

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

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

TEZĂ DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat,
Prof. univ. Dr. Valeriu V. Cotea m.c. AR**

**Doctorand,
Ing. Iulian–Valentin Teliban**

**IAȘI
2021**

**“ION IONESCU DE LA BRAD” UNIVERSITY
OF LIFE SCIENCES IAȘI
FACULTY OF HORTICULTURE**

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

DOCTORAL THESIS

**PhD coordinator,
Prof. Valeriu V. Cotea PhD c.
member of Romanian Academy**

**PhD student,
Eng. Iulian–Valentin Teliban**

**IAȘI
2021**

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

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

TEZĂ DE DOCTORAT

***STUDII PRIVIND EVOLUȚIA COMPUȘILOR
VOLATILI ȘI A ACIZILOR LA PRODUCEREA
VINURILOR ALBE DIN SOIURILE FETEASCĂ
REGALĂ ȘI ALIGOTÉ, ÎN CENTRUL VITICOL
BUCIUM, DIN PODGORIA IAȘI***

**Conducător de doctorat,
Prof. univ. Dr. Valeriu V. Cotea m.c. AR**

**Doctorand,
Ing. Iulian–Valentin Teliban**

**IAȘI
2021**

**“ION IONESCU DE LA BRAD” UNIVERSITY
OF LIFE SCIENCES IAȘI
FACULTY OF HORTICULTURE**

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

DOCTORAL THESIS
***STUDIES ON THE EVOLUTION OF VOLATILE
COMPOUNDS AND ACIDS IN THE PRODUCTION
OF WHITE WINES FROM FETEASCĂ REGALĂ
AND ALIGOTÉ, IN BUCIUM IASI VINEYARD***

**PhD coordinator,
Prof. Valeriu V. Cotea PhD c.
member of Romanian Academy**

**PhD student,
Eng. Iulian–Valentin Teliban**

**IAȘI
2021**

CUPRINS

INTRODUCERE	7
REZUMAT	12
PARTEA I: STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....	23
CAPITOLUL I: STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRII PRIVIND CONȚINUTUL ÎN ACIZI ORGANICI ÎN TIMPUL PROCESULUI FERMENTATIV	24
CAPITOLUL II: STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRII PRIVIND CONȚINUTUL ÎN COMPUȘI VOLATILI ÎN TIMPUL PROCESULUI FERMENTATIV	32
2.1. Studii privind acizii volatili din vinuri.....	46
2.2. Studii privind alcoolii din vinuri	46
2.3. Studii privind esterii din vinuri.....	54
2.4. Studii privind aldehidele și cetonele din vinuri	58
2.5. Studii privind monoterpenele din vinuri	61
PARTEA a II-a CONTRIBUȚII PROPRII	63
CAPITOLUL III: SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII ÎNTREPRINSE	64
CAPITOLUL IV: CADRUL ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU DESFĂȘURAT CERCETĂRILE PRIVIND STUDIUL ACIZILOR DIN VINURILE ALIGOTÉ ȘI FETEASCĂ REGALĂ	67
CAPITOLUL V: MATERIALUL ȘI METODA DE CERCETARE.....	69
5.1. Materialul de cercetare.....	69
5.1.1. Descrierea centrului viticol Bucium- Iași.....	69
5.1.2. Descrierea soiurilor de struguri luate în studiu	69
5.1.2.1. Soiul Fetească regală	69
5.1.2.2. Soiul Aligoté	72
5.1.3. Descrierea produselor levuriene luate în studiu	75
5.1.3.1. Fermactive® Sauvignon Blanc	75
5.1.3.2. Fermol Candy®	77
5.1.3.3. Levulia® Esperide.....	79
5.1.3.4. Zymaflore® X5.....	80
5.2. Variantele tehnologice luate în studiu.....	81

5.3. Metode de analiză utilizate la determinarea principalilor parametri fizico-chimici	87
5.3.1. Pregătirea probelor pentru analiză	87
5.3.2. Determinarea parametrilor fizico-chimici la must	88
5.3.3. Determinarea parametrilor fizico-chimici principali la vin, la variantele tehnologice luate în studiu	88
5.3.4. Determinarea acizilor din timpul procesului fermentativ și din vin..	90
5.3.5. Determinarea compușilor volatili din vin.....	93
5.4. Evaluarea senzorială a variantelor tehnologice luate în studiu.....	94
5.5. Formularea și testarea ipotezelor statistice cu ajutorul analizei varianței (ANOVA)	100
CAPITOLUL VI: REZULTATE OBTINUTE ȘI DISCUȚII	104
6.1 Caracterizarea vinurilor obținute în funcție de principalele caracteristici fizico-chimice.....	104
6.1.1 Variația principalelor caracteristici fizico-chimice ale vinurilor obținute din soiul Aligoté.....	104
6.1.2 Variația principalelor caracteristici fizico-chimice ale vinurilor obținute din soiul Fetească regală.....	106
6.2. Interpretarea statistică a rezultatelor obținute privind conținutul în acizi organici determinați.....	106
6.2.1. Interpretarea statistică a rezultatelor obținute privind conținutul în acizi organici determinați din vinurile Aligoté.....	106
6.2.2. Interpretarea statistică a rezultatelor obținute privind conținutul în acizi organici determinați din vinurile Fetească regală.....	116
6.3. Identificarea compușilor volatili în diferitele faze ale procesului fermentativ	128
6.3.1. Identificarea compușilor volatili în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté	128
6.3.1.1. Identificarea acizilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté.....	129
6.3.1.2. Identificarea alcoolilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté.....	133
6.3.1.3. Identificarea aldehydelor și cetonelelor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté.....	140

6.3.1.4. Identificarea esterilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté.....	149
6.3.1.5 Identificarea terpenelor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté.....	154
6.3.1.6. Identificarea compușilor volatili la vinuri după terminarea fermentației alcoolice la vinurile obținute din soiul Aligoté	155
6.3.2. Identificarea compușilor volatili în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală.....	156
6.3.2.1. Identificarea acizilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală...	156
6.3.2.2. Identificarea alcoolilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală...	157
6.3.2.3 Identificarea aldehydelor și cetonelelor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală.....	158
6.3.2.4. Identificarea esterilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală...	158
6.3.2.5. Identificarea terpenelor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală...	159
6.3.2.6. Identificarea compușilor volatili după terminarea fermentației alcoolice la vinurile obținute din soiul Fetească regală.....	168
6.4. Analiza senzorială a vinurilor experimentale obținute din soiurile Fetească regală și Aligoté luate în studiu.....	169
6.4.1. Analiza senzorială a probelor de Aligoté	169
6.4.2. Analiza senzorială a probelor de Fetească regală	169
CAPITOLUL VII – CONCLUZII.....	172
BIBLIOGRAFIE	176
ANEXE	188

INTRODUCTION	7
ABSTRACT	12
PART I – PRESENT STATE OF RESEARCH	23
CHAPTER I – PRESENT STATE OF RESEARCH ON THE MAJOR ORGANIC ACIDS DURING ALCOHOLIC FERMENTATION	24
CHAPTER II – PRESENT STATE OF RESEARCHES ON THE MAJOR VOLATILE COMPOUND DURING ALCOHOLIC FERMENTATION	32
2.1. Studies on wine volatile acids	46
2.2. Studies on wine higher alcohols	46
2.3. Studies on wine esters	54
2.4. Studies on wine aldehydes and ketones	58
2.5. Studies on wine monoterpenes	61
PART II –PERSONAL CONTRIBUTIONS.....	63
CHAPTER III: AIM AND OBJECTIVES OF THE RESEARCH.....	64
CHAPTER IV: ORGANIZATIONAL AND INSTITUTIONAL FRAMEWORK IN WHICH THE RESEARCH ON THE STUDY OF ACIDS IN WINES OBTAINED FROM ALIGOTÉ AND FETEASCĂ REGALĂ.....	67
CHAPTER V: RESEARCH MATERIAL AND METHOD	69
5.1. Research material	69
5.1.1. Description of the Bucium-Iasi Vineyard Center	69
5.1.2. Description of studied grape varieties	69
5.1.2.1. Fetească regală variety	69
5.1.2.2. Aligoté variety.....	72
5.1.3. Description of studied yeasts	75
5.1.3.1 Fermactive® Sauvignon Blanc.....	75
5.1.3.2. Fermol Candy®	77
5.1.3.3 Levulia® Esperide.....	79
5.1.3.4 ZymaFlore® X5	80
5.2. Technological variants taken into study	81
5.3. Methods of analysis used to determine the main physicochemical parameters;	87
5.3.1. Preparation of the samples for analysis	87
5.3.2. Determination of physico-chemical parameters of grape juice.....	88
5.3.3. Determination of the main physicochemical parameters in wines of studied technological variants.....	88
5.3.4. Determination of acids during the fermentative process and in wine.....	90
5.3.5. Determination of volatile compounds in wine	93

5.4. Sensory characteristics evaluation of studied technological variants	94
5.5. Formulation and testing of statistical assumptions with variance analysis (ANOVA)	100
CHAPTER VI: OBTAINED RESULTS AND DISCUSSIONS	104
6.1. Characterization of wines obtained according to the main physicochemical characteristics	104
6.1.1. Variations of the main physico-chemical characteristics of Aligoté wines	104
6.1.2. Variations of the main physico-chemical characteristics of Fetească regală wines	106
6.2. Statistical interpretation of the results obtained on the content of analysed organic acids	106
6.2.1. Statistical interpretation of the results obtained for organic acids analysed in Aligoté wines	106
6.2.2. Statistical interpretation of the results obtained for organic acids determined analysed in Fetească regală wines.....	116
6.3. Identification of volatile compounds in different phases of the fermentative process.....	128
6.3.1 Identification of volatile compounds in different phases of the fermentative process in must and wines obtained from Aligoté variety.....	128
6.3.1.1 Identification of acids in different phases of the fermentative process at wines obtained from Aligoté variety	129
6.3.1.2. Identification of alcohols in different phases of the fermentative process at wines obtained from Aligoté variety	133
6.3.1.3 Identification of aldehydes and ketones in different phases of the fermentative process at wines obtained from Aligoté variety.....	140
6.3.1.4 Identification of esters in different phases of the fermentative process at wines obtained from Aligoté variety	149
6.3.1.5. Identification of terpenes in different phases of the fermentative process at wines obtained from Aligoté variety	154
6.3.1.6. Identification of volatile compounds at the end of fermentative process in wines obtained from Aligoté variety	155
6.3.2. Identification of volatile compounds in different phases of the fermentative process in must and wines obtained from Fetească regală variety.....	156
6.3.2.1 Identification of acids in different phases of the fermentative process at wines obtained from Fetească regală variety	156
6.3.2.2. Identification of alcohols in different phases of the fermentative process at wines obtained from Fetească regală variety	157
6.3.2.3 Identification of aldehydes and ketones in different phases of the fermentative process at wines obtained from Fetească regală variety.....	158

6.3.2.4 Identification of esters in different phases of the fermentative process at wines obtained from Fetească regală variety	158
6.3.2.5. Identification of terpenes in different phases of the fermentative process at wines obtained from Fetească regală variety	159
6.3.2.6. Identification of volatile compounds at the end of fermentative process in wines obtained from Fetească regală variety	168
6.4. Sensory analysis of studied Fetească regală and Aligoté	169
6.4.1. Sensory analysis of Aligoté samples	169
6.4.2. Sensory analysis of Fetească regală samples	169
CHAPTER VII – CONCLUSIONS	172
BIBLIOGRAPHY	176
ANNEXES	188

INTRODUCERE

„O masă fără vin este ca o zi fără soare”, a scris marele „gurmand” Jean Anthelme Brillat-Savarin. Vinul completează o masă, nici o altă băutură nu are o complexitate aromatică care să se potrivească cu atât de multe alimente (St. Pierre și Armstrong, 2003).

