character, aroma of ripe fruits, peaches, plums, green fruits, wild flowers, taste of marmalade, truffles, sensation of acid, bitter, salty, phenolic, unctuous, as well as refermented and oxidized character, respectively. The best results were observed for the group of variants V31-V45 treated with 160 mg/L SO₂ and DMDC, the wines being the most appreciated, balanced, confirming also in this case the effectiveness of the treatments on the samples obtained. The results are attributed to the potential of DMDC to improve and preserve wine quality and inhibit the growth of pathogenic microorganisms.

Regarding sensory characteristics, positive correlations were obtained between the descriptor pairs of samples P1-P45 in experiment II: peach - ripe fruit, peach - grapefruit, ripe fruit - grapefruit, green fruit - wildflower, wildflower - vegetable, etc. Negative correlations were found between the indicators phenolic - ripe fruit, phenolic - peach, phenolic - grapefruit, salty - ripe fruit, salty - peach, salty - grapefruit, etc. Looking at the distribution of the experimental variants, many positive correlations were found between

samples: P10-P1-P13-P4-P11, P33-P32-P44, etc. On the other hand, negative correlations were found between samples P33-P1 or P42-P2.

Due to the synergistic activity between sulphur dioxide and dimethyldicarbonate manifested on the sensory profile, the intensity of some sensory descriptors specific to the varieties used is maintained or accentuated, the intense aromas of overripe fruit, peach, grapefruit, lime, the treatments applied representing a promising alternative for modern winemaking.

It is confirmed that sulphur dioxide cannot be completely replaced in wines, and the aim is to reduce the amount of sulphur dioxide by using other preservatives and additives with antioxidant, antiseptic and antimicrobial action, in the case of the studies carried out, by using DMDC treatment.

Based on these results it is found that the synergistic action between sulphur dioxide and dimethyldicarbonate is significant and of interest for further research as alternatives with optimal results for microbiological and oxidative stabilisation of wine

BIBLIOGRAFIE

BIBLIOGRAPHY

1. Agarbati A., Canonico C., Comitini F., Ciani M., 2020 - *Reduction of Sulfur Compounds through Genetic Improvement of Native Saccharomyces cerevisiae Useful for Organic and Sulfite-Free Wine*. *Foods*, 9, 658; doi:10.3390/foods9050658
2. Agnolucci M., Rea F., Sbrana C., Cristani C., Fracassetti D., Tirelli A., 2010 - *Sulphur dioxide affects culturability and volatile phenol production by Brettanomyces/Dekkera bruxellensis*. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;143(1):76–80. pmid:20705352
3. Antocea A. O., Nămolesanu I., 2001. *Utilizarea dioxidului de sulf în vinificație*, Editura Ceres, București.
4. Arapitsas P., Guella G., Mattivi F., 2018 – *The impact of SO₂ on wine flavanols and indoles in relation to wine style and age*, *Scientific Reports*, vol. 8, cap. 1, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19185-5>
5. Aymerich T., Picouet P. A., Monfort J. M., 2008 - *Decontamination technologies for meat products*. *Meat Science*, 78(1-2), 114-129.
6. Azzolini M., Tosi E., Veneri G., Zapparoli G., 2010 - *Evaluating the efficacy of lysozyme against lactic acid bacteria under different winemaking scenarios*. *S Afr J Enol Vitic* 31(2):99–105.
7. Baltatu Gh., Potec I., Rădulescu I., Cotea V., Țârdea C., 1961 – *Vinificația și chimia vinului*, Editura Agro-silvică, București.
8. Barril C. Clark, A. C. Scollary G. R., 2012 - *Chemistry of ascorbic acid and sulfur dioxide as an antioxidant system relevant to white wine*. *Analytica Chimica Acta*, 732, pp. 186–193. DOI: 10.1016/j.aca.2011.11.011
9. Bartowsky E. J., Costello P. J., Villa, A., & Henschke P. A., 2004 - *The chemical and sensorial effects of lysozyme addition to red and white wines over six months' cellar storage*. *Australian journal of Grape and wine research*, 10(2), 143-150.
10. Bartowsky, E. J., 2009 - *Bacterial spoilage of wine and approaches to minimize it*. *Letters in Applied Microbiology*, 48(2), 149-156.
11. Bauer R., Nel H. A., Dicks L. M., 2003 - *Pediocin PD-1 as a method to control growth of Oenococcus oeni in wine*. *American journal of enology and viticulture*, 54(2), 86-91.
12. Benito S., 2019 - *The Management of Compounds That Influence Human Health in Modern Winemaking from an HACCP Point of View*. *Fermentation*, 5, 33.
13. Bintsis T., Litopoulou-Tzanetaki E., Robinson R. K., 2000 - *Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry - A critical review*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 637–645.
14. Boroski M., Crupi P., Tamborra P., Antonacci D., Toci A. T., 2017 - *Influence of winemaking techniques with low sulphur dioxide on wine varieties Chardonnay, Pinot and Montepulciano*, *Journal of Food and Nutrition Research*, Vol. 56, No. 4, pp. 326–334
15. Boselli E., Minardi M., Giomo A., Frega N. G., 2006 - *Phenolic composition and quality of white d.o.c. wines from Marche (Italy)*. *Analytica Chimica Acta*, 563(1–2), 93–100.
16. Boss A., Rinalducci S., Zolla L., Antonioli P., Righetti P. G., Zapparoli G., 2007 - *Effect of tannic acid on Lactobacillus hilgardii analysed by a proteomic approach*. *Journal of applied microbiology*, 102(3), 787-795.

17. Bradshaw M. P., Barril C., Clark A. C., Prenzler P. D., Scollary G. R., 2011 - *Ascorbic acid: A 480 review of its chemistry and reactivity in relation to a wine environment*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 51, 479-498.
18. Brondum J., Egebo M., Agerskov C., Busk H., 1998 - *Online pork carcass grading with the autoform ultrasound system*. Journal of Animal Science 76, 1859 – 1868.
19. Butz P., Tauscher B., 2002 - *Emerging technologies: chemical aspects*. Food Research International 35 (2/3), 279 – 284.
20. Byrne S., Howell G., 2017 *Acetaldehyde: how to limit its formation during fermentation*. Australian Grapegrower & Winemaker 637:68-69.
21. Cabaroğlu T., 2005 - *Methanol contents of Turkish varietal wines and effect of processing*. Food Control, 16(2), 177–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.01.008>
22. Campolongo S., Kalliopi R., Giordano M., Gerbi V., Cocolin L., 2010 - *Prevalence and Biodiversity of Brettanomyces bruxellensis in Wine from Northwestern Italy*. Am. J. Enol. Vitic. 61:4
23. Campos F. M., Couto J. A., Hogg T. A., 2003 - *Influence of phenolic acids on growth and inactivation of Oenococcus oeni and Lactobacillus hilgardii*. Journal of Applied Microbiology, 94(2), 167-174.
24. Cao X., Zhang Y., Zhang F., Wang Y., Yi J., Liao X., 2011 - *Effects of high hydrostatic pressure on enzymes, phenolic compounds, anthocyanins, polymeric color and color of strawberry pulps*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 91(5), 877-885.
25. Carew A. L., Gill W., Close D. C., Damberg R. G., 2014 - *Microwave maceration with early press off improves phenolics and fermentation kinetics in Pinot Noir*. American Journal of Enology and Viticulture, 65, 401–406.
26. Chandrasekaran S., Ramanathan S., Basak T., 2013 - *Microwave food processing-A review*. Food Research International, 52, 243–261.
27. Chang A. C., Chen F. C., 2002 - *The application of 20 kHz ultrasonic waves to accelerate the aging of different wines*. Food Chemistry, 79(4), 501-506.
28. Chemat F., Khan M. K., 2011 - *Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction*. Ultrasonics Sonochemistry, 18(4), 813-835.
29. Chengchu L., Ruiying C., Yi-Cheng S., 2006 - *Bactericidal Effects of Wine on Vibrio parahaemolyticus in Oysters*, Journal of Food Protection, vol. 69, no. 8, p. 1823–1828.
30. Chinnici F., Natali N., Riponi C., 2014 - *Efficacy of Chitosan in Inhibiting the Oxidation of (+)-Catechin in White Wine Model Solutions*. J. Agric. Food Chem., 62(40), 9868-9875. <https://doi.org/10.1021/jf5025664>
31. Cibrario A., Avramova M., Dimopoulou M., Magani M., Miot-Sertier C., Mas A., Portillo M. C., Ballestra P., Albertin W., Masneuf-Pomarede I., Dols-Lafargue M., 2019 - *Brettanomyces bruxellensis wine isolates show high geographical dispersal and long persistence in cellars*. Journal Plos One, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222749>
32. Cisilotto B., Scariot F. J., Schwarz L. V., Kauê Mattos Rocha R., Longaray Delamare A. P., Echeverrigaray S., 2021 - *Yeast stress and death caused by the synergistic effect of ethanol and SO2 during the second fermentation of sparkling wines*. OENO One, 4, 49-69, doi:10.20870/oeno-one.2021.55.4.4809.
33. Clodoveo M. L., Dipalmo T., Rizzello C. G., Corbo F., Crupi P., 2016 - *Emerging technology to develop novel red winemaking practices: An overview*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 38, 41–56.