În ultimele decenii, modul în care se cumpără, servește, savurează și asortează vinul s-a schimbat foarte mult, cerințele consumatorilor în materie de vin fiind din ce în ce mai mari (Perullo, 2021).

Vinul reflectă o combinație de forțe istorice, sociale și economice (Lewin, 2010), nici o afacere sau industrie neavând un domeniu de aplicare mai global decât industria vinului (Matasar, 2006).

Starea emoțională poate schimba percepția asupra caracteristicilor senzoriale ale vinurilor, de asemenea vinul, în mod sinergic, poate avea impact asupra stării emoționale. Vinul își demonstrează beneficiile atât în trup, cât și la nivel sufletec: aduce bucurie, ascunde tristețea, ajută la investigarea realităților subtile și la contemplarea celor dificile, permițând pregătirea, îndrăzneala și prodigalitatea, reducând durerea și oboseala (Perullo, 2021).

Istoria vinului și a vinificației este la fel de veche ca și civilizația în sine, încă nu se cunoaște momentul și cine a descoperit „binefacerile” acestei licori magice.

Vinul este unul dintre fundamentele civilizației occidentale. Povestea sa este despre religie, medicină, știință, război, descoperire și vis, neputând fi narată în câteva cuvinte sau chiar în mii de pagini. Până la urmă, o mulțime de cărți au fost scrise în perioade scurte de istorie, în anumite regiuni viticole sau chiar în unele podgorii.

„*In vino, veritas...*” o expresie latină care înseamnă „în vin se află adevărul”. Cu toate acestea, sentimentele sale nu sunt unice societății romane, numeroase civilizații de-a lungul istoriei au emis dictoane similare, avându-se în vedere faptul că vinul a jucat și continuă să joace un rol important în diverse evenimente religioase, culturale și sociale (Waterhouse și colab., 2016).

Până la primii ani ai secolului al XVII-lea, vinul a fost considerat a fi singura băutură sănătoasă ușor de păstrat (până la un moment dat), fapt ce pune în lumină creșterea rapidă globală a tehnologiei de fermentare a vinului.

O privire asupra primelor zile ale vinificației evidențiază că deși existau diferite tehnici producere a unor stiluri de vin variate, principiile de bază s-au schimbat foarte puțin. Cu toate acestea, în ultimii 150 de ani, baza științifică a vinificației a devenit treptat mai clară, iar multe practici odată considerate imposibile au devenit acum de rutină.

Astăzi, se acceptă în general că un consum moderat de vin poate fi social benefic și că poate fi eficient în gestionarea stresului și în reducerea riscului de boli coronariene. Băutorul prudent de vin continuă să fie atent ce și cum bea pentru a se asigura că beneficiile depășesc riscurile. Scăderea la nivel mondial a consumului de alcool atestă acest efect.

Deși în ultimii ani, în România, cultura viței de vie și a soiurilor de struguri internaționale s-a dezvoltat destul de mult, o mare parte a plantațiilor românești sunt ocupate de soiuri indigene, dar care prezintă potențial pentru obținerea unor vinuri de calitate.

Importanța acestui studiu derivă din faptul că se încearcă o analiză a mai multor clase de compuși chimici esențiali din construcția corpului senzorial al vinurilor. Deși marea majoritate a studiilor oenologice realizate au la bază vinurile obținute din soiuri deja binecunoscute: Sauvignon blanc, Chardonnay, Riesling de Rhin, Cabernet Sauvignon, etc., studiul de față propune analiza vinurilor obținute din două soiuri de struguri respectiv: Fetească regală și Aligoté, la care se dorește valorificarea potențialului aromatic în vederea obținerii de vinuri armonioase și echilibrate cu potențial odorant accentuat. Mai mult decât atât, deși soiurile de struguri luate în discuție sunt considerate nearomate, prin această lucrare, se evidențiază faptul că cele două soiuri prezintă potențial pentru formarea unui complex aromatic, iar modul de conducere a procesului de vinificație, precum și tratamentele aplicate contribuie la calitatea aromatică a acestora.

Formarea aromelor în timpul fermentației este în mod clar un proces dinamic care depinde de interacțiunile dintre multe variabile (inclusiv compuși volatili), iar pentru definirea și controlul calității senzoriale a vinului este necesară punerea în evidență a potențialului acestor soiuri.

Pasiunea pentru Oenologie o port în suflet de mult timp, motiv pentru care am și lucrat de-a lungul a câțiva ani minunați la crama Olteanu, creând, degustând și simțind cu toată fibra esența vinului.

Alese mulțumiri aduc conducerii Universității pentru Științele Vieții, reprezentată în prezent de dl. Prof. univ. dr. Gerard Jităreanu, dar și de fostul rector dl. Prof. univ. dr. Vasile Vântu, precum și conducerii Facultății de Horticultură, prin exponenții săi de marcă dl. Prof. univ. dr. Liviu Irimia și D-ra Prof. univ. dr. Lucia Draghia, pentru deosebita oportunitate de care am beneficiat, aceea de a-mi derula studiile și experiențele aferente prezentei teze de doctorat într-un cadru academic de cea mai înaltă clasă.

Țin, de asemenea, să mulțumesc mentorului meu, dl. Prof. univ. dr. m.c. AR Valeriu V. Cotea, față de care am o deosebită admirație, pentru dubla sa calitate de OM și de PROFESOR, pentru că m-a inițiat, m-a susținut și mi-a ghidat permanent pașii de-a lungul derulării stagiului doctoral.

Doresc să adresez alee mulțumiri distinșilor membri ai Comisiei de analiză, pentru dăruirea, profesionalismul și răbdarea alocată în vederea analizării prezentei teze de doctorat.

Sentimentele mele de recunoștință și apreciere se îndreaptă acum către cadrele didactice și cercetătorii care au fost alături de mine toți acești ani și m-au învățat să simt bucuria de a împărtăși cu alții tainele acestei minunate discipline, în mod deosebit CS III Cătălin Ioan Zamfir, Șef lucr. dr. Cintia Lucia Colibaba, CS III Marius Niculaua, Șef lucr. dr. Camelia Elena Luchian, dr. ing. Cristina Scutărașu, Asist. univ. dr. Ștefan Tudose-Sandu-Ville, CS III Bogdan Nechita, dr.ing. Ioan Moraru, precum și tuturor colegilor de doctorat, care mi-au fost alături (drd.ing. Ioana Călin, drd.ing. Alina Nistor).

Emoțiile mă copleșesc, pentru că acum îmi aduc aminte de tot sprijinul, dăruirea și implicarea soției și familiei mele, de momentele în care mi-au fost alături și au crezut cu tot sufletul în mine; simt că mulțumirile nu sunt suficiente pentru a exprima ceea ce simt acum.

INTRODUCTION

"A table without wine is like a day without sun," wrote Jean Anhalme Brillat-Savarin, the Gourmet. Wine completes a meal, as no other drink has, because it has so many flavours that match with a grand variety of meals (St. Pierre and Armstrong, 2003).

In the last decades, the way of buying, serving, enjoying and food pairing, wine has changed a lot, because we have never been so pampered in the options (Perullo, 2021). Currently, consumer requirements in wine specific characteristics are increasing.

Wine reflects a combination of historical, social and economic forces (Lewin, 2010), no other business or industry has a higher global scope than the wine industry (Matasar, 2006).

The emotional state can change the perception of the sensory characteristics of wines, also the wine synergistically may have an impact on the emotional state. The wine demonstrates its benefits both in the body and the soul: brings joy, hides sadness, helps investigate subtle realities and contemplation of difficult ones, allowing for preparation, boldness and prodigality, reducing pain and fatigue (Perullo, 2021).

Wine is one of the foundations of Western civilization. Its history is about religion, medicine, science, war, discovery and dreams, unable to be related in a few words or even in thousands of pages. A lot of books were written in short periods of history, in some wine regions or even in some vineyards.

"In vino, Veritas ..." a Latin expression that means "in wine there is the truth." Numerous civilizations throughout history have written similar quotes, considering that wine has played and continues to play an important role in various religious, cultural and social events.

Until the beginning of the seventeenth century, wine was considered to be the only healthy drink (up to a certain point), which highlights the global rapid growth of fermentation technology.

A look primary vinification methods points out that although there were different techniques for various wine styles, the basic principles didn't change a lot. However, over the past 150 years, the scientific basis of winemaking has gradually become clearer, and many practices once considered impossible have now become routine.

Nowadays, it is generally accepted that moderate wine consumption can be socially beneficial and that it can be effective in managing stress and reducing the risk of coronary heart disease. The prudent wine drinker continues to be careful about what and how he drinks to ensure that the benefits exceed the risks. The worldwide decline of alcohol consumption confirms the described effect.

Although in recent years in Romania, vineyards and international grape varieties have developed quite a lot, a large part of Romanian vineyards are still occupied by indigenous varieties, but which have the potential for obtaining quality wines.