34. Clodoveo M.L., Dipalmo T., Rizzello C.G., Corbo F., Crupi P., 2016 - *Emerging technology to develop novel red winemaking practices: An overview*. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol*, 38, 41–56.
35. Coetzee Carien, 2011 - *Oxygen and sulphur dioxide additions to Sauvignon blanc: effect on must and wine composition*, Editura Stellenbosch University.
36. Cojocaru G.A., Antocea Arina Oana, 2011 - *Chemical and biochemical mechanisms of preservatives used in wine: a review*, *Scientific Papers, Series B, Horticulture*, vol. LVI.
37. Colibaba L.C., 2006 – *Cercetări privind utilizarea dimetildicarbonatului în stabilizarea microbiologică a vinurilor*, Proiect de diplomă.
38. Comfort S. A., Johnson T., 2009 – *Guide to white winemaking*. Editura MoreFlavor, Inc.
39. Comfort S. A., Johnson T., Schultz O., 2008 – *Guide to red winemaking*, Editura MoreFlavor, Inc.
40. Coriolan Dejeu L., 2010 – *Viticultură*. Editura Ceres, București.
41. Cornelius S. Ough C., Were L., 2005 – *Sulphur dioxide and sulphites*, *Antimicrobials in food*, third edition, pag. 143-167.
42. Costa A., Barata A., Malfeito-Ferreira M., Loureiro V., 2008 - *Evaluation of the inhibitory effect of dimethyl dicarbonate (DMDC) against wine microorganisms*. *Food Microbiology*, 25, 422–427.
43. Costa M. G. M., Fonteles T. V., de Jesus A. L. T., Almeida F. D. L., de Miranda M. R. A., Fernandes F. A. N., Rodrigues S., 2013 - *High-intensity ultrasound processing of pineapple juice*. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 997–1006.
44. Costanigro M., Appleby C., Menke S.D., 2014 - *The wine headache: Consumer perceptions of sulfites and willingness to pay for non-sulfited wines*, *Food Quality and Preference* vol.31 p. 81–89.
45. Cotea D.V., Barbu N., Grigorescu C. C., Cotea V.V., 2005 – *Vineyards and wines of Romania*, Editura Academiei Române, București.
46. Cotea V. D., 1985 – *Tratat de Oenologie*, vol I. – *Vinificația și biochimia vinului*, Editura Ceres, București
47. Cotea V. D., 1988 - *Tratat de Oenologie*, vol.II- *Limpezirea, stabilizarea și îmbutelierea vinului*. Editura Ceres, București
48. Cotea V. D., Pomohaci I. N., Gheorghită Ș. M., 1982 – *Oenologie*, Editura didactică și pedagogică, București.
49. Cotea V. D., Zănoagă C., Cotea V.V., 2014 – *Treatise of oenology*, vol. I, Editura Academiei Române, București
50. Cotea V. V., 2010 – *Oenologie*, Editura Academiei Române, București.
51. Cotea V. V., Cotea V. D., 2006 – *Tehnologii de producere a vinurilor*, Editura Academiei Române, București.
52. Cravero M. C., 2019 - *Organic and Biodynamic Wines Quality and Characteristics: A Review*. *Food Chem*. 295, 334–340.
53. Croitoru C., 2009 – *Tratat de știință și inginerie oenologică - produse de elaborare și maturare a vinului*, Editura AGIR, București.
54. Cui Y., Lv W., Liu J.F., Wang B.J., 2012 - *Effect of different ending fermentation technologies on microbial-stability of Italian Riesling low alcohol sweet white wine*. *Adv. Mater. Res.*, 393, 1165–1168.
55. D'Amico M., Di Vita G., Monaco, L., 2016 - *Exploring Environmental Consciousness and Consumer Preferences for Organic Wines without Sulfites*. *J. Clean. Prod.*, 120, 64–71.

56. Damian Doina, Liliana Rotaru, Ancuța Nechita, Costică Savin – *"Ampelografie. Metode și metodologii de descriere și recunoaștere a soiurilor de viță de vie"*, Editura PIM, Iași, 2011
57. Dashko S., Zhou N., Compagno C., Pitt J. P. W., Piškur J., 2014 - *Why, when, and how did yeast evolve alcoholic fermentation?* FEMS Yeast Res., 14, 826–832
58. Davidson P. M., Sofos J. N., Branen A. L., 2005 - *Antimicrobials in food*, Third Edition, CRC Press, United States of America.
59. Delfini C, Cersosimo M, Del Prete V, Strano M, Gaetano G, Pagliara A, Ambro S (2004) Resistance screening essay of wine lactic acid bacteria on lysozyme: efficacy of lysozyme in unclarified grape musts. J Agric Food Chem 52(7):1861–1866.
60. Delfini C, Conterno L, Carpi G, Amati A., 1994 - *Antiseptic effects of high pressure and direct injection of anhydrous sulphur in wine bottles*. Revue des oenologues et des techniques vitivinicoles et oenologiques 73S:58.
61. Delfini C, Gaia P, Schellino R, Strano M, Pagliara A, Ambro S, 2002 - Fermentability of grape must after inhibition with dimethyl dicarbonate (DMDC). J Agric Food Chem 50(20): 5605–5611
62. Delfini C., Conterno L., Carpi G., Rovere P., Tabusso A., Cocito C., Amati A., 1995 - *Microbiological stabilisation of grape musts and wines by high hydrostatic pressures*. Journal of Wine Research, 6(2), 143-151.
63. Delsart C., Franc C., Grimi N., de Revel G., Vorobiev E., Peuchot M.M., 2016 - *Effects of pulsed electric fields on four residual fungicides in white wines*. In Proceedings of the 1st World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine and Food & Environmental Technologies (pp. 124–127)
64. Delsart C., Grimi N., Boussetta N., Sertier C. M., Ghidossi R., Peuchot M. M., Vorobiev E., 2015 - *Comparison of the effect of pulsed electric field or high voltage electrical discharge for the control of sweet white must fermentation process with the conventional addition of sulfur dioxide*. Food Research International, 77, 718-724.
65. Di Tommaso D., Calabrese R., Rotillo D., 1998 - *Identification and quantitation of hydroxytyrosol in Italian wines*. Journal of High Resolution Chromatography, 21(10), 549–553.
66. Divol B, Strehäiano P, Lonvaud-Funel A (2005) Effectiveness of dimethyldicarbonate to stop alcoholic fermentation in wine. Food Microbiol 22(2–3):169–178
67. Divol B., Maret du Toit, Duckitt E., 2012 - *Surviving in the presence of sulphur dioxide: strategies developed by wine yeasts*, Appl Microbiol Biotechnol, 95:601–613, DOI 10.1007/s00253-012-4186-x.
68. Dobrei A., Rotaru L., Dobrei A., 2017 – *Viticultură, ampelografie, oenologie*, Editura Solness, Timișoara
69. Dobrei A., Rotaru L., Mustea M, 2005 – *Cultura viței de vie*. Editura Solness, Timișoara
70. Dobrei A., Rotaru Liliana, Morelli S., 2008 – *Ampelografia*, Editura Solness, Timișoara.
71. Du Toit Maret și Pretorius I. S., 2000 - *Microbial spoilage and preservation of wine: Using weapons from Nature's own arsenal-A review*, South African Journal for Enology and Viticulture 21:74-96.
72. Dudley J. I., Lekli I., Mukherjee S., Das M., Bertelli A. A., Das D. K., 2008 - *Does white wine qualify for French paradox? Comparison of the cardioprotective effects of red and white wines and their constituents: Resveratrol, tyrosol, and hydroxytyrosol*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(20), 9362–9373.
73. EFSA, 2009 - *Scientific Opinion of EFSA prepared by the panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS) on the use of natamycin (E 235) as a food additive*. The EFSA Journal, 7, 1412–1437. EFSA Journal, 13(12):4319.

74. EFSA, 2015 - *Scientific opinion on the re-evaluation of dimethyl dicarbonate (DMDC, E 242) as a food additive*.
75. Elias R. J., Andersen M. L., Skibsted L. H., Waterhouse A. L., 2009 - *Identification of free radical intermediates in oxidized wine using electron paramagnetic resonance spin trapping*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(10), 4359–4365. <https://doi.org/10.1021/jf8035484>.
76. Enrique M., Ibanez A., Marcos J. F., Yuste M., Martinez M., Valles S., Manzanares P., 2010 - *B-Glucanases as a tool for the control of wine spoilage yeasts*. Journal of Food Science, 75, M41–M45
77. Erhu L., Ramón Mira de Orduña Heidinger, 2020 - *Acetaldehyde metabolism in industrial strains of Saccharomyces cerevisiae inhibited by SO₂ and cooling during alcoholic fermentation*. Vol. 54 No. 2, 2020: OENO one.
78. European Food Safety Authority (EFSA), 2015 - *Scientific opinion on the re-evaluation of dimethyl dicarbonate (DMDC, E 242) as a food additive*, EFSA Journal 13(12):4319, 62 pp.1.2 doi:10.2903/j.efsa.2015.4319.
79. Falguera V., Forns M., Ibarz A., 2012 - *Effect of UV-vis irradiation of must on Cabernet Franc and Xarel· lo wines chemical quality*. International Journal of Food Science & Technology, 47(9), 2015-2020.
80. Falguera V., Forns M., Ibarz, A., 2013 - *UV-vis irradiation: An alternative to reduce SO₂ in white wines?*. LWT-Food Science and Technology, 51(1), 59-64. (A)
81. Falguera V., Garza S., Pagán J., Garvín A., Ibarz A., 2013 - *Effect of UV-Vis irradiation on enzymatic activities and physicochemical properties of four grape musts from different varieties*. Food and Bioprocess Technology, 6(8), 2223-2229. (B)
82. Falguera V., Pagán J., Garza S., Garvín A., Ibarz A., 2011 - *Ultraviolet processing of liquid food: A review: Part 2: Effects on microorganisms and on food components and properties*. Food Research International, 44(6), 1580-1588.
83. Farkas D. și Hoover D. G., 2000 - *High pressure processing*. Journal of Food Science, Supplement e Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies, 65, 47-64.
84. Fazio T., Warner C. R., 1990 - *A review of sulphites in foods: Analytical methodology and reported findings*. Food Additives & Contaminants, 7, 433–454.
85. Feng Y., Liu M., Ouyang Y., Zhao X., Ju Y., Fang Y., 2015 - *Comparative study of aromatic compounds in fruit wines from raspberry, strawberry, and mulberry in central Shaanxi area*, Food and Nutrition research, vol. 59, doi.org/10.3402/fnr.v59.29290.
86. Fernández-Mar M.I., Mateos R., García-Parrilla M.C., Puertas B., Cantos-Villar E., 2012 - *Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review*, Food Chemistry 130 (2012) 797–813, doi:10.1016/j.foodchem.2011.08.023.
87. Ferreira D., Moreira D., Costa E. M., Silva S., Pintado M.M., Couto J. A., 2013 - *The antimicrobial action of chitosan against the wine spoilage yeast Brettanomyces/Dekkera*. Journal of Chitin and Chitosan Science, 1, 1–6.
88. Ferrer-Gallego R., Puxeu M., Martín Laura, Nart E., Hidalgo C., Andorrà Imma, 2018 - *Microbiological, physical, and chemical procedures to elaborate high-quality SO₂-free wines*, DOI: 10.5772/intechopen.71627.

89. Filipe-Ribeiro L., Cosme F., Nunes F. M., 2018 - *Reducing the negative sensory impact of volatile phenols in red wine with different chitosans: Effect of structure on efficiency*. Food Chemistry, 242, 591–600
90. FIVS, 2016 - *Methanol in Wine*, 2016-08-22, 3/7
91. Fleet G.H. și Heard G.M., 1993 - *Yeasts: growth during fermentation*. In: Wine Microbiology and Biotechnology (Fleet, G.H., Ed.), pp. 27-54. Harwood Academic Publishers.
92. Francois M. O., 2020 - *Effect of yeasts and oenological parameters on acetaldehyde production during alcoholic fermentation of South African grape musts*. Thesis (MSc)--Stellenbosch University
93. Fredericks I. N., du Toit M., Krügel M., 2011 - *Efficacy of ultraviolet radiation as an alternative technology to inactivate microorganisms in grape juices and wines*. Food Microbiology, 28(3), 510-517
94. Gao Y. C., Zhang G., Krentz S., Sue D., Power J., Lagarde G., - 2002 - *Inhibition of spoilage lactic acid bacteria by lysozyme during wine alcoholic fermentation*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 8(1), 76-83.
95. García-Ruiz A., Bartolome B., Martinez-Rodriguez A. J., Pueyo E., Martín-Alvarez P. J., Moreno-Arribas, M. V., 2008 - *Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine*. Food Control, 19, 835–841.
96. Garde-Cerdán T., López R., Garijo P., González-Arenzana L., Gutiérrez A.R., López-Alfaro I., Santamaría P., 2014 - *Application of colloidal silver versus sulfur dioxide during vinification and storage of Tempranillo red wines*, Australian Journal of Grape and Wine Research 20, 51–61.
97. Garriga M., Aymerich M. T., Costa S., Monfort J. M., Hugas M., 2002 - *Bactericidal synergism through bacteriocins and high pressure in a meat model system during storage*. Food Microbiology, 19(5), 509e518
98. Gerbaux V., Meistermann E., Cottureau P., Barriere C., Cuinier C., Berger J. L., Villa A., 1999 - *Use of lysozyme in enology*. Bulletin de l'OIV, 72(819-20), 348-373.
99. Gerbaux V., Villa A., Monamy C., Bertrand A., 1997 - *Use of lysozyme to inhibit malolactic fermentation and to stabilize wine after malolactic fermentation*. American Journal of Enology and Viticulture, 48(1), 49-54.
100. Gerland C. și Sieczkowsk N., 2004 - *Lysozyme: nouvelles acquisitions pour une utilisation mieux maîtrisée*. Rev. Oenologues 113: 14-16.
101. Gerland C., 2006 - *Optimisation de la micro-oxygénation grâce au lysozyme*. Revue des oenologues et des techniques vitivinicoles et oenologiques: magazine trimestriel d'information professionnelle, 33(120), 45-46.22
102. Glăman G. ș.a., 2018 - *Ampelografia României, Volumul IX*. Editura Ceres, București.
103. Gomez-Rivas L., Escudero-Abarca B. I., Aguilar-Uscanga M. G., Hayward-Jones P. M., Mendoza P., Ramirez M., 2004 - *Selective antimicrobial action of chitosan against spoilage yeasts in mixed culture fermentations*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 31, 16–22
104. González -Arenzana L., Portu J., López R., Lopez N., Santamaria P., Garde-Cerdán T., López-Alfaro I., 2015 - *Inactivation of wine-associated microbiota by continuous pulsed electric field treatments*. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 29, 187–192.
105. González -Arenzana L., Santamaria P., López R., Garijo P., Gutierrez A. R. Garde-Cerdán T., López-Alfaro I., 2013 - *Microwave technology as a new tool to improve microbiological control of oak barrels: A preliminary study*. Food Control, 30, 536–539.

106. Gould G. W., 2000 - *The use of other chemical preservatives: Sulfite and nitrite*. The Microbiology Safety and Quality of Food, Lund B. M., Baird-Parker, T. C., and Gould G. W., Eds. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, MD, p. 200
107. Grainger K. și Tattersall, 2005 - *Wine production: vine to bottle*. Blackwell Publishing Ltd.
108. Grainger K. și Tattersall, 2016 - *Wine Production and Quality, Second Edition*. John Wiley & Sons, Ltd.
109. Granchi L., Budroni M., Rauhut D., Zara G., 2019 - *Wine Yeasts and Consumer Health*. In *Yeasts in the Production of Wine*, Editura Springer, New York, p. 343–373.
110. Griffith R. și Hammond E. G., 1989 - *Generation of Swiss cheese flavor components by the reaction of amino acids with carbonyl compounds*. Journal of Dairy Science, 72, 604–613
111. Grotheer P., Marshall M., & Simonne, Amy, 2005 - *Sulfites: Separating fact from fiction*, Department of Family, Youth, and Community Sciences, University of Florida, nr. publicație FCS8787.
112. Guerrero R. F., și Cantos-Villar E., 2015 - *Demonstrating the efficiency of sulphur dioxide replacements in wine: A parameter review*, Trends in Food Science & Technology 42 (2015) 27e4.
113. Guerrero-Beltrán J. A. și Barbosa-Cánovas, G. V., 2004 - *Advantages and limitations on processing foods by UV light*. Food science and technology international, 10(3), 137-147.
114. Guo Q., Sun D.W., Cheng J.H., Han Z., 2017 - *Microwave processing techniques and their recent applications in the food industry*. Trends in Food Science and Technology, 67(9), 236–247. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.007>.
115. Hijnen W. A. M., Beerendonk E. F., Medema G. J., 2006 - *Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review*. Water Research, 40, 3–22.
116. Hugas M., Garriga M., Monfort J. M., 2002 - *New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology*. Meat science, 62(3), 359-371.
117. Iland P.G., Ewart A.J.W., Sitters J.H., Markides A., Bruer N.G.C., 2000 – *Tehniques for quality monitoring during winemaking*. Patrick Iland Wine Promotions, Campbelltown, South Australia
118. Izquierdo-Cañas P. M., García-Romero E., Huertas-Nebreda B., Gómez-Alonso S., 2012 - *Colloidal silver complex as an alternative to sulphur dioxide in winemaking*. Food Control, 23(1), 73-81.
- J Sci Food Agric. 89: 688–696, DOI 10.1002/jsfa.3503
119. Jagatić Korenika A. M, Preiner D., Tomaz I., Jeromel A., 2020 - *Volatile Profile Characterization of Croatian Commercial Sparkling Wines*, Molecules, 25, 4349; doi:10.3390/molecules25184349.
120. Jang J. H., Moon K. D., 2011 - *Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid*. Food Chemistry, 124(2), 444-449.
121. Jiranek,V., Grbin P., Yap A., Barnes M., Bates D., 2008 - *High power ultrasonics as a novel tool offering new opportunities for managing wine microbiology*. Biotechnology letters, 30(1), 1-6.
122. Kalchayanand N., Dunne P., Sikes A., Ray B., 2004 - *Viability loss and morphology change of foodborne pathogens following exposure to hydrostatic pressures in the presence and absence of bacteriocins*. International Journal of Food Microbiology, 91(1), 91-98.

123. Kalkan Yildirim H. și Darici B., 2020 - *Alternative methods of sulfur dioxide used in wine production*. J Microbiol Biotech Food Sci., 9 (4) 675-687.
124. Karatzas A. K., Kets E. P. W., Smid E. J., Bennik M. H. J., 2001 - *The combined action of carvacrol and high hydrostatic pressure on Listeria monocytogenes*. Journal of Applied Microbiology, 90(3), 463- 469.
125. König H., Unden G., Fröhlich J., 2009 - *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, Editura Springer, Berlin, Heidelberg, pag. 181-207, Doi: 10.1007/978-3-540-85463-0_10
126. Kurtzman C. P., Fell J. W., Boekhout T., 2010 - *The Yeasts: A Taxonomic Study*. Elsevier: London, UK
127. Lea A. G. H., Piggotti J. R., 2003 – *Fermented beverage production*, Kluwer academic/plenum publishers, New York.
128. Li H., Guo A., Wang H., 2008 - *Mechanisms of oxidative browning of wine*, Food Chemistry 108 1–13
129. Li R., Huang L., Zhang M., Mujumdar A. S., Wang Y. C., 2014 - *Freeze drying of apple slices with and without application of microwaves*. Drying Technology, 32(15), 1769–1776. <https://doi.org/10.1080/07373937.2014.934831>.
130. Liburdi K., Benucci, I. Esti M., 2014 - Lysozyme in wine: an overview of current and future applications. Comprehensive reviews in food science and food safety, vol.13, 2014.
131. Lipșa D. F., și Ulea E., 2017 – Microbiologia produselor alimentare. Editura Ion Ionescu de la Brad Iași.
132. Lisanti M. T., Blaiotta G., Nioi C., Moio L., 2019 - *Alternative Methods to SO₂ for Microbiological Stabilization of Wine*, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, Vol. 18
133. Lisanti M., T., 2014 - *Minimizing sulphites in winemaking: a comparative study of current practices and development of a production strategy for high quality wines*, OIV.
134. Liu X. J., Yin Y. G., Fan S. M., Zhu C., Luo, G. C., 2006 - *GC–MS analysis of aroma component variation of wine treated by high voltage pulse electric field*. Food Science, 27, 654–657.
135. Liu Z., Qiao L., Yang F., Gu H., Yang L., 2017 - *Brönsted acidic ionic liquid based ultrasound-microwave synergistic extraction of pectin from pomelo peels*. International Journal of Biological Macromolecules, 94(1),309–318. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.028>.
136. Lonvaud-Funel Aline, Renouf V., Strehaiano P., 2010 – *Microbiologie du vin – Bases fondamentales et applications*, Editura Tec & Doc, Paris.
137. López I. Santamaría P., Tenorio C., Garijo P., Gutiérrez A. R., López, R., - 2009 - *Evaluation of lysozyme to control vinification process and histamine production in Rioja wines*. J MicrobiolBiotechnol, 19(9), 1005-1012.
138. Lopez-Caballero M. E., Carballo J., Jiménez-Colmenero F., 1999 - *Microbiological changes in pressurized, prepackaged sliced cooked ham*. Journal of Food Protection, 62(12), 1411-1415.
139. López-Giral N., González-Arenzana L., González-Ferrero C., López R., Santamaría P., López-Alfaro I., Garde-Cerdán T., 2015 - *Pulsed electric field treatment to improve the phenolic compound extraction from 24 Graciano, Tempranillo and Grenache grape varieties during two vintages*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 28, 31-39.