The importance of this study derives from the fact that an analysis of several classes of essential chemical compounds in the construction of the sensorial profile is attempted. The vast majority of oenological studies are based on the wines obtained from the already well-known varieties: Sauvignon blanc, Chardonnay, Rhein Riesling, Cabernet sauvignon, etc. This study proposes the analysis of wines obtained from two varieties of grapes, The Romanian specific Fetească regală and the international Aligoté, where the aromatic potential is used to obtain harmonious and balanced wines with potentially accentuated aromas. Moreover, although the grape varieties under discussion are considered non-aromatic by this paper, it is highlighted that the two varieties have the potential for the formation of an aromatic complex, studying the dynamics of it throughout the primary winemaking process.

Flavour formation during fermentation is clearly a dynamic process that depends on the interactions between many variables, which is usually associated with volatile compounds.

In this context, the records of the potential of these varieties becomes a necessity for the definition and control of the sensorial quality of the wine.

My passion for oenology has been in my heart for a long time, the reason why I have worked for years at Olteanu winery, creating, tasting and feeling the essence of wine.

I would like to thank the management of the University for Life Sciences, currently represented by Prof. Dr. Gerard Jităreanu, as well as the former rector Prof. Dr. Vasile Vântu, and to the management of the Faculty of Horticulture, through its leading exponents, Prof. Liviu Irimia and Prof. Lucia Draghia, for the great opportunity I had to carry out my studies and experiences related to this PhD thesis in an academic environment of the highest class.

I would thank to my mentor, Prof. univ. dr. m.c. AR Valeriu V. Cotea, to whom I have a great admiration, for his double quality of HUMAN and PROFESSOR, for having initiated, supported and guided me permanently throughout the doctoral studies.

My gratitude and appreciation are directed also to the members of the committee, teachers and researchers who have supported and taught me to feel the joy of sharing with others the mysteries of wine, especially Cătălin Zamfir, Cintia Colibaba, Marius Niculaua, Camelia Luchian, Scutărășu Cristina, Ștefan Tudose-Sandu-Ville, Bogdan Nechita Ioan Moraru and as well as my doctoral colleagues (Alina Nistor, Ioana Călin).

Overwhelmed, I remember all the support, dedication and involvement of my wife and family, all the moments when they were by my side and they believed in me with all their heart; I feel that thanks are not enough to express my feelings.

REZUMAT

Cuvinte cheie: Fetească regală, Aligoté, compuși volatili

Teza de doctorat intitulată „**Studii privind evoluția compușilor volatili și a acizilor la producerea vinurilor albe din soiurile Fetească regală și Aligoté, în centrul viticol Bucium, din podgoria Iași**” a fost motivată de obținerea unor vinuri din soiuri nearomate, capabile să facă față concurenței acerbe existente pe piața vitivinicolă, prin obținerea unor vinuri selecționate atent lucrate.

Raționamentul pentru care cele două soiuri de struguri au fost luate în studiu a fost acela că soiul Fetească regală ocupă ponderea cea mai mare la noi în țară, iar Aligoté-ul este soiul cel mai cultivat din cadrul societății de unde au provenit strugurii.

Teza a fost structurată și redactată în două părți principale, conform regulilor științifice actuale, folosind ca material bibliografic un număr de 175 referințe din literatura de specialitate.

Prima parte, bibliografică, este structurată în două capitole care prezintă informații din literatura de specialitate în care se descriu în mod succint stadiul actual privind conținutul în acizi organici și compuși volatili în timpul procesului fermentativ.

Partea a doua, de „**Contribuții proprii**”, este structurată în patru capitole la care s-au adăugat concluziile generale desprinse din studiile efectuate în cadrul acestei teze.

Capitolul al III-lea prezintă motivația lucrării și obiectivele urmate pentru îndeplinirea scopului acestei teze, acestea sunt:

- urmărirea influenței levurilor asupra compoziției vinurilor, prin determinarea parametrilor fizico-chimici principali, din care amintim: aciditatea volatilă, aciditatea totală, pH-ul, densitatea relativă, concentrația alcoolică, substanțele nereducătoare, extractul nereducător, extractul sec total

- determinarea calitativă a compușilor de aromă la cele două soiuri luate în studiu

- stabilirea influenței statistice a factorilor studiați (ziua fermentației, varianta și a acțiunii sinergice a acestora)

- realizarea profilului aromatic al vinurilor cu ajutorul analizei senzoriale „închise” în vederea identificării și cuantificării principalelor caracteristici gustative și olfactive

Capitolul al IV-lea prezintă cadrul organizatoric și instituțional în care s-au desfășurat cercetările privind studiul acizilor din vinurile Aligoté și Fetească regală, cele două soiuri de struguri fiind preponderente raportate la suprafața lucrată de societate. Determinările privind acizii organici și compușii volatili au fost efectuate

în cadrul Laboratorului de Oenologie al Facultății de Horticultură, din cadrul Universității pentru Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași, în anul 2015.

Capitolul al V-lea prezintă: materialul și metoda de cercetare (centrul viticol, cele două soiuri analizate și levurile utilizate), variantele tehnologice luate în studiu, metodele de analiză pentru determinarea parametrilor fizico-chimici la must și vin, descrierea metodei de evaluare senzorială a vinurilor și a metodelor de analiză statistică.

În vederea realizării obiectivelor propuse, în lucrarea de față s-au luat în studiu două soiuri de struguri, unul cosmopolit – Aligoté și unul autohton – Fetească regală. Recoltarea strugurilor s-a efectuat manual în anul 2015, din podgoria Iași – Bucium. Prelucrarea materiei prime a avut loc în interiorul societății S.C. CASA OLTEANU S.R.L., unde a avut loc și vinificația primară. După realizarea recepției calitative și cantitative a strugurilor pe soiuri, s-a aplicat o desciorchinare-zdrobire. Mustuiala rezultată s-a vehiculat cu ajutorul unei fulopompe către presa, moment în care s-a efectuat o dublă enzimară, o ușoară sulfitare și un tratament cu tanin, mustuiala astfel rezultată a fost menținută în presă pentru o macerație prefermentativă. Mustul obținut a fost vehiculat în cisterne de oțel-inox de la Biomashinostroene prin intermediul unui schimbator de căldură în vederea realizării unei deburbări gravitaționale, urmat de omogenizarea acestuia și obținerea variantelor experimentale:

VARIANTELE ALIGOTÉ	TRATAMENTELE APLICATE
Varianta A1 – varianta martor	- nu s-a efectuat însămânțare cu levuri selecționate - s-a aplicat tehnologia de vinificare în alb
Varianta A2	- adaos de levuri selecționate (Levulia® Esperide) - fermentat la vase mici (damigene 50L)
Varianta A3	- adaos de levuri selecționate (Zymaflore® X5) - fermentat la vase mici (damigene 50L)
Varianta A4	- adaos de levuri selecționate (Levulia® Esperide) - fermentat la vase de capacități industriale (cisterne 1000 L)
Varianta A5	- adaos de levuri selecționate (Zymaflore® X5) - fermentat la vase de capacități industriale (cisterne 1000 L)

VARIANTELE FETEASCĂ REGALĂ	TRATAMENTELE APLICATE
Varianta F1 – varianta martor	- nu s-a efectuat însămânțare cu levuri selecționate - s-a aplicat tehnologia de vinificare în alb
Varianta F2	- adaos de levuri selecționate (Fermol Candy®) - fermentat la vase mici (damigene 50L)
Varianta F3	- adaos de levuri selecționate (Fermactive® Sauvignon Blanc) - fermentat la vase mici (damigene 50L)
Varianta F4	- adaos de levuri selecționate (Fermol Candy®) - fermentat la vase de capacități industriale (cisterne 1000 L)
Varianta F5	- adaos de levuri selecționate (Fermactive® Sauvignon Blanc) - fermentat la vase de capacități industriale (cisterne 1000 L)

Musturile obținute au fermentat cu ajutorul unor levuri selecționate disponibile în comerț, dar și cu levuri din flora spontană. Prelevarea zilnică a probelor a început din faza de must, efectuând în același timp o monitorizare a fermentației alcoolice. Ultima zi de prelevare a probelor a fost a doua zi după efectuarea stabilității proteice, moment în care vinul a fost îmbuteliat. Astfel s-au prelevat simultan câte două probe de must, una pentru determinarea ulterioară a acizilor și una pentru determinarea compușilor volatili. Probele au fost depozitate la rece în frigider pentru determinarea acizilor organici, și la congelator pentru determinarea compușilor volatili.

Pentru determinarea acizilor organici și a compușilor volatili, probele au fost transportate spre a fi analizate la laboratorului de Oenologie al Facultății de Horticultură-Iași unde s-a folosit aparatura specializată din dotare

În **capitolul al VI-lea** sunt cuprinse discuțiile și rezultatele obținute. Acest capitol este structurat la rândul său în patru subcapitole care descriu: caracterizarea vinurilor în funcție de principalele caracteristici fizico-chimice, interpretarea statistică a rezultatelor privind conținutul de acizi organici determinați, identificarea compușilor volatili în diferite faze ale procesului fermentativ și analiza senzorială a vinurilor studiate.

Dintre parametrii analizați enumerăm:

- aciditatea totală a musturilor și vinurilor, concentrația în substanțe reducătoare din must, aciditatea volatilă a vinurilor, pH-ul din musturi și vinuri, densitatea relativă a vinurilor, concentrația alcoolică la vinurile obținute, substanțele nereducătoare din vinuri, extractul nereducător și cel sec total;

- acizii organici, compușii volatili;

- analiza senzorială a vinurilor obținute.

Probele fermentate la cisternă au înregistrat proporții diferite în ceea ce privește concentrațiile în alcool, atât la soiul Aligoté, cât și la soiul Fetească regală. Acest lucru poate fi pus pe seama pierderilor mai mici din timpul fermentației alcoolice, datorate temperaturilor scăzute din timpul acesteia, cât și a cantității mai mici de substanțe nereducătoare din aceste probe în vin.

Platforma Statgraphics® Centurion XVI (Stat Points Technologies, Inc. Warrenton, Virginia, USA) a fost utilizată pentru validarea rezultatelor și analiza statistică avansată. Au fost realizate următoarele analize statistice: media aritmetică, varianța, deviația standard, testul Fisher, analize statistice multivariate (MVA), analiza componentelor principale (PCA), ANOVA unifactorial și ANOVA multifactorial.