140. Lustrato G., Alfano G., Belli C., Grazia L., Iorizzo M., Ranalli G., 2006 - *Scaling-up in industrial winemaking using low electric current as an alternative to sulfur dioxide addition*. J. Appl. Microbiol., 101(3), 682–690. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02931.x>
141. Lustrato G., Vigentini I., Leonardis A. De Alfano G., Tirelli A., Foschino R., Ranalli G., 2010 - *Inactivation of wine spoilage yeasts Dekkera bruxellensis using low electric current treatment (LEC)*. J. Appl. Microbiol., 109, 594–604. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04686>
142. Main G. L. și Morris J. R., 2007 – *Effect of macerating enzymes and postfermentation grape-seed tannin on the color of Cynthiana wines*, American Journal of Enology and Viticulture, vol. 58, cap. 3, p. 365 – 372.
143. Marambio-Jones C. și Hoek, E. M., 2010 - *A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment*. Journal of Nanoparticle Research, 12(5), 1531-1551.
144. Masino F., Montevecchi G., Arfelli G., Antonelli A., 2008 - *Evaluation of the combined effects of enzymatic treatment and aging on lees on the aroma of wine from Bombino bianco grapes*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56, 9495–9501
145. McKenzie, H. A. și White F. H., 1991 - *Lysozyme and alphas-lactalbumin: structure, function, and interrelationships*. Adv. Protein Chem. 41: 173-315.
146. Milheiro J., Filipe-Ribeiro L., Cosme F., Nunes F.M., 2017 - *A simple, cheap and reliable method for control of 4-ethylphenol and 4-ethylguaiacol in red wines. Screening of fining agents for reducing volatile phenols levels in red wines*. Journal of Chromatography B, 1041, 183–190
147. Miyake T. și Shibamoto T., 1993 - *Quantitative analysis of acetaldehyde in foods and beverages*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41, 1968–1970
148. Mok C., Song K. T., Park Y. S., Lim S., Ruan R., Chen P., 2006 - *High hydrostatic pressure pasteurization of red wine*. Journal of food science, 71(8), 265-269.
149. Morata, A., Benito, S., González, M. C., Palomero, F., Tesfaye, W., & Suárez-Lepe, J. A. (2012). Cold pasteurisation of red wines with high hydrostatic pressure to control Dekkera/Brettanomyces: effect on both aromatic and chromatic quality of wine. European Food Research and Technology, 235(1), 147-154.
150. Moreno J. și Peinado R., 2012 - *Enological chemistry*. Academic Press, Elsevier.
151. Morgan S. C., 2019 - *The effect of sulfur dioxide addition and alternative fermentation techniques on the microbial communities and sensory profiles of wine* – Teză de doctorat.
152. Moroșanu A. M., 2019 – *Studiul compușilor fenolici din vinurile Fetească albă și Fetească regală în urma aplicării unor tratamente de condiționare* - Teză de doctorat, Universitatea de Științe Agricole și medicină veterinară Ion Ionescu de la Brad, Iași.
153. Moroșanu A. M., Luchian C. E., Niculaua M., Colibaba C. L., Tarțian A. C., Cotea V. V., 2018 - *Assessment of major volatile and phenolic compounds from ‘Fetească regală’ wine samples after pre-fermentative treatments using GC-MS Analysis and HPLC analysis*, Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, vol. 46, cap. 1, p. 247 – 259
154. Muñoz García R., Simancas R.O., Díaz-Maroto M.C., Alañón Pardo M.E., Pérez-Coello M.S., 2021 - *Effect of Microwave Maceration and SO₂ Free Vinification on Volatile Composition of Red Wines*, Foods, 10, 1164. <https://doi.org/10.3390/foods10061164>.
155. Muntean Camelia, 2012 – *Tehnologii în industria vinicolă*, Editura Sitech, Craiova
156. Navarre C. și Langlade F., 2002 - *L'œnologie*, Editura Tec et Doc

157. Nel H. A., Bauer R., Wolfaardt, G. M., Dicks L. M. T., 2002 - *Effect of bacteriocins pediocin PD-1, plantaricin 423, and nisin on biofilms of Oenococcus oeni on a stainless steel surface*. American journal of enology and viticulture, 53(3), 191-196.
158. Noble J., Sanchez I., Blondin B., 2015 - *Identification of new Saccharomyces cerevisiae variants of the MET2 and SKP2 genes controlling the sulfur assimilation pathway and the production of undesirable sulfur compounds during alcoholic fermentation*. Microb. Cell Factories, 14, 68
159. Nunes C., Maricato É., Cunha Â., Rocha M., Santos S., Ferreira P., Silva M.A., Rodrigues A., Amado O., Coimbra J., Silva D., Moreira A., Mendo S., Lopes Da Dilva J.A., Pereira E., Rocha S.M., Coimbra M.A., 2016 - *Chitosan–genipin film, a sustainable methodology for wine preservation*. Green Chemistry, 18, 5331–5341. <https://doi.org/10.1039/C6GC01621A>
160. Nykanen L., 1986 - *Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages*. American Journal of Enology and Viticulture, 37, 84–96
161. Oelofse A., Pretorius I. S., Du Toit M., 2008 - *Significance of Brettanomyces and Dekkera during winemaking: a synoptic review*. South African Journal for Enology and Viticulture, vol, 29, no 2, DOI: 10.21548/29-2-1445.
162. OIV, 2019 - *Compendium of international methods of analysis*, Paris.
163. OIV, 2020 - *International Oenological Codex*, Paris
164. Oliveira C. M., Ferreira A. C. S., De Freitas V., Silva A. M. S., 2011 - *Oxidation mechanisms occurring in wines- Review*, Food Research International, 44, 1115-1126
165. Oprea A., 2019 - *Viticultură și Oenologie- Compendium*, Editura Academiei Române, București.
166. Osborne J. P., Dube Morneau A., Mira de Ordun R., 2006 - *Degradation of free and sulfur-dioxide-bound acetaldehyde by malolactic lactic acid bacteria in white wine*. Journal of Applied Microbiology 101 (2006) 474–479
167. Ough C. S. și Crowell E. A., 1987 - *Use of sulfur dioxide in winemaking*. J. Food Sci. 52, 386–388. doi: 10.1111/j.1365-2621.1987.tb06620.x
168. Ough C. S. și Were L., 2005 - *Sulfur dioxide and Sulfites, Antimicrobials in Food*, CRC Press, 143–160.
169. Ough C.S., 1975 - *Dimethyldicarbonate as a wine sterilant*. American Journal of Enology and Viticulture, 26(3). 130–133.
170. Ough C.S., Kunkee R.E., Vilas M.R., Bordeu E., Huand M.C., 1988 - *The influence of sulphur dioxide, pH and dimethyldicarbonate on the growth of Saccharomyces cerevisiae Montrachet and Leuconostoc oenos*. M.C.W. Am.J..Enol.Vitic.
171. Ozturk B., și Ertan A., 2017 - *Pulsed electric fields (PEF) applications on wine production: A review*. BIO Web of Conferences 9, 02008, 40th World Congress of Vine and Wine, doi: 10.1051/bioconf/20170902008.
172. Palomero F., Benito S., Morata A., Tesfaye W., Gonzalez M. C., Lepe Suarez J. A., 2009 - *Effect on the autolysis process and the colouring matter of several commercial preparations with β -glucanase action in red winemaking*. European Food Research and Technology, 229, 585–592
173. Pataro G., Ferrentino G., Ricciardi C., Ferrari, G., 2010 - *Pulsed electric fields assisted microbial inactivation of S. cerevisiae cells by high pressure carbon dioxide*. Journal of Supercritical Fluids, 54, 120–128.
174. Perino-Issartier S., Maingonnat J. F., Chemat F., 2010 - *Microwave food processing*. In A. Proctor (Ed.), Alternatives to conventional food processing (pp. 415–458).

175. Pintilescu C., 2007 - *Analiză statistică multivariată*. Editura Universității „Alexandru Ioan Cuza”, Iași.
176. Piškur J., Rozpedowska E., Polakova S., Merico A., Compagno C., 2006 - *How did Saccharomyces evolve to become a good brewer? Trends Genet.* 22, 183–186
177. Piyasena P., Mohareb E., McKellar R. C., 2003. *Inactivation of microbes using ultrasound: a review*. International journal of food microbiology, 87(3), 207-216.
178. Plata C., Millan C., Mauricio J. C., Ortega J. M., 2003 - *Formation of ethyl acetate and isoamyl acetate by various species of wine yeasts*. Food Microbiology 20, 217–224
179. Pomohaci N., Nămoșanu I., Nămoșanu A., 2000 – *Producerea și îngrijirea vinurilor*, Editura Ceres, București.
180. Popa A. I. și Teodorescu Ș., 1990 – *Microbiologia vinului*, Editura Ceres, București.
181. Popa A., Popa D., Dragomir F., 2014 – *Microbiologie oenologică*, Editura Universitaria Craiova
182. Proestos C., Bakogiannis A., Psarianos, C., Koutinas A. A., Kanellaki M., Komaitis, M., 2005 - *High performance liquid chromatography analysis of phenolic substances in Greek wines*. Food Control, 16(4), 319–323.
183. Puertolas E., Lopez N., Condon S., Alvarez I., Raso J., 2010 - *Potential applications of PEF to improve red wine quality*. Trends in Food Science & Technology, 21, 247e255
184. Puig A., Vilavella M., Daoudi L., Guamis B., Minguez S., 2003 - *Microbiological and biochemical stabilization of wines using the high pressure technique*. Bulletin del l'OIV, 76, 596-617.
185. Pușcă I. M., 2006 – *Vechi soiuri românești de viță de vie*. Editura Tipografia INTACT, București
186. Raafat D. și Sahl H. G., 2009 - *Chitosan and its antimicrobial potential: A critical literature survey*. Microbial Biotechnology, 2, 186–201
187. Raposo R., Ruiz-Moreno M. J., Garde-Cerdán T., Puertas B., Moreno-Rojas J. M., Zafrilla P., CantosVillar E., 2016 - *Replacement of sulfur dioxide by hydroxytyrosol in white wine: Influence on both quality parameters and sensory*. LWT-Food Science and Technology, 65, 214-221.
188. Rauhut D., 2009 - *Usage and formation of sulphur compounds, Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, p 181-207, Springer Berlin Heidelberg.
189. Rendueles E., Omer M. K., Alvseike O., Alonso-Calleja C., Capita R., Prieto M., 2011 - *Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: a review*. LWT-Food Science and Technology, 44(5), 1251-1260.
190. Renouf V., Strehaiano P., Lonvaud-Funel A., 2008 - *Effectiveness of dimethyldicarbonate to prevent Brettanomyces bruxellensis growth in wine*. Food Control, 19, 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.03.012>.
191. Reynolds A.G., 2010 - *Managing wine quality. Volume 2: Oenology and wine quality*. Woodhead Publishing Limited, UK.
192. Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribéreau-Gayon P., Sudraud P., 1976 - *Traite d'oenologie, Tome 3-Vinification transformations du vin*, Franța.
193. Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P., Ribereau-Gayon, P., 1982 – Vol.1 - *Analyse et controle des vins*, Bordas, Paris.
194. Ribéreau-Gayon P. , Dubourdieu D., Donèche B, Lonvaud A., 2006.- *The Microbiology of Wine and Vinifications*, Handbook of Enology, vol. 1, Editura John Wiley & Sons, Anglia.

195. Ribereau-Gayon P., 1978 - *Wine aroma*. In: Charalambous, G., Inglett, G.E. (Eds.), *Flavour of Foods and Beverages*. Academic Press, New York, pp. 362–371
196. Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., & Lonvaud, A., 2000 - *Handbook of Enology: The 533 microbiology of wine and vinifications vol. 1*, New York: John Wiley and Sons.
197. Riu-Aumatell M., Bosch-Fusté J., López-Tamames E., Buxaderas S., 2006 - *Development of volatile compounds of cava (Spanish sparkling wine) during long ageing time in contact with lees*. Food Chem. 2006, 95, 237–242.
198. Rodriguez E., Arques J. L., Nunez M., Gaya P., Medina M., 2005 - *Combined effect of high-pressure treatments and bacteriocin-producing lactic acid bacteria on inactivation of Escherichia coli O157:H7 in raw-milk cheese*. Applied and Environmental Microbiology, 71(7), 3399e3404.
199. Rojo-Bezares B., Sáenz Y., Zarazaga M., Torres C., Ruiz-Larrea F., 2007 - *Antimicrobial activity of nisin against Oenococcus oeni and other wine bacteria*. International journal of food microbiology, 116(1), 32-36.
200. Romano P., Ciani M., Fleet G. H., 2009 - *Yeasts in the production of wine*. Editura Springer, New York, U.S.A.
201. Romano P., Suzzi G., 1993 - *Sulphur dioxide and wine microorganisms*. Wine Microbiology and Biotechnology, Editura Harwood Academic, Chur, Switzerland, p. 373-393
202. Romano P., Suzzi G., Turbanti L., Polsinelli M., 1994 - *Acetaldehyde production in Saccharomyces cerevisiae wine yeasts*. FEMS Microbiology Letters 118, 213-218
203. Rotaru L., 2009 - *Soiuri de viță de vie pentru struguri de vin*, Editura “Ion Ionescu de la Brad”, Iași.
204. Rougier C., Prorot A., Chazal P., Leveque P., Lepratb P., 2014 - *Thermal and Nonthermal Effects of Discontinuous Microwave Exposure (2.45 Gigahertz) on the Cell Membrane of Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol., 80, 4832–4841.
205. Ruiz-Moreno M. J., Raposo R., Moreno-Rojas J. M., Zafrilla P., Cayuela J. M., Mulero J., Cantos-Villar E., 2015 - *Efficacy of olive oil mill extract in replacing sulfur dioxide in wine model*. LWT-Food Science and Technology, 61(1), 117-123.
206. Rusu E., 2011 - *Vinificația primară*, Editura Continental Grup SRL.
207. Samoticha J., Wojdyło A., Chmielewska J., Politowicz J., Antoni S., 2017 - *The effects of enzymatic pre-treatment and type of yeast on chemical properties of white wine*, Lebensmittel-Wissenschaft Technologie, p. 78 – 83, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.016>
208. Santos M. C., Nunes C., Rocha M. A. M., Rodrigues A., Rocha S. M., Saraiva J. A., Coimbra M. A., 2013 - *Impact of high pressure treatments on the physicochemical properties of a sulphur dioxide-free white wine during bottle storage: Evidence for Maillard reaction acceleration*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 20, 51-58.
209. Santos M. C., Nunes C., Saraiva J. A., Coimbra M. A., 2012 - *Chemical and physical methodologies for the replacement/ reduction of sulfur dioxide use during winemaking: review of their potentialities and limitations*, Eur Food Res Technol 234:1–12
210. Shrikant Baslingappa Swami, Thakor N.J. și Divate A.D., 2014 - *Fruit Wine Production: A Review*, Journal of Food Research and Technology, vol 2, Issue 3, pages 93-100.
211. Skouromounis G. K., Kwiatkowski M. J., Francis I. L., Oakey H., Capone D. L., Peng Z., Duncan B., Sefton M. A., Waters E. J., 2005 - *Influence of ascorbic acid on the composition, colour and flavour properties of a Riesling and a wooded Chardonnay wine over five years storage*, Australian Journal of Grape and Wine Research, 11(3), 355-368.

212. Soldatenko Olga, 2021 – *Bazele științifice și practice ale utilizării levurilor în Oenologie*, Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare, Chișinău.
213. Sonni Francesca, Cejudo Bastante Maria Jesus, Chinnici F., Nadia Natalia, Riponi C., 2009 - *Replacement of sulfur dioxide by lysozyme and oenological tannins during fermentation: influence on volatile composition of white wines*,
214. Sonni Francesca, Chinnici F., Nadia Natali, Riponi C., 2011 - *Pre-fermentative replacement of sulphur dioxide by lysozyme and oenological tannins: Effect on the formation and evolution of volatile compounds during the bottle storage of white wines*. Food Chemistry vol. 129, p. 1193-1200.
215. Stark J. și Tan H.S., 2003 - *Natamycin*. In *Food preservatives* (pp. 179–195)
216. Staub C. Michel F., Bucher T., Siegrist M., 2020 - *How Do You Perceive This Wine? Comparing Naturalness Perceptions of Swiss and Australian Consumers*. Food Qual. Prefer., vol. 79, 103752.
217. Stockley C., Paschke-Kratzin A., Teissedre P. L., Restani P., Garcia Tejedor N., Quini C., 2021 - *SO₂ and wine: a review*. OIV collective expertise document
218. Stroe M., 2012 – *Ampelografie*, Editura Ceres, București.
219. Suárez-Lepe J. A.; Palomero F., Benito S., Calderón F., Morata A., 2012 - *Oenological versatility of Schizosaccharomyces spp.* Eur. Food Res. Technol., 235, 375–383
220. Sun X., Li X., Wang P., Ma T., Huang W., Han S., Zhan J., 2016 - *Detection method optimization, content analysis and stability exploration of natamycin in wine*. Food Chemistry, 194, 928–937.
221. Swiegers J. H. și Pretorius I. S., 2007 - *Modulation of volatile sulfur compounds by wine yeast*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 74, 954–960
222. Taillandier P., Joannis-Cassan C., Jentzer J.-B., Gautier S., Sieczkowski N., Granes D., Brandam C., 2015 - *Effect of a fungal chitosan preparation on Brettanomyces bruxellensis, a wine contaminant*. Journal of Applied Microbiology, 118, 123–131
223. Talcott S. T., Brenes C. H., Pires D. M., Del Pozo-Insfran D., 2003 - *Phytochemical stability and color retention of copigmented and processed muscadine grape juice*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 957–963
224. Tao Y., Sun D. W., Górecki A., Błaszczak W., Lamparski G., Amarowicz R., Fornal J., Jelioski T., 2012 - *Effects of high hydrostatic pressure processing on the physicochemical and sensorial properties of a red wine*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 16, 409-416.
225. Taran N., 2021 – *Biotehnologii în vinificație*. Tipografia Print Caro, Chișinău, p. 27-28
226. Taylor S.L., Higley N.A., Bush R.K., 1986 - *Sulphites in foods: Uses, analytical methods, residues, fate exposure assessment, metabolism, toxicity and hypersensitivity*. Advances in Food Research, vol. 30, p. 1-75
227. Terrell F. R., Morris J. R., Johnson M. G., Gbur E. E., Makus D. J., 1993 - *Yeast Inhibition in Grape. Juice Containing Sulfur Dioxide, Sorbic Acid, and Dimethyldicarbonate*, Journal of food science, 58(5), 1132-1134.
228. Thomas L. V., Ingram R. E., Bevis H. E., Brightwell P., Wilson N., Delives-Broughton J., 2005 – *Natamycin control of yeast spoilage of wine*, Food protection trends, 25, 510-517.
229. Threlfall Renne, 2006 - *Using Dimethyldicarbonate to Minimize Sulfur Dioxide for Prevention of Fermentation from Excessive Yeast Contamination in Juice and Semi-Sweet Wine*