S-a aplicat testarea ANOVA multifactorial privind influența a trei factori: varianta, ziua prelevării precum și influența sinergică a acestora asupra valorilor determinate în ceea ce privește conținutul în acizi organici identificați în studiul de

față la vinurile obținute din soiul Aligoté. Contribuția fiecărui factor a fost testată eliminând influențele tuturor celorlalți factori. Întrucât valorile probabilităților calculate sunt mai mici decât valoarea probabilității testate (0,05) se respinge ipoteza de nul cum că varianțele prezentate de valorile determinate de fiecare acid în parte identificat sunt egale. Acest fapt duce la acceptarea ipotezei că factorul testat, respectiv varianta studiată și ziua prelevării precum și sinergia dintre cei doi factori au influență statistică semnificativă asupra conținutului în acizii organici identificați pentru un interval de încredere de 95%. Aceleași rezultate au fost obținute și la Fetească regală. De aici reieșind concluzia că valorile nu sunt constante vinurilor obținute din același soi de struguri, ele fiind în strânsă corelație cu tehnologia folosită în procesul fermentativ și cu levurile folosite în vinificație.

S-a aplicat procedura statistică de comparație multiplă a mediilor valorilor acizilor, pentru variantele analizate, în vederea stabilirii diferențelor statistic semnificative dintre acestea, la probele prelevate în fiecare zi din timpul fermentației alcoolice la Aligoté și Fetească regală. În cazul soiului Aligoté s-a identificat un număr cuprins între 153 și 226 de perechi de medii ce prezintă diferențe statistic semnificative, calculate pentru o probabilitate de transgresiune testată de $p=0,05$. La Fetească regală s-a identificat un număr cuprins între 94 și 227 de perechi de medii ce prezintă diferențe statistic semnificative, calculate pentru o probabilitate de transgresiune testată de $p=0,05$. Metoda statistică pentru diferențierea sau identificarea eventualelor grupuri omogene de medii a fost testul Fisher.

În urma determinării compușilor volatili prin cromatografie gazoasă (GC), s-au identificat un număr variabil de compuși volatili în funcție de soi, etapa prelevării probelor și variantele luate în studiu. Astfel la soiul Aligoté s-a identificat un număr de 90 de compuși volatili, din care 14 acizi, 22 alcooli, 40 esteri, 4 aldehide, 6 cetone și 4 terpene. Din cei 90 de compuși volatili, 81 au fost identificați la varianta martor. Acest lucru poate fi pus pe seama diferitelor levuri din flora spontană, care în funcție de specie, se caracterizează prin diferite activități enzimactice importante – β -glucozidaza, lipaza, pectinaza, proteaza, glucanaza, xilanaza, amilaza, sulfitreductaza, β -liaza, (Tufariello și colab., 2021).

În ceea ce privește soiul Fetească regală, s-au determinat 86 compuși volatili din care: 14 acizi, 22 alcooli, 39 esteri, 4 aldehide, 3 cetone și 4 terpene. O parte din compușii volatili provin direct din materia primă, iar o parte din ei se formează în urma reacțiilor biochimice din timpul fermentației alcoolice.

În must s-au identificat cei mai puțini acizi, urmând ca ei să se găsească într-un număr mai mare în timpul fermentației alcoolice, urmând ca numărul acestora să scadă în vin.

În mustul din soiul Aligoté s-au determinat prin analiza (GC) șase acizi volatili dintr-un total de 14 acizi identificați în probele preluate în timpul fermentației alcoolice. Spre deosebire de soiul Aligoté, la vinul obținut din soiul Fetească regală,

în timpul fermentației alcoolice s-au determinat 14 acizi volatili la toate variantele, în must numărul acizilor volatili fiind opt.

Variația acizilor poate fi pus pe seama faptului că în timpul procesului de fermentație alcoolică se înregistrează o concentrație și o producție diferită în funcție de levura utilizată pe de o parte (Chidi și colab., 2015), iar pe de altă parte acest fapt poate fi atribuit modului de formare al esterilor (Tufariello și colab., 2021).

Cei mai mulți alcooli din vin apar ca subproduse de fermentație a levurilor (Jackson, 2020), prin degradarea enzimatică a unor aminoacizi (Musteață și Furtuna, 2012). Formarea în timpul fermentației alcoolice a alcoolilor superiori are loc prin metabolizarea monozaharurilor de către levuri, prin decarboxilarea și dezaminarea simultană a acizilor aminici (Țârdea și colab., 2010).

Alcooli superiori joacă, un rol indirect în dezvoltarea unui buchet de vin învechit. Prin reacția cu acizii organici, aceștia participă la obținerea unei game mai mare de esteri găsiți în vin. În timpul fermentației, producția esterilor are loc rapid sub egida enzimelor din levuri (Jackson, 2020).

Cea mai numeroasă grupă de compuși identificați este cea a esterilor întrucât, se formează în timpul fermentației alcoolice, malolactice, acetice, dar și ulterior pe durata păstrării și învechirii vinului (Țârdea și colab., 2010).

La ambele soiuri, clasa esterilor a înregistrat cel mai mare număr de compuși odoranți fiind identificați 40 de esteri la vinurile obținute din soiul Aligoté, respectiv 39 la vinurile obținute din soiul Fetească regală. Cel mai mare număr s-a înregistrat la varianta la martor de la Aligoté - 36 cât și la varianta martor de la Fetească regală cu un număr de 35 de esteri. Acest lucru se datorează faptului că levurile non-*Saccharomyces* sunt descrise ca buni producători de esteri (Musteață și Furtuna, 2012).

La analizarea calitativă a unor compuși volatili prin GC s-au remarcat o serie de lucruri, din care se menționează câteva aspecte. La Aligoté, esterii decanoat de etil și dodecanoat de etil au ponderi mai mari la varianta A5. Variantele fermentate în vase de sticlă de capacități mici (50 L) prezintă ponderi mai mici comparativ cu variantele fermentate la cisternă. Obținerea unor valori mai mari la variantele unde fermentația s-a desfășurat la cisterne (A4 și A5) poate fi explicată prin faptul că temperaturile mai ridicate favorizează evaporarea compușilor volatili în cantități mai mari în timpul fermentației alcoolice (Sablayrolles, 2019). În soiului Fetească regală, acidul octanoic și acidul decanoic prezintă cea mai mare valoare la varianta F1. Aromele generate de acești acizi sunt cele de miere și ceară de albine, arome caracteristice soiului Fetească regală (Țârdea și colab., 2010). În cazul variantelor fermentate cu levuri selecționate, acidul octanoic prezintă proporții mai mari la variantele fermentate la cisterne (F4 și F5) comparativ cu variantele fermentate la vase de sticlă de 50 L (F2 și F3).

Aprecierea finală asupra calității vinului este analiza senzorială. Aceasta este aplicată pe scară largă în cercetarea vinului pentru a descrie efectul factorilor, cum ar fi varietatea de struguri sau proprietățile de prelucrare a vinului și pentru a studia relația dintre caracteristicile chimice și senzoriale (Carrau și colab., 2017).

La vinul Aligoté, varianta A4 este cea care se remarcă din punct de vedere senzorial prin mineralitate, note de fructe verzi, fân cosit, condimente, aciditate și nuanțe verzi/vegetale mai pronunțate. Varianta A5 nu a ieșit în evidență, fiind o variantă echilibrată, ceea ce denotă calitate. Varianta A2 s-a evidențiat prin cele mai intense note de miere, de flori de câmp și fructe uscate.

La Fetească regală, nota de miere (caracteristica de soi) cea mai puternică o întâlnim la varianta F1. În cadrul variantei F5 s-a remarcat și cea mai mică intensitate a aromelor de citrice. Varianta F5 se remarcă prin persistență, mineralitate, note de fructe coapte și mai puternice. Varianta F3 se remarcă prin notele sale mai predominante de citrice, fructe exotice, flori de câmp și condimente. Varianta F2 excelează în ceea ce privește textura, notele de fructe verzi și fân cosit.

ABSTRACT

Keywords: Aligoté, Fetească regală, volatile compounds

The doctoral thesis entitled "Studies on the evolution of volatile compounds and acids in the production of white wines from Fetească regală and Aligoté grape varieties, in the Bucium wine-growing centre, Iasi vineyard" was motivated by obtaining wines from non-aromatic grape varieties, able to face the fierce competition on the wine market, by obtaining wines with specific aroma profiles.

The rationale for studying the two grape varieties was that the Fetească regală variety covers the largest surface percentage in our country and the wines obtained from international Aligoté are characterised all over the world as semi-aromatic.

The thesis is structured in two main parts, according to current scientific rules, by using as bibliographical material a number of 175 references from the most recent and relevant scientific literature.

The first part is structured in three sub-chapters that present information from specific literature, that briefly describe the influence of yeasts on volatile compounds and major organic acids during alcoholic fermentation.

The second part, "Personal Contributions", is structured in four chapters to which general conclusions drawn from the studies performed in this thesis have been added.

Chapter three presents the scientific aim for performing this study as well as the objectives followed to achieve it. Thus, the objectives centered on:

- monitoring the influence of yeast on the composition of wines and the main physico-chemical parameters, including: volatile acidity, total acidity, pH, relative density, alcohol concentration, non-reductive substances, non-reductive extract, total dry extract
- qualitative determination of flavour compounds in experimental wines from the two studied grape varieties
- determination of the statistical influence of the factors studied (day of fermentation, technological variant and their synergistic action)
- the aromatic profile of wines using "blind" sensorial analysis in order to identify and quantify the main gustative and olfactive characteristics.

Chapter four presents the organizational and institutional framework in which the research on the study of acids in Aligoté and Fetească regală wines was carried out. The determinations of major organic acids and volatile compounds were carried out in the Oenology Laboratory of the Faculty of Horticulture, Iași University for Life Sciences "Ion Ionescu de la Brad", in 2015.

Chapter five presents the materials and methods used in the research (the vineyard, the two grape varieties analysed, the experimental wine samples obtained

and the yeasts used in the study), the technological variants used in the study, the methods of determination of physico-chemical parameters in must and wine, the sensory characteristic evaluation of the wines and the interpretation of the data through statistical calculations.