230. Threlfall, R.T.; Morris, J.R., 2002. Using dimethyldicarbonate to minimize sulfur dioxide for prevention of fermentation from excessive yeast contamination in juice and semi-sweet wine. *J. Food Sci.* 2002, 67, 2758–2762
231. Timmermans R. A. H., Groot M. N., Nederhoff A. L., van Boekel M. A. J. S., Matser A. M., Mastwijk H. C., 2014 - *Pulsed electric field processing of different fruit juices: Impact of pH and temperature on inactivation of spoilage and pathogenic micro-organisms*. *International journal of food microbiology*, 173, 105–111.
232. Toepfl S., Heinz V., Knorr D., 2006 - *Applications of pulsed electric fields technology for the food industry*. In *Pulsed electric fields technology for the food industry* (pp. 197–221). Springer US.
233. Torrens J. Rlu-Aumatell M., Vichi S., López-Tamames E., Buxaderas S., 2010 - *Assessment of volatile and sensory profiles between base and sparkling wines*. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 2455–2461.
234. Torresi S., Frangipane M. T., Garzillo A. M. V., Massantini R., Contini M., 2014 - *Effects of a β -glucanase enzymatic preparation on yeast lysis during aging of traditional sparkling wines*. *Food Research International*, 55, 83–92
235. Trioli G., Hofmann U., 2009 - *ORWINE: Code of good organic viticulture and wine-making*,
236. Tromp A. și Agenbach W. A., 1981 - *Sorbic acid as a wine preservative-its efficacy and organoleptic threshold*, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 2. No. 1.
237. Țârdea C., 2007 – *Chimia și analiza vinului*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași.
238. Țârdea C., Sârbu G., Țârdea Angela, 2000 – *Tratat de vinificație*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași.
239. USDA, 2000 - *U.S. Food and Drug Administration Report. Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies: Ultrasound*.
240. Valera M.J., Sainz F., Mas A., Torija M.J., 2017 - *Effect of chitosan and SO₂ on viability of Acetobacter strains in wine*. *International Journal of Food Microbiology*, 246, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.01.022>
241. Vally H., Misso N. L., Madan V., 2009 - *Clinical effects of sulphite additives*, *Clinical and Experimental Allergy*, 39, 1643–1651.
242. Vally H., Thompson P. J., 2001 - *Role of sulfite additives in wine induced asthma: single dose and cumulative dose studies*, *Thorax* 56: 763–769, doi: 10.1136/thorax.56.10.763.
243. Vally H., Thompson P. J., 2003 - *Allergic and asthmatic reactions to alcoholic drinks*. *Addiction biology*, 8(1), 3–11.
244. Van Rensburg P. și Pretorius I. S., 2000 - *Enzymes in winemaking: Harnessing natural catalysts for efficient biotransformations - A review*. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 21, 52–73
245. Vassilopoulou E, Karathanos A, Siragakis G, Giavi S, Sinaniotis A, Douladiris N, Fernandes-Rivas M, Clausen M., Papadopoulos N.G., 2011 - *Risk of allergic reactions to wine, in milk, egg and fishallergic patients*. *Clinical and Translational Allergy* 1, 10
246. Vejarano R., 2018 - *Saccharomycodes ludwigii, Control and Potential Uses in Winemaking Processes*. *Fermentation* 2018, 4, 71; doi:10.3390/fermentation4030071
247. Vivas N., Lonvaud-Funel A., Glories Y., 1997 - *Effect of phenolic acids and anthocyanins on growth, viability and malolactic activity of a lactic acid bacterium*. *Food Microbiology*, 14, 291–300.

248. Wallington N., Clark A. C., Prenzler P. D., Barril Celia, Scollar G. R., 2013 - *The decay of ascorbic acid in a model wine system at low oxygen concentration*. Food Chemistry doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.024>.
249. Wang X. Q., Su H. N., Zhang Q. H., Yang P. P., 2015 - *The effects of pulsed electric fields applied to red and white wines during bottle ageing on organic acid contents*. Journal of Food Science and Technology, 52, 171–180
250. Werner M., Rauhut D., Cottureau P., 2009 – *Yeasts and natural production of sulphites*, Journal of enology and viticulture, No12/3.
251. Wuytack E. Y., Diels A. M., Michiels C. W., 2002 - *Bacterial inactivation by high-pressure homogenisation and high hydrostatic pressure*. International Journal of Food Microbiology, 77(3), 205-212.28.
252. Yang N., Huang K., Lyu C., Wang J., 2016 - *Pulsed electric field technology in the manufacturing processes of wine, beer, and rice wine: A review*. Food Control, 61, 28–38.
253. Yap A., Bagnall W., 2009 - *High power ultrasonics: a new and powerful tool for removing tartrate deposits and killing viable Brettanomyces cells in barrels*. Aust NZ Wine Ind J, 24(5), 29-39.
254. Yap A., Schmid F., Jiranek V., Grbin P., Bates D., 2008 - *Inactivation of Brettanomyces/Dekkera in wine barrels by high power ultrasound*. Aust NZ Wine Ind J, 23(5), 32-40.
255. Yuan J.F., Wang T.T., Chen Z.Y., Wang D.H., Gong M.G., Li P.Y., 2020 - *Microwave irradiation: impacts on physicochemical properties of red wine*. Journal of food, vol. 18, no. 1, 281–290 <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1746834>.
256. Yurdugül S. și Bozoglu F., 2008 - *Effects of a bacteriocin-like substance produced by Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris on spoilage strain Lactobacillus fructivorans and various pathogens*. International journal of food science & technology, 43(1), 76-81.
257. Zabetakis I., Koulentianos A., Orruño E., Boyes I., 2000 - *The effect of high hydrostatic pressure on strawberry flavour compounds*. Food Chemistry, 71(1), 51-55.
258. Zamfir C.I., 2009 - *Studiul autenticității și tipicității vinurilor roșii obținute din soiuri autohtone*. Teză de doctorat, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” Iași.
259. Zara G., și Nardi Tiziana., 2021 - *Yeast metabolism and its exploitation in emerging winemaking trends: from sulfite tolerance to sulfite reduction*, Fermentation, 7, 57, <https://doi.org/10.3390/fermentation7020057>.
260. Zheng X., Liu C., Huo J., Li, C., 2011 - *Effect of the microwave irradiated treatment on the wine sensory properties*. International Journal of Food Engineering, 7, <https://doi.org/10.2202/1556-3758.1762>.
261. Zhong K., Wu J., Wang Z., Chen F., Liao X., Hu X., Zhang Z., 2007 - *Inactivation kinetics and secondary structural change of PEF-treated POD and PPO*. Food Chemistry, 100(1), 115-123.
262. Zironi R., Comuzzo P., Tat L., Scobioala S., 2009 - *Sulphur dioxide management in low input winemaking*, Journal of enology and viticulture, No 12/1
263. Zoecklein B. W., Fugelsang K. C., Gump B. H., Nury F. S., 1995 - *Wine analysis an production*, Chapter 13 sorbic acid, benzoic acid, and dimethyldicarbonate p. 209-210, Chapman & Hall, New York.
264. Zoecklein B.W., 2012 - *Production wine analysis*. 98-111 pp. Van Nostrand, USA.
265. ***Regulamentul delegat (UE) 2019/934 al comisiei din 12 martie 2019 de completare a Regulamentului (UE) nr. 1308/2013 al Parlamentului European și al Consiliului în ceea ce privește

zonele viticole în care poate fi majorată tăria alcoolică, practicile oenologice autorizate și restricțiile aplicabile producerii și conservării produselor vitivinicole, procentajul minim de alcool al subproduselor și eliminarea acestora și publicarea fișelor OIV.

265. ***Regulamentul (CE) nr. 1333/2008 al Parlamentului European și al Consiliului din 16 decembrie 2008 privind aditivii alimentari (JO L 354, 31.12.2008, p. 16).

266. ***Regulamentul (UE) nr. 231/2012 al Comisiei din 9 martie 2012 de stabilire a specificațiilor pentru aditivii alimentari enumerați în anexele II și III la Regulamentul (CE) nr. 1333/2008 al Parlamentului European și al Consiliului.

267. ***Directiva 2003/89/CE a Parlamentului European și a Consiliului din 10 noiembrie 2003 de modificare a Directivei 2000/13/CE privind indicarea ingredientelor prezente în produsele alimentare.