In order to accomplish the objectives, two grape varieties were studied, one cosmopolitan - Aligoté and one local - Fetească regală. The grapes were harvested manually in 2015, from the vineyard Iasi - Bucium. The processing of the raw material took place in the company S.C. CASA OLTEANU S.R.L., where the primary vinification also took place. After the qualitative and quantitative reception of the grapes by variety, destemming and crushing were applied. The resulting grape juice was conveyed by means of a fulopump to the press, at which time a double enzyme treatment, a light sulphiting and a tannin treatment were carried out, the resulting grape juice was kept in the press for a pre-fermentative maceration. The obtained must was conveyed in stainless steel tanks from Biomashinostroene by means of a heat exchanger in order to carry out a gravitational settling, followed by its homogenization and the obtaining of the experimental variants:

Aligoté VARIANTS	TREATMENTS APPLIED
Variant A1 – control variant	- no yeast applied - general white vinification technology
Variant A2	- selected yeasts added (Levulia® Esperide) - fermented in low capacity glass demi-johns 50 L
Variant A3	- selected yeasts added (Zymaflore® X5) - fermented in low capacity glass demi-johns 50 L
Variant A4	- selected yeasts added (Levulia® Esperide) - fermented in stainless steel tanks 1000 L
Variant A5	- selected yeasts added (Zymaflore® X5) - fermented in stainless steel tanks tank 1000 L

Fetească regală VARIANTS	TREATMENTS APPLIED
Variant F1 – control variant	- no yeast applied - general white vinification technology
Variant F2	- selected yeasts added (Fermol Candy®) - fermented in low capacity glass demi-johns 50 L
Variant F3	- selected yeasts added (Fermactive® Sauvignon Blanc) - fermented in low capacity glass demi-johns 50 L
Variant F4	- selected yeasts added (Fermol Candy®) - fermented in stainless steel tanks tank 1000 L
Variant F5	- selected yeasts added (Fermactive® Sauvignon Blanc) - fermented in stainless steel tanks tank 1000 L

The obtained grape juices were fermented using available selected yeast, as well as yeasts from wild flora. Daily sampling started from the grape juice phase while monitoring alcoholic fermentation. The last day of sampling was the day after protein stability, when the wine was bottled. Thus two samples of must were taken simultaneously, one for subsequent determination of acids and one for determination of volatile compounds. The samples were stored in controlled temperature and

humidity conditions for the determination of organic acids and for the determination of volatile compounds.

For the determination of organic acids and volatile compounds, the samples were transported for analysis to the Oenology Laboratory of the Faculty of Horticulture-Iași, where specialised equipment was used.

Chapter six contains the discussions and results obtained from the study. This chapter is structured into four sub-chapters describing: the characterization of the wines according to their main physico-chemical characteristics, the statistical interpretation of the results concerning the content of the majority organic acids determined, the identification of volatile compounds at different stages of the fermentation process and the sensory characteristics of the studied wines.

From the analyzed parameters, the most important are: total acidity, concentration of reducing sugars in musts, volatile acidity, pH, relative density, alcohol concentration, non-reducing substances, non-reductive and total dry extracts, major organic acids, volatile compounds and sensory characteristics analysis of wines obtained.

The tank-fermented samples showed different values of alcohol proportion for both Aligoté and Fetească regală variety. This can be attributed to smaller losses during alcoholic fermentation due to the lower temperatures during fermentation and to the smaller amount of non-reductive substances in these samples.

The Statgraphics® Centurion XVI platform (Stat Points Technologies, Inc. Warrenton, Virginia, USA) was used for validation of results and advanced statistical analysis. The following statistical analyses were performed: arithmetic mean, variance, standard deviation, Fisher test, multivariate statistical analysis (MVA), principal component analysis (PCA), unifactorial ANOVA, and multifactorial ANOVA.

Multifactor ANOVA testing was applied on the influence of three factors: grape variety, day of sampling and their synergistic influence on the values determined for the organic acid content identified in the present study in Aligoté wines. The contribution of each factor was measured by eliminating the influences of all other factors. Since the calculated probability values are lower than the probability value tested (0.05), the null hypothesis that the variances of the determined values of each identified acid are equal is rejected. This leads to the acceptance of the hypothesis that the tested factor, i.e. the studied variety and the day of sampling as well as the synergy between the two factors have statistically significant influence on the content of the identified organic acids for a 95% confidence interval. The same results were obtained for Fetească regală. This leads to the conclusion that the values are not constant for wines obtained from the same grape variety, as they are closely correlated with the volume of fermentation and the yeasts used in the vinification.

The statistical procedure of multiple comparison of the means for acids values for the variants under analysis was applied in order to establish statistically significant

differences between them on samples taken each day during alcoholic fermentation of Aligoté and Fetească regală. For Aligoté variety, between 153 and 226 pairs of means showing statistically significant differences were found, calculated for a tested probability of transgression of $p=0.05$. For Fetească regală variety, a number of 21 to 227 pairs of means showing statistically significant differences were found, calculated for a tested probability of transgression of $p=0.05$. The statistical method for differentiating or identifying possible homogeneous groups of means was the Fisher test (LSD - Least significant difference).

After determination of volatile compounds by gas chromatography, a variable number of volatile compounds were identified depending on the variety, sampling stage and variants studied. In the Aligoté wines, 90 volatile compounds were identified, including 14 acids, 22 alcohols, 40 esters, 4 aldehydes, 6 ketones and 4 terpenes. Of the 90 volatile compounds, 81 were identified in the A1 control variant. This can be attributed to the different strains in the spontaneous flora, which depending on the species, are characterized by different important enzymatic activities - β -glucosidase, lipase, pectinase, protease, glucanase, xylanase, amylase, sulfite reductase, β -lyase (Tufariello et al., 2021).

Regarding Fetească regală wines, 86 volatile compounds were determined, of which: 14 acids, 22 alcohols, 39 esters, 4 aldehydes, 3 ketones and 4 terpenes. Some of the volatile compounds come directly from the grapes and some are formed as a result of biochemical reactions during alcoholic fermentation.

Fewer acids have been identified in the must, and they are found in higher numbers during alcoholic fermentation and then decrease in the wine content.

Six volatile acids out of a total of 14 acids identified in the samples taken during alcoholic fermentation were determined by gas chromatographic analysis in Aligoté must. In contrast to the Aligoté variety, 14 volatile acids were determined in all variants of wine made from the Fetească regală variety during alcoholic fermentation, with eight volatile acids in the must.

The variation of acids can be attributed to the fact that during the alcoholic fermentation process there is a different concentration and production depending on the yeast strain that was used on the one hand (Chidi et al., 2015), and on the other hand this can be attributed to the mode of ester formation (Tufariello et al., 2021).

Most alcohols in wine results as by-products of yeast fermentation (Jackson, 2020), through enzymatic degradation of amino acids (Musteață and Furtuna, 2012). The formation during alcoholic fermentation of higher alcohols occurs through the metabolism of mono-saccharides by yeast by simultaneous decarboxylation and deamination of amino acids (Țârdea et al., 2010).

Superior alcohols have an indirect role in the development of an aged wine bouquet. Through reaction with organic acids, they contribute to a wider range of esters

found in wine. During fermentation, ester production occurs rapidly under the control of yeast enzymes (Jackson, 2020).

The largest group of compounds identified is represented by esters as they are formed during alcoholic, malolactic, acetic fermentation, but also later during storage and aging of wine (Țârdea et al., 2010).

In both varieties Fetească regală and Aligoté, the ester class recorded the highest number of odorous compounds with 40 esters identified in wines obtained from the variety Aligoté and 39 esters in wines obtained from the variety Fetească regală. The highest number was recorded in the control variants: A1 with 36 and F1 with 35 esters. This is due to the fact that non-Saccharomyces yeasts are described as good ester producers (Musteață and Furtuna, 2012).

During the qualitative analysis of volatile compounds by gas chromatography, some of which are mentioned below. In Aligoté, ethyl decanoate and ethyl dodecanoate esters recorded the highest proportion in the A5 variant. The variants fermented with commercial yeast in demi-johns show lower values compared to the tank-fermented variants. The higher values obtained in the variants where fermentation took place in tanks (A4 and A5) can be explained by the fact that the higher temperatures in demi-johns facilitate the evaporation of volatile compounds in greater quantities during alcoholic fermentation (Sablayrolles, 2019). In the Fetească regală variety, octanoic acid and decanoic acid present the highest value in the control variant (F1). The aromas generated by these acids are honey and beeswax, typical aromas of the Fetească regală variety (Țârdea et al., 2010). In the case of the variants fermented with selected yeasts, octanoic acid values are higher in the tank-fermented variants (F4 and F5) than in low capacity glass demi-johns fermented variants (F2 and F3).

The final assessment of wine quality is the sensory profile. This is widely applied in wine research to describe the effect of factors such as grape variety or wine processing technologies and to study the relationship between chemical and sensory characteristics (Carrau et al., 2017).

In the Aligoté wine, the A4 variant is the one that distinguishes itself from a sensory point of view in terms of minerality, notes of green fruit, mown hay, spices, acidity and more pronounced green/vegetable nuances. The A5 variant did not show up, being a balanced variant, which denotes quality. A2 was highlighted by the most intense notes of honey, wild flowers and dried fruit.

The honey note (characteristic of the variety) is strongest in the F1 variety of Fetească regală. The F5 variety also has the lowest intensity of citrus aromas. The F5 variant shines due to its persistence, minerality, ripe fruit notes. The F3 variant has predominant notes of citrus, exotic fruits, wild flowers and spices. The F2 variant excels in terms of texture, notes of green fruits and mown hay.

**PARTEA I: STADIUL ACTUAL AL
CUNOAȘTERII**

PART I: PRESENT STATE OF RESEARCH

CAPITOLUL I: STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRII PRIVIND CONȚINUTUL ÎN ACIZI ORGANICI ÎN TIMPUL PROCESULUI FERMENTATIV

CHAPTER I: PRESENT STATE OF RESEARCH ON THE MAJOR ORGANIC ACIDS DURING ALCOHOLIC FERMENTATION

Alături de apă și zaharuri, **acizii** fac parte din cele trei componente principale ale mustului. Termenul provine din limba latină, unde cuvântul *acidus* înseamnă acru (Cotea și colab., 2009). În general, acizii provin direct din struguri, însă cantități mici pot fi produse în timpul fermentației alcoolice, sub acțiunea levurilor și a bacteriilor.