LISTA TABELELOR**LIST OF TABLES**

Tab. 2.1. Dozele permise pentru administrarea dioxidului de sulf în vinuri / Permitted doses for the administration of sulphur dioxide in wines	34
Tab. 2.2. Dozele de SO ₂ admise pentru tratarea vinurilor în diferite țări / SO ₂ doses allowed in different countries for wine treatment	36
Tab. 6.1. Variantele obținute în cadrul experimentului I / Samples obtained for experiment I	72
Tab. 6.2. Probele obținute în cadrul experimentului II / Samples obtained for experiment II	74
Tab. 7.1. Caracteristicile fizico-chimice ale variantelor tratate cu 40 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC/ Physico-chemical characteristics of variants treated with 40 mg/L SO ₂ with/without DMDC	90
Tab. 7.2. Caracteristicile fizico-chimice ale variantelor tratate cu 80 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC/ Physico-chemical characteristics of variants treated with 80 mg/L SO ₂ with/without DMDC	91
Tab. 7.3. Caracteristicile fizico-chimice ale variantelor tratate cu 160 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC/ Physico-chemical characteristics of variants treated with 160 mg/L SO ₂ with/without DMDC	92
Tab. 7.4. Caracteristicile fizico-chimice ale probelor tratate cu 20 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC/ Physico-chemical characteristics of variants treated with 20 mg/L SO ₂ with/without DMDC	93
Tab. 7.5. Caracteristicile fizico-chimice ale probelor tratate cu 40 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC/ Physico-chemical characteristics of variants treated with 40 mg/L SO ₂ with/without DMDC	94
Tab. 7.6. Caracteristicile fizico-chimice ale probelor tratate cu 80 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC/ Physico-chemical characteristics of variants treated with 80 mg/L SO ₂ with/without DMDC	95
Tab. 7.7. Cuantificarea principalilor compușilor volatili din variantele tratate cu 40 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC / Quantification of main volatile compounds in 40 mg/L SO ₂ treated variants with/without DMDC	101
Tab. 7.8. Cuantificarea principalilor compușilor volatili din variantele tratate cu 80 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC / Quantification of main volatile compounds in 80 mg/L SO ₂ treated variants with/without DMDC	102
Tab. 7.9. Cuantificarea principalilor compușilor volatili din variantele tratate cu 160 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC / Quantification of main volatile compounds in 160 mg/L SO ₂ treated variants with/without DMDC	103
Tab. 7.10. Corelația Pearson pentru evoluția compușilor volatili din probele experimentului I (V1-V45) / Pearson correlation for the evolution of volatile compounds in the experiment I samples (V1-V45)	104
Tab. 7.11. Rezultatele indicelui KMO și a testului Bartlett / Results of KMO and Bartlett's test	104
Tab. 7.12. Analiza componentelor principale -Varianța totală / Principal component analyses -Total Variance	105
Tab. 7.13. Cuantificarea principalilor compușilor volatili din probele tratate cu 20 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC / Quantification of main volatile compounds in 20 mg/L SO ₂ treated samples with/without DMDC	109
Tab. 7.14. Cuantificarea principalilor compușilor volatili din probele tratate cu 40 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC / Quantification of main volatile compounds in 40 mg/L SO ₂ treated samples with/without DMDC	110
Tab. 7.15. Cuantificarea principalilor compușilor volatili din probele tratate cu 80 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC / Quantification of main volatile compounds in 80 mg/L SO ₂ treated samples with/without DMDC	111
Tab. 7.16. Corelația Pearson pentru evoluția compușilor volatili din probele experimentului	112

II (P1-P45) / Pearson correlation table for the evolution of volatile compounds in the samples of experiment II (P1-P45)	
Tab. 7.17. Rezultatele indicelui KMO și a testului Bartlett / KMO and Bartlett's test	112
Tab. 7.18. Analiza componentelor principale -Varianța totală / Principal component analyses -Total Variance	113
Tab. 7.19. Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 40 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC (Set I) / Measurement of colour parameters of samples treated with 40 mg/L SO ₂ with/without DMDC (Set I)	117
Tab. 7.20. Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 80 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC (Set I) / Measurement of colour parameters of samples treated with 80 mg/L SO ₂ with/without DMDC (Set I)	118
Tab. 7.21. Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 160 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC (Set I) / Measurement of colour parameters of samples treated with 160 mg/L SO ₂ with/without DMDC (Set I)	119
Tab. 7.22. Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 40 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC (Set II) / Measurement of colour parameters of samples treated with 40 mg/L SO ₂ with/without DMDC (Set II)	120
Tab. 7.23. Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 80 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC (Set II) / Measurement of colour parameters of samples treated with 80 mg/L SO ₂ with/without DMDC (Set II)	121
Tab. 7.24. Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 160 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC (Set II) / Measurement of colour parameters of samples treated with 160 mg/L SO ₂ with/without DMDC (Set II)	122
Tab. 7.25. Analiza varianței (Anova - One Way) pentru principalii indicatori cromatici ai variantelor V1-V45 / Statistical test Anova-One-Way for chromatic parameters of V1-V45 samples	123
Tab. 7.26. Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 20 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC / Measurement of colour parameters of samples treated with 20 mg/L SO ₂ with/without DMDC	126
Tab. 7.27. Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 40 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC / Measurement of colour parameters of samples treated with 40 mg/L SO ₂ with/without DMDC	127
Tab. 7.28. Determinarea parametrilor cromatici ai probelor tratate cu 80 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC / Measurement of colour parameters of samples treated with 80 mg/L SO ₂ with/without DMDC	128
Tab. 7.29. Analiza varianței (Anova - One Way) pentru principalii indicatori cromatici ai probelor P1-P45 / Statistical test Anova-One-Way for chromatic parameters of P1-P45 samples	129
Tab. 7.30. Rezultatele microbiologice ale probelor P1-P15 / Microbiological results of P1-P15 samples	132
Tab. 7.31. Rezultatele microbiologice ale probelor P16-P30 / Microbiological results of P16-P30 samples	133
Tab. 7.32. Rezultatele microbiologice ale probelor P31-P45 / Microbiological results of P31-P45 samples	134
Tab. 7.33. Fișa de degustare pentru evaluarea vinurilor din cadrul experimentului I (V1-V45) / Wine tasting sheet for experiment I samples (V1-V45)	144
Tab. 7.34. Testul de omogenitate al varianței pentru variantele V1-V45 / Test of Homogeneity of Variances for samples V1-V45	148
Tab. 7.35. Testul ANOVA pentru evaluarea senzorială a variantelor V1-V45/ANOVA test for sensory evaluation of V1-V45 variants	149
Tab. 7.36. Rezultatele indicelui KMO și Bartlett pentru descriptorii senzoriali / KMO and Bartlett's Test for sensorial descriptors	151
Tab. 7.37. Corelația Pearson pentru analiza senzorială a variantele V1-V45 / Pearson	152

correlation for sensory characteristics of V1-V45 samples	
Tab. 7.38. Analiza componentelor principale-Varianța totală a descriptorilor senzoriali pentru probele P1-P45 / Principal component analysis-Total variance of sensorial descriptors for P1-P45 samples	153
Tab. 7.39. Fișa de degustare pentru evaluarea vinurilor din cadrul experimentului II (P1-P45) / Wine tasting sheet for experiment II samples (P1-P45)	156
Tab. 7.40. Testul de omogenitate al varianței pentru probele P1-P45 / Test of Homogeneity of Variances for P1-P45 samples	160
Tab. 7.41. Testul ANOVA pentru evaluarea senzorială a probelor P1-P45 / ANOVA test for sensory evaluation of P1-P45 samples	161
Tab. 7.42. Testul KMO și Bartlett / KMO and Bartlett's Test	163
Tab. 7.43. Corelația Pearson pentru analiza senzorială a probelor P1-P45 / Pearson correlation for sensory characteristics of P1-P45 samples	164
Tab. 7.44. Analiza componentelor principale-Varianța totală a descriptorilor senzoriali pentru probele P1-P45 / Principal component analysis-Total variance of P1-P45 samples	165

LISTA FIGURILOR

LIST OF FIGURES

Fig. 1.1 Etapele generale din procesul de obținere al vinurilor albe / General stages from the white wine production process	26
Fig. 2.1 Formula chimică a dioxidului de sulf / Chemical formula of sulphur dioxide	27
Fig. 3.1 Formula chimică a dimetildicarbonatului / Chemical formula of dimethyldicarbonate	55
Fig. 5.1 Laboratorul de Oenologie al Universității pentru Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași / Oenology Laboratory of the University of Life Sciences "Ion Ionescu de la Brad" from Iasi	63
Fig. 5.2 Laboratorul de Microbiologie al Universității pentru Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași / Microbiology Laboratory of the University of Life Sciences "Ion Ionescu de la Brad" from Iasi	64
Fig. 6.1. Soiul Muscat Ottonel, Fetească regală, Grüner Veltliner / Muscat Ottonel variety, Fetească regală variety, Grüner Veltliner variety	67
Fig. 6.2. Protocolul experimental pentru obținerea vinurilor albe cu conținut redus de SO ₂ / The experimental protocol to produce low SO ₂ white wines	70
Fig. 6.3. Legenda probelor experimentale/ The legend of the experimental samples	71
Fig. 6.4. Protocolul experimental pentru obtinerea probelor aferente experimentului II / Protocol for experiment II samples	73
Fig. 6.5. Pregătirea diluțiilor conform planului experimental/ Dilutions required according to the experimental plan	82
Fig. 6.6. Aspecte și măsurători microscopice pentru <i>Schizosaccharomyces pombe</i> , <i>Brettanomyces bruxellensis</i> și <i>Saccharomyces cerevisiae</i> / Aspects and microscopic measurements for <i>Schizosaccharomyces pombe</i> , <i>Brettanomyces bruxellensis</i> and <i>Saccharomyces cerevisiae</i> yeasts	85
Fig. 7.1 Reprezentarea grafică a variabilelor în sistemul primelor două axe factoriale / Graphical representation of variables in the system of the first two factorial axes	105
Fig. 7.2. Reprezentarea unităților statistice a variantelor experimentului I (V1-V45) în sistemul celor două axe factoriale / Representation of the statistical units of the variants of experiment I (V1-V45) in the system of the two factorial axes	106
Fig. 7.3. Reprezentarea grafică a variabilelor în sistemul primelor două axe factoriale / Graphical representation of the variables in the system of the first two factorial axes.	113
Fig. 7.4. Reprezentarea unităților statistice (P1-P45) în sistemul celor două axe factoriale / Representation of statistical units (P1-P45) in the two factorial axes	114
Fig. 7.5 Evidențierea modificărilor cromatice în raport cu doza de dioxid de sulf administrată (mg/L) / Identification of colour changes in relation to the dose of sulphur dioxide (mg/L)	124
Fig. 7.6 Evidențierea modificărilor cromatice în raport cu doza de dioxid de sulf administrată (mg/L)/ Identification of colour changes in relation to the sulphur dioxide doses (mg/L)	129
Fig. 7.7 Aspect microscopic cu bacterii (coci și bacili) izolate din variantele tratate cu 40 mg SO ₂ /L cu/fără DMDC/ Microscopic aspect of bacteria (cocci and bacilli) isolated from variants treated with 40 mg SO ₂ /L with/without DMDC	131
Fig. 7.8 Aplicarea protocolului microbiologic pentru testarea activității microorganismelor din vinurile tratate / Microbiological protocol for testing the activity of microorganisms in treated wines	137
Fig. 7.9 Aspecte privind eficacitatea tratamentelor administrate asupra vinurilor experimentale (Set I – după 7 zile) /Aspects concerning the effectiveness of treatments on the experimental wines (Set I - after 7 days)	139
Fig. 7.10 Aspecte privind eficacitatea tratamentelor administrate asupra vinurilor experimentale (Set II-după 3 luni) / Aspects concerning the effectiveness of treatments on the experimental wines (Set II - after 3 months)	140