În trecut, accentul științific a fost pus în mare parte asupra acizilor organici derivați din struguri materie primă, aceștia fiind principalii responsabili de aciditatea totală a vinului (Chidi și colab., 2015). În prezent, evaluarea concentrației în acizi organici manifestă un interes din ce în ce mai mare datorită proprietăților antioxidative, antimicrobiene și antiinflamatorii ridicate. Acizii organici constituie elemente importante în definirea profilului senzorial al vinurilor (Robles și colab., 2019).

Majoritatea cercetărilor s-au axat în principal pe identificarea și cuantificarea acizii organici derivați din struguri sau pe gradul de solubilitate al acidului tartric, dar și pe transformarea acidului malic în acid lactic cu ajutorul bacteriilor malolactice (Odăgeriu, 2006; Avenoză și colab., 2006; Grainger și Tattersall, 2016).

Vinul poate fi considerat o sursă importantă de acizi organici, ca elemente benefice asupra sănătății umane, cum ar fi favorizarea absorbției fierului (Robles și colab., 2019).

Conținutul și caracterul acizilor influențează calitatea și caracterul vinului, fiind componente cheie, deoarece reflectă procesul de producție al vinului. Concentrația și compoziția acizilor organici oscilează în timpul fermentației alcoolice (Chidi și colab., 2015). Cantități semnificative pot fi produse de levuri și bacterii însă, aceștia pot fi și consumați în timpul procesului fermentativ (Chidi și colab., 2015; Robles și colab., 2019).

Acizii organici sunt markeri importanți pentru gestionarea fermentației alcoolice și a profilului senzorial al vinului. De exemplu, acidul malic este monitorizat de regulă în vederea evaluării progresului fermentației malolactice, iar acidul acetic constituie indicator al problemelor de fermentație (Chidi și colab., 2018).

Concentrația acizilor în must și vin este dependentă de soiul de struguri; nivelul ionului de potasiu și gradul de umiditate din sol; sistemul de cultură; starea de sănătate a materiei prime; practicile viticole aplicate; condițiile climatice ale anului; gradul de maturare a fructelor; condiții de vinificație (Robles și colab., 2019). De exemplu, strugurii crescuți în climat răcoros conțin de regulă o cantitate mult prea mare de acizi, iar viile plantate în zonele călduroase dau, în general, struguri cu un conținut scăzut în acești compuși.

Șase acizi reprezintă mai mult de 95% din totalul acizilor organici găsiți în vin (tabelul 1.1). Cu excepția acidului acetic, acizii organici nu sunt volatili. Acizii tartric și malic se găsesc în cea mai mare concentrație în vinuri. Aceștia sunt formați în struguri la începutul sezonului de creștere, dar comportamentul lor în timpul maturării strugurilor și vinificației este diferit (Waterhouse și colab., 2016).

Acizii malic și acidul citric pot fi metabolizați ușor de microorganismele din vin pe când acizii tartric și succinic sunt mai stabili din punct de vedere biologic și sunt rareori degradați de microorganismele din vin. Chiar și așa, în anumite condiții, acidul tartric poate fi atacat de microorganisme.

Conform Chidi și colab. (2018), levurile sunt capabile să producă cantități diferite de acid acetic, citric și succinic.

Tabelul 1.1/ Table 1.1

Proveniența, sursa și proprietățile senzoriale ale principalilor acizi din vin
The origin, source and sensory properties of the main acids in wine

Acizi	Note senzoriale ^a	Concentrația (g/L, tipic)	Sursa de proveniență ^b
Acid acetic	Volatil - de oțet, înțepător (la pragul de 200 mg/L)	0,1 - 0,5	L, BL, BA
Acid citric	Acid, astringent	0,1 - 0,7	S, L
Acid lactic	Acid, astringent	0 - 3	BL
Acid malic	Acid, astringent	2 - 7	S
Acid succinic	Acid, sărat, amar	0,5 - 1	L, BL, BA
Acid tartric	Acid, astringent	2 - 6	S

^a Notele senzoriale se referă la percepția acidului singur într-o matrice simplă (apă sau o soluție hidroalcoolică)

^b L=levuri, S= struguri, BL=bacteriile lactice, BA= bacteriile acetice (Waterhouse și colab., 2016)

La aciditatea vinului contribuie mai mulți acizi, mai importanți fiind acizii tartric, malic, succinic, citric, lactic. Aceștia sunt elemente cheie care influențează calitatea și caracterul vinului deoarece reflectă procesul de producție a vinului (Robles și colab., 2019).

Acidul tartric, cunoscut și sub denumirea de acid vinic, se găsește cu preponderență în struguri și vin, fiind nedetectabil în majoritatea celorlalte fructe și legume (Waterhouse și colab., 2016). Este acidul caracteristic viței de vie, întâlnindu-se atât în boabe cât și în ciorchini, lăstari, frunze etc. Acidul tartric contribuie semnificativ la aciditatea vinului, favorizând stabilitatea biologică și longevitatea acestuia.

Acidul tartric este un acid tare, cu proprietatea de a se disocia total în apă. În stare pură se prezintă sub forma unei substanțe solide, cristaline, care la încălzire emană un miros asemănător zahărului ars. La temperaturi mai ridicate decât punctul de topire (170 °C), acidul tartric se transformă în acid metatartric, care este utilizat la stabilizarea vinurilor față de precipitățile tartrice. În industria vinicolă, acidul tartric este folosit la corectarea acidității musturilor, legea permițând în acest sens un adaos de până la 1,5 g/L acid tartric.

Acest compus se formează în timpul divizării celulelor și este stabil pe tot parcursul maturității, concentrația sa fiind în general constantă în boabe. Acidul tartric nu este metabolizat în timpul vinificației, dar se poate pierde prin mecanisme fizico-chimice cum ar fi precipitarea tartrică (Waterhouse și colab., 2016).

Compusul menționat este un acid dibazic, astfel încât formează săruri acide și neutre. Dintre acestea, prezintă importanță tartratul acid de potasiu și tartratul neutru de calciu. Tartratul acid de potasiu sau bitartratul de potasiu este puțin solubil în apă (4,4 g/L la 15 °C) și aproape insolubil în etanol.

Tartratul neutru de calciu, însoțește bitartratul de potasiu, dar solubilitatea lui este însă considerabil mai scăzută (0,16 g/L la 15 °C) și mai puțin dependentă de temperatură. Ambele săruri au însușirea de a forma ușor soluții suprasaturate. Deși solubilitatea este redusă, din cauza unei viteze lente de cristalizare, ele pot rămâne multă vreme în soluție, precipitând, în multe cazuri, abia după îmbuteliere. Din acest motiv, este obligatorie stabilizarea vinurilor față de precipitarea tartrică, fiind considerată un defect.

Temperatura scăzută din timpul păstrării vinului, determină, de asemenea precipitarea tartrică (Mendes-Ferreira și Mendes-Faia, 2020). Datorită depunerilor de tartrați, aciditatea totală a vinurilor scade cu 2-3 °g/L sau chiar mai mult. Cu toate acestea, în vin mai rămân 1-4 g/L acid tartric (liber și legat) care constituie aproximativ 50% din valoarea acidității totale a unui vin normal constituit. Prezența lui imprimă vinului așa numitul caracter de vinozitate (Odăgeriu, 2006).

Acidul malic (hidroxisuccinic) este un acid foarte răspândit în plante și fructe. Denumirea sa provine din latină „*malum*”, care înseamnă măr. Compusul menționat este metabolizat cu ușurință de mai multe tipuri de bacterii din vin.

Acidul malic este prezent în struguri în concentrații foarte mari (> 20 g/kg) în etapa creșterii boabelor, dar este metabolizat activ în timpul maturării fructelor. Concentrațiile sunt în general mai scăzute în regiunile mai calde și la un grad de maturitate ridicat al strugurilor. Acidul malic poate fi, de asemenea, metabolizat în timpul fermentației, conversia în acid lactic având o importanță deosebită pentru vinificație (Waterhouse și colab., 2016).

La concentrații ridicate ale acidului malic, mustul și vinul pot prezenta note vegetale intense, dar și prospețime (este responsabil pentru aroma de măr verde).

Concentrația în acid malic este dependentă și de particularitățile soiului. Există soiuri (Riesling) la care pierderile de acid malic prin arderile respiratorii sunt mai mari decât la altele. Din acest motiv, acestea vor fi preferate a fi cultivate în regiuni mai răcoroase.

În struguri se găsește sub formă de acid L(-)malic, în concentrații de 1-5 g/L, în funcție de gradul de maturare. Acesta se formează în strugurii verzi, din glucide, în urma respirației intracelulare conform mecanismului din ciclul Krebs. De asemenea, mai apare și în timpul fotosintezei, pornind de la CO₂.

Acidul malic cât și sărurile lui trec în must deoarece sunt solubile. O serie de levuri, ca cele din genul *Schizosaccharomyces*, pot produce o fermentație malolactică prin care se poate transforma aproape în totalitate acidul malic în alcool etilic și CO₂. Cea mai mare scădere se înregistrează la fermentația malolactică, când sub influența bacteriilor lactice, acidul malic poate fi transformat în totalitate în acid lactic și CO₂.

Unele studii indică faptul că acidul malic poate fi afectat în special de fermentația alcoolică (Chidi și colab., 2015).

Acidul lactic este principalul acid găsit cu preponderență în lapte și produse derivate. Deși strugurii conțin foarte puțin acid lactic, acesta se găsește în toate vinurile, unele conținând cantități semnificative. Spre deosebire de acidul malic și tartric, acidul lactic este un acid mai „moale”, contribuind la o senzație mai „cremoasă” a vinului, motiv pentru care constituie o temă de interes pentru cercetători și vinificatori (Chidi și colab., 2018).

Acidul lactic prezintă un rol important în formare acidității titrabile a vinului.

În vin, acesta poate rezulta: ca produs de reacție în timpul fermentației alcoolice și malolactice.

În stare pură se prezintă ca un lichid siropos higroscopic care solidifică la 16,8 °C. Cu toate că are punctul de fierbere la 122 °C, acidul lactic nu poate fi antrenat decât cu vapori supraîncălziți, ceea ce denotă faptul că aportul său la aciditatea volatilă a vinului este foarte redus.

Grație prezenței în moleculă a unui atom de carbon asimetric (C²), el poate fi reprezentat de un enantiomer L(+)-lactic, unul D(-)-lactic și un amestec racemic (DL). În vin se întâlnește atât acidul D(-)-lactic, produs secundar al fermentației alcoolice (cu origine levuriană), cât și acidul L(+)-lactic, produs principal al fermentației malolactice (cu origine bacteriană), forma racemică a acestui acid lactic nefiind întâlnită în vin (Cotea și colab., 2009).

Acidul citric este denumit oficial și acid monohidroxitricarboxilic sau hidroxitricarbalilic. Denumirea sa provine din cuvântul latinesc *citrus*, care înseamnă lămâie (Cotea și colab., 2009). În struguri sunt prezente cantități reduse de acid citric, el reprezentând aproximativ 5% din totalul acizilor. Concentrații mai mari

pot fi găsite în cazul vinurilor obținute din struguri botritizați (Țârdea și colab., 2010).

Similar acidului malic, acidul citric este transformat cu ușurință de către microorganismele din vin. De exemplu, acesta poate fi convertit în acid lactic, iar unele tipuri de bacterii lactice pot fermenta acidul citric în acid acetic. Cantitățile excesive de acid acetic nu sunt niciodată de dorit în vin, motiv pentru care acidul citric este rar folosit pentru a acidifica mustul înainte de fermentare. Riscul apariției acidului acetic este mult mai mic după limpezirea și stabilizarea vinului. Acidul citric poate fi folosit la corectarea acidității vinurilor, prin administrarea sa doar după finalizarea fermentației malolactice sau alcoolice când aceasta nu este succedată de fermentația malolactică.

Aciditatea volatilă poate crește cu 0,15-0,20 g/L acid acetic prin degradarea unei cantități de 0,5 g acid citric (Niculaua, 2010).

Acidul menționat imprimă caracter fructat vinurilor (aromă de citrice) fiind rar utilizat la producerea vinurilor roșii. Acest lucru se datorează atât aromei de citrice nepotrivite pentru vinurile roșii, cât și instabilității biologice mai mare a acestora.

Punctul său de topire este în jurul valorii de 100 °C, cristalizând cu o moleculă de apă. Acesta, în stare pură este prezent sub forma unor cristale incolor, inodore, translucide, ce au un gust plăcut, ușor acid. Este mai solubil în alcool etilic (49,8 g/100 g soluție la o temperatură de 20 °C) față de apă (59,2 g/100 g soluție la aceeași temperatură). Sărurile acidului citric (de calciu) sunt mai greu solubile la cald decât la rece, dând naștere unor precipitate în anotimpul cald (Niculaua, 2010). Este acidul cel mai slab, deoarece aproape că nu disociază. Acidul citric poate fi parțial sau complet metabolizat de bacteriile lactice, dar din cauza concentrațiilor scăzute de acid citric în vin și pentru că unul dintre produsele finale este acidul acetic, efectul net asupra pH-ului și al acidității titrabilă este scăzut (Waterhouse și colab., 2016).

Acidul acetic este un acid volatil care se evaporă foarte ușor și are un miros distinctiv. O cantitate mare de acid acetic în vin este asociată întodeauna de o calitate slabă. După unii autori, acidul acetic poate fi și un compus odorant de dorit, îmbogățind complexitatea aromatică, în acest sens, rolul său, rezultând din producția de esteri acetici care sunt responsabili de o mare parte din caracterul fructat al vinului tânăr (Jackson, 2020). Având în vedere tendința crescătoare pe care o prezintă acidul acetic, poate fi încadrat în categoria acizilor cu caracter instabil.

Acidul acetic poate fi întâlnit atât în must (10÷12 mg/L), cât și în vin (250÷350 mg/L). Formarea sa în timpul fermentației alcoolice este posibilă pe două căi. Decarboxilarea oxidativă a acidului piruvic este prima cale, iar în cea de a doua, acesta este transformat în acid acetic și acid formic. Acidul acetic se poate forma plecând de la aldehida acetică, pe care o disociază în acid acetic și alcool etilic (Niculaua, 2010). Levurile au capacitatea de a produce cantități diferite din acest

acid, variabilă dependentă de gen și specie. Frecvent levurile apiculate au capacitatea de a produce cantități mai mari decât cele elipsoidale. Temperaturile ridicate și valorile scăzute ale pH-ului din timpul fermentației alcoolice stimulează formarea acidului acetic. Atunci când vinul este supus diferitelor boli specifice (oțetirea, băloșirea, manitarea, floarea vinului, înăcrirea lactică), se formează cantități mari de acid acetic (Cotea și colab., 2009).

Producția de acid acetic este semnificativ influențată de condițiile de fermentație. Astfel, conținutul în acid acetic atinge un nivel maxim când aproximativ jumătate din zaharuri sunt fermentate, urmând mai apoi ca conținutul acestuia să se diminueze (Țârdea și colab., 2010).

Conform Chidi și colab. (2015), nivelurile de acid acetic cresc rapid la începutul fermentației, urmând ca nivelul acestui compus să înregistreze scăderi importante atunci când fermentația are loc în condiții.

Literatura de specialitate menționează faptul că diferite cantități de acid acetic pot fi produse de diferite levuri: *Torulaspora delbrueckii* (*T. Delbrueckii*) și *Metschnikowia pulcherrima* pot produce cantități mici spre moderate, cele din genul *Candida Stellata* și *Pichia anomala*, pot produce cantități moderate până la mari, iar cantități foarte mari sunt produse de *Brettanomyces* și *Zygosaccharomyces bailii* (Ugliano și Henschke, 2009).

Tufariello și colab. (2021) au demonstrat, de asemenea, o producție mai scăzută de acid acetic în cazul *T. Delbrueckii* în fermentarea mixtă cu o tulpină *S. Cerevisiae*, comparativ cu vinurile fermentate doar cu specii pure de *S. cerevisiae*.

De asemenea, vinurile obținute cu ajutorul levurilor *Lachancea thermotolerans*, folosite secvențial cu *S. cerevisiae*, au înregistrat o creștere a conținutului acidității totale, pus pe seama capacității ridicate a acestora de a produce acid lactic, concomitent cu obținerea unor valori scăzute ale acidității volatile (Tufariello și colab., 2021).

Acidul acetic este principalul acid responsabil pentru mirosul și gustul acru de oțet al vinului. Producerea acestui compus are loc cu preponderență în timpul fermentației alcoolice, existând o relație directă între producția de glicerol și acid acetic în (Chidi și colab., 2018). Concentrația acestui compus este influențată de tulpina levuriană, nivelul zaharurilor din struguri, al pH-ului și de valoarea unor factori fizici precum temperatura (Chidi și colab., 2018). Potențialul genetic al tulpinilor levuriene manifestă un efect puternic asupra producției de acid acetic, acesta crescând rapid la începutul fermentației. Stresul fiziologic, echilibrul nutrienților, nivelul de inocul, stresul osmotic, aerarea și diversitatea populațiilor de specii de levuri din must de la începutul fermentației influențează, de asemenea, conținutul final în acid acetic (Ugliano și Henschke, 2009).

Pragul critic de detectare a acidului acetic în vin este estimat la aproximativ 600 mg/L. Cu toate acestea, nivelul normal de acid acetic dorit este de aproximativ

100 până la 300 mg/L (Ribéreau-Gayon și colab., 2006), putând atinge concentrații care rareori depășesc pragul de 700 mg/L în timpul fermentației alcoolice (Peinado și Mauricio, 2009).

pH-ul și temperatura mai ridicate (în special în combinație) conduc la producerea unor niveluri mai mari de acid acetic (Chidi și colab., 2018).

Acidul acetic este principalul component al aciditatea volatile a vinului, acesta putând reprezenta chiar 98-99%, (Waterhouse și colab., 2016). Acest parametru este influențat de tulpina levuriană, compoziția mediului, conținutul în vitamine, concentrația inițială de zahăr, condițiile de fermentare și variația temperaturii (Romano și colab., 2019; Millan și colab., 1991).

Acidul acetic și ceilalți acizi volatili au o puternică influență de întârziere a fermentației alcoolice. Anumite sușe de levuri sunt capabile să folosească acidul acetic, proporția acizilor volatili diminuându-se în timpul fermentației alcoolice în condiții de anaerobioză. Astfel acidul acetic adăugat este redus în acetaldehidă (Popa și colab., 2004).

În stare pură, el se prezintă ca un lichid incolor, care solidifică la 16,6 °C și fierbe la 118,2 °C, cu miros pătrunzător. Este miscibil cu apa și cu alcoolul etilic.

Conversia alcoolului etilic în acid acetic de către *Acetobacter* este diferită de celelalte mecanisme de fermentație. Formarea oțetului este un proces de oxidare și nu pot fi produse cantități mari de acid acetic decât dacă bacteriile au acces la cantități mari de aer.

Acidul succinic este format în timpul fermentației alcoolice. Producția de acid succinic este finalizată atunci când fermentația alcoolică este completă. Aroma acidului succinic este un amestec complex de gust acru, sărat și amar. Odată format, acidul succinic este foarte stabil și este rar afectat de acțiunea bacteriană. Concentrația acestui compus variază în funcție de soiul de struguri, fiind mai redusă la cele albe și semnificativ mai ridicate la strugurii roșii. Acidul succinic este responsabil pentru creșterea acidității titrabile în timpul fermentației alcoolice. Deși este relativ rezistent la utilizarea microbiană sub condiții fermentative, nu poate fi administrat în vederea ajustării acidității datorită gustului său amar-sărat și caracterului metalic (Chidi și colab., 2018). În vin apare ca produs secundar al fermentației, fie plecând de la acidul piruvic fie prin condensarea a două molecule de acetilcoenzimă A (Kontek, 1975), trecând de la acid piruvic → acid oxalilacetic → acid malic → acid fumaric → până la acid succinic. Acidul succinic mai poate apare prin dezaminarea și decarboxilarea acidului glutamic, ca și din acidul citric (Cotea și colab., 2009).

Unele tratamentele prefermentative pot determina o creștere a acidului succinic (Moroșanu, 2019).

Aciditatea totală și reală influențează supraviețuirea și creșterea tuturor microorganismelor; eficacitatea tratamentelor antioxidative, antimicrobiene, a

bentonitei și a adaosurilor enzimatic; solubilitatea proteinelor și a sărurilor tartrice; polimerizarea pigmentilor de culoare; reacțiile oxidative; percepția organoleptică (Romano și colab., 2019).