Fig. 7.11 Aspecte privind eficacitatea tratamentelor administrate asupra vinurilor experimentale (Set III – după 6 luni) /Aspects concerning the effectiveness of treatments on the experimental wines (Set III - after 6 months)	141
Fig. 7.12 Evaluarea senzorială a variantelor V1-V15 (40 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC) / Sensory evaluation of samples V1-V15 (40 mg/L SO ₂ with/without DMDC)	145
Fig. 7.13 Evaluarea senzorială a variantelor V16-V30 (80 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC) / Sensory evaluation of samples V16-V30 (80 mg/L SO ₂ with/without DMDC)	146
Fig. 7.14 Evaluarea senzorială a variantelor V31-V45 (160 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC) / Sensory evaluation of samples V31-V45 (160 mg/L SO ₂ with/without DMDC)	147
Fig. 7.15 Reprezentarea intensității descriptorilor senzoriali analizați în variantele V1-V45 / Representation of the sensory descriptors intensity in V1-V45 samples	151
Fig. 7.16 Reprezentarea grafică a variabilelor în sistemul celor 6 axe factoriale / Graphical representation of the variables in the 6 factorial axis system	154
Fig. 7.17 Evaluarea senzorială a probelor P1-P15 (20 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC) / Sensory evaluation of samples P1-P15 (20 mg/L SO ₂ with/without DMDC)	157
Fig. 7.18 Evaluarea senzorială a probelor P16-P30 (40 mg/L SO ₂ cu/fără DMDC) / Sensory evaluation of samples P16-P30 (40 mg/L SO ₂ with/without DMDC)	158
Fig. 7.19 Evaluarea senzorială a probelor P31-P45 (80 mg/L SO ₂ și/fără DMDC) / Sensory evaluation of samples P31-P45 (80 mg/L SO ₂ with/without DMDC)	159
Fig. 7.20 Reprezentarea intensității descriptorilor senzoriali analizați în probele P1-P45 / Representation of the sensory descriptors intensity in P1-P45 samples	163
Fig. 7.21 Analiza componentelor principale pentru probele P1-P45 / Principal component analysis for samples P1-P45	166

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE LIST OF SCIENTIFIC ARTICLES

Lucrări ISI publicate

1. **Ioana CĂLIN**, Valeriu V. COTEA, Camelia Elena LUCHIAN, Lucia-Cintia COLIBABA, Cătălin-Ioan ZAMFIR, Ștefan TUDOSE-SANDU-VILLE, Marius NICULAUA, Elena Cristina SCUTARAȘU, 2019 - Compositional and sensory characteristics of some aromatic and semi-aromatic wines from Iași vineyard - Scientific Papers. Series B. Horticulture, Vol. LXIII, No. 1, p. 271.
2. **Ioana CĂLIN**, Camelia Elena LUCHIAN, Lucia Cintia COLIBABA, Elena-Cristina SCUTARAȘU, Andreea POPÎRDĂ, Vlăduț Ion CIMPOI, Cătălin Ioan ZAMFIR, Valeriu V. COTEA, 2020 - Study concerning the influence of sulphur dioxide and dimethyl dicarbonate treatments in wine, Scientific Papers. Series B. Horticulture, Vol. LXIV, No. 2, p. 139-147.
3. Elena-Cristina SCUTARAȘU, Camelia Elena LUCHIAN, Lucia Cintia COLIBABA, Valeriu V. COTEA, Marius NICULAUA, **Ioana CĂLIN**, Ioan MORARU, 2019 - Influence of enzymes treatment on physico-chemical parameters of fetească regală wines. Scientific Papers. Series B, Horticulture, LXIII, 253-258.
4. Lucia Cintia COLIBABA, Elena-Cristina SCUTARAȘU, Maria CODREANU., **Ioana CĂLIN**., Camelia Elena LUCHIAN, & Valeriu V. COTEA, 2019 - Data on changes in wine phenolic compounds, biogenic amines and amino acids composition after treatment with carbon-based materials. e-health and bioengineering conference (ehb), 1-4, [https:// doi.org/0.1109/EHB47216.2019.8969922](https://doi.org/0.1109/EHB47216.2019.8969922).
5. Vlăduț Ion CIMPOI, Liliana ROTARU, Lucia Cintia COLIBABA, Elena Cristina SCUTĂRAȘU, **Ioana CĂLIN**, Lulu Cătălin ALEXANDRU , 2020 - Influence of carbohydrate content on grafting in wine grape varieties 'Aromat de Iași' and 'Golia', Scientific Papers. Series B. Horticulture, Vol. LXIV, No. 1, p. 248-254.
6. Vlăduț Ion CIMPOI, Liliana ROTARU, Vasile Răzvan FILIMON, Lucia Cintia COLIBABA, Elena Cristina SCUTĂRAȘU, **Ioana CĂLIN**, 2020 - Nursery vegetative growth of 'gelu' and 'paula' grape varieties, by analysis of foliary photosynthetic pigments, Scientific Papers. Series B. Horticulture, Vol. LXIV, No. 1, p. 255-261.

Lucrări BDI publicate

1. **Ioana CĂLIN**, Valeriu V. COTEA, LUCHIAN Camelia Elena, Lucia Cintia COLIBABA, Cătălin Ioan ZAMFIR, Elena Cristina SCUTARAȘU, Vlăduț Ion CIMPOI, 2019 - Influence of sulphur dioxide and dimethyl dicarbonate on white wines quality, LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE SERIA HORTICULTURĂ, Vol. 62 NR. 1, p. 127-132.
2. **Ioana CĂLIN**, Valeriu V. COTEA, Florin Daniel LIPȘA, Lucia-Cintia COLIBABA, Camelia Elena LUCHIAN, Elena Cristina SCUTARAȘU, Maria Iulia CERBU, Vlăduț Ion CIMPOI, Cătălin Ioan ZAMFIR, Influence of stabilisation treatments on the sensory characteristics of white wines, 2020, *Lucrări Științifice Seria Horticultură.-Premiul pentru cea mai bună lucrare a unui tânăr cercetător*.
3. Scutarașu Cristina Elena, Camelia Elena LUCHIAN, Lucia Cintia COLIBABA, Valeriu V. COTEA, **Ioana CĂLIN**, Mitică Tiberiu ANDRIEȘ, Vlăduț Ion CIMPOI, 2019 - Influence of enzymes treatment on the quality of Sauvignon blanc wines. *Lucrări Științifice Seria Horticultură*, 62 (1), 133-138.
4. Vlăduț Ion CIMPOI, Liliana ROTARU, Lucia Cintia COLIBABA, **Ioana CĂLIN**, Elena Cristina SCUTĂRAȘU, Lulu Cătălin ALEXANDRU, 2019 - Influence of carbohydrate content on grafting in table grape varieties Gelu and Paula, *Lucrări Științifice Seria Horticultură*, 62 (1), p. 119-126.

5. Maria Iulia CERBU, Valeriu V. COTEA, COLIBABA Lucia Cintia, NICULAUA Marius, **Ioana CĂLIN**, Răzvan-George NIȚĂ, Cătălin Ioan ZAMFIR, Ștefan TUDOSE-SANDU-VILLE, 2021 - Study concerning the influence of two techniques of maceration-fermentation on the physico-chemical and sensory characteristics of red wines, Conferința Multidisciplinară privind Dezvoltarea Durabilă, Timișoara, Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology.

6. Maria Iulia CERBU, Valeriu V. COTEA, Cătălin Ioan ZAMFIR, Marius NICULAUA, **Ioana CĂLIN**, Andreea POPÎRDĂ, Cintia Lucia COLIBABA, Ștefan TUDOSE-SANDU-VILLE, 2021 - The effect of different techniques of maceration-fermentation on the phenolic composition of red wines, Journal of Applied Life Sciences and Environment Vol. LIV, No. 1 (185) / 2021: 63-69.

7. **Ioana CĂLIN (BUȚERCHI)**, Valeriu V. COTEA¹, Lucia Cintia COLIBABA, Camelia Elena LUCHIAN, Iulia Maria CERBU¹, Cătălin-Ioan ZAMFIR², Bogdan Constantin NECHITA, 2021 - The dynamic of methanol and acetaldehyde in white wines treated with sulphur dioxide and dimethyl decarbonate., USV Iași, Lucrări Științifice Seria Horticultură.