Fiecare dintre acești acizi are propriile sale atribute senzoriale, cu descriptori variind de la proaspăt la acru, până la metalic. Prin urmare, este important nu numai să se ia în considerare aciditatea totală, ci și contribuția fiecărui acid individual la profilul general acid al vinului (Chidi și colab., 2018).

Aciditatea contribuie în multe moduri directe și indirecte la calitatea vinului. Acizii pot avea atât efecte pozitive, cât și negative asupra aromelor, în funcție de concentrație și de tipul vinului. Astfel, aciditatea optimă conferă prospețime vinurilor și echilibrează balanța dintre zaharuri și aroma de vinuri-(Bakker și Clarke, 2012; Robles și colab., 2019). Atunci când este prezentă în cantități excesive, crește percepția amărăciunii și a senzației de acru, în timp ce o aciditate insuficientă duce la scăderea armoniei aromelor, vinurile devenind plate (Moreno-Arribas și colab., 2009).

CAPITOLUL II: STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRII PRIVIND CONȚINUTUL ÎN COMPUȘI VOLATILI ÎN TIMPUL PROCESULUI FERMENTATIV

CHAPTER II: PRESENT STATE OF RESEARCHES ON THE MAJOR VOLATILE COMPOUND DURING ALCOHOLIC FERMENTATION

Aromele sunt esențiale pentru caracterul fructat al vinurilor de înaltă calitate (Saerens și colab., 2010). Cunoașterea originii compușilor volatili din vin este importantă în determinarea potențialului de manipulare a acestora în timpul obținerii strugurilor și a vinurilor (Keyzers și Boss, 2010).

În vinificație, spre deosebire de alte procese de fermentare industriale, scopul nu este acela de a maximiza concentrația sau randamentul unui compus definit sau productivitatea procesului, ci mai degrabă, optimizarea calității produsului, extrem de dificil de cuantificat (Sablayrolles, 2019).

Majoritatea compușilor volatili se găsesc în alimente în concentrații foarte mici, de ordinul microgramelor. Totuși, mai mult de 2000 de compuși volatili pot fi identificați de sistemul olfactiv uman cu cei peste 400 de receptori senzoriali. În mod interesant, trăsăturile aromatice nu sunt esențiale pentru supraviețuirea celulară (Carrau și colab., 2017).

Un sondaj din 1969 a raportat faptul că vinul și alte băuturi alcoolice conțineau 400 de substanțe volatile, în timp ce o carte ulterioară din 1983 raporta peste 1300 de substanțe volatile. O analiză mai recentă a vinurilor folosind un sistem de spectrometrie de masă de ultimă generație a fost capabilă să detecteze zeci de mii de semnale chimice unice pe un set de vinuri și să atribuie formule chimice pentru aproape 9000 de componente (Waterhouse și colab., 2016).

Dintre cele peste 1000 de componente cunoscute care intră în alcătuirea vinului, asociate într-o manieră extrem de complexă și inconstantă, unele provin din struguri cum sunt, de exemplu, acidul tartric, malic, citric, glucidele, substanțele minerale, iar altele se formează în timpul fermentației alcoolice sau a altor procese fermentative ca, de exemplu, alcoolii, aldehide etc.; în fine, altă parte se formează prin procese nefermentative precum și pe baza reacțiilor care au loc fie între substanțele nou create, fie între cele deja existente, așa cum este cazul esterilor și acetalilor (Cotea și colab., 2009).

Cu siguranță, profilul aromatic este una dintre cele mai importante trăsături care contribuie la calitatea vinului. Ca în multe alimente, aroma vinului este compusă din sute de compuși diferiți, cu concentrații care pot varia între 10^{-1} și 10^{-10} mg/mL.

Echilibrul și interacțiunea tuturor acestora determină calitatea aromatică a vinului (Ciani și Comitini, 2019).

Fermentația alcoolică a mustului reprezintă o verigă decisivă a procesului de vinificație, fiind etapa de „naștere” a vinului; cele mai multe componente ale vinului fiind originare din această perioadă.

Varietatea nesfârșită de arome care provin dintr-un sistem complex și complet neliniar de interacțiuni dintre sute de substanțe constituie caracterul misterios al vinului. Aroma vinurilor se referă la impresia de ansamblu atât a aromelor, cât și a componentelor gustative. Aroma este de obicei asociată cu compușii volatili.

Formarea aromelor în timpul fermentației este în mod clar un proces dinamic care depinde de interacțiunile dintre multe variabile.

Evaluarea compușilor de aromă și a celor volatili prezenți în materia primă (strugurii), dar și rezultați în urma procesului fermentativ este importantă prin contribuția lor la caracterul vinului, imprimând un profil aromatic personal.

Aroma este una dintre cele mai apreciate trăsături în evaluarea calității vinului, iar dintre sutele de compuși volatili caracterizați, doar un număr mic influențează percepția senzorială. Acești compuși activi aromatici (de exemplu, terpene, esteri, alcooli) își au originea în struguri, din metabolismul microorganismelor (în special levurile *S. cerevisiae*) și în condițiile de maturare/învechire și depozitare a vinului (Pardo și colab., 2015). Substanțele aromate dau personalitate, tipicitate și autenticitate vinurilor fiind influențate de condițiile climatice, de tehnologia de vinificare și de procedeul de macerare.

Aroma vinului este una dintre principalele caracteristici care definesc diferențele dintre stilurile de vinuri produse în întreaga lume. Aroma vinului este o percepție senzorială care variază în funcție de individ, de experiența consumatorului și de compoziția chimică a produsului. În general, procentul cel mai mare din compoziția totală a aromelor vinului este reprezentat de compușii volatili derivați din fermentație.

Evaluarea compușilor de aromă și a celor volatili prezenți în materia primă (strugurii), dar și rezultați în urma procesului fermentativ este importantă prin contribuția lor la caracterul vinului, imprimând un profil aromatic personal.

Formarea aromelor începe din perioada în care se formează boabele (la intrarea în pârgă, în struguri avem arome sub formă de precursori glicozidici în cantități cuprinse între 250 și 500 mg/kg de boabe), continuând pe durata maturării strugurilor. Simultan cu supramaturarea strugurilor, o parte din arome se distrug pe măsura intensificării proceselor enzimatice oxidative din boabe. Compușii de aromă sunt localizați atât în hipoderma pielței, cât și, mai rar, în pulpa boabelor (Musteață și Furtuna, 2012).

Menținerea temperaturilor scăzute combinate cu un timp minim de macerare conduc la obținerea de vinuri proaspete și fructate, în timp ce temperaturile mai mari și timpul lung de maturare oferă un vin cu o culoare mai închisă și cu un caracter mai puțin fructat (Bakker și Clarke, 2012).

Vinul are o gamă foarte complexă de arome, dar paradoxal acestea se pot obține și din must sărac în compuși odoranți. Această transformare aromatică se datorează în principal acțiunii levurilor din timpul fermentației alcoolice. Inițial, levurile produc metaboliți secundari care conferă vinurilor caracteristica de bază a unui vin, cea de „vinos”. Ulterior, unele activități enzimactice pot transforma compușii neodoranți ai anumitor soiuri de struguri în arome varietale, dând caracteristicile specifice de soi. Concentrația substanțelor aromatice se formează în funcție de activitatea dar și sușa de levuri, care modifică percepția senzorială a vinului (Marullo și Dubourdieu, 2010).

Majoritatea compușilor aromatici sunt sintetizați pe parcursul fermentației alcoolice. Simultan cu transformarea zaharurilor din struguri în alcool și CO₂, în timpul fermentației alcoolice mai au loc diferite reacții secundare complexe, care sunt la fel de relevante în ceea ce privește compoziția finală a vinului (Chidi și colab., 2018), vinul având o matrice extrem de complexă (Heinisch și Rodicio, 2017).

Importanța deosebită a fiecărui compus asupra aromei finale depinde de corelația dintre compoziția chimică și pragurile de percepție.

În componența bachelor strugurelui găsim compușii responsabili de aroma varietală, având 3 componente distincte: pielița, mezocarp (pulpa) și semințe. Aceste componente diferă considerabil în compoziție și în consecință, contribuie diferit la compoziția generală a vinului. Din acest motiv, compoziția vinului poate fi manipulată prin managementul corect al vinificației primare: de regulă, vinurile obținute din struguri a căror boabe sunt mai mici au o proporție mai mare de compuși și derivați aromați proveniți din pielița și semințe (González-Barreiro și colab., 2013).

Fiecare soi are un potențial aromatic care este dat de existența a două categorii de arome:

- arome care se află în stare liberă, ele sunt odorante și direct accesibile atât mucoasei olfactive cât și căilor retronazale. Aici sunt incluse monoterpenele dintre care cele mai reprezentative sunt: linaloolul, geraniolul, nerolul și formele lor oxigenate, hotrienolul, citronerolul și α -terpineolul. Mai sunt cunoscute și pirazinele ce au miros puternic de verdeață ce se pot recunoaște la strugurii soiurilor nearomate (Sauvignon blanc sau Cabernet sauvignon).

- arome legate chimic de zaharuri, neodorante, ce nu pot fi percepute direct de mucoasa olfactivă. Compușii nevolatili sunt cunoscuți și sub numele de „precursori de arome” datorită faptului că au potențialul de a fi transformați în

compuși volatili, urmând să participe la aroma vinurilor. Aceștia alcătuiesc „aroma ascunsă”.

Soiurile se diferențiază între ele în funcție de proporția dintre aceste arome, (soiuri aromate și soiuri cu aromă neutră) (Furtuna și Musteață, 2010).

Fiecare bacă de strugure conține o combinație de compuși volatili liberi și legați, cu compoziții și concentrații chimice variate, care sunt în corelație cu soiul, contribuind la aroma și profilul final al vinului. Soiul oferă o variație a compoziției vinului, deoarece fondul genetic al boabelor influențează compușii prezenți în must. Cu toate acestea, vinurile obținute din același soi de struguri se pot distinge pe baza localizării geografice a podgoriilor, sugerând că schimbările din compoziția mustului, altele decât cele impuse de natura genetică a soiului, pot modifica proprietățile senzoriale ale vinului rezultat. Prin urmare, este clar că mulți factori, de exemplu, condițiile de mediu (cum ar fi căldură, lumină, apă și disponibilitatea nutrienților), lucrările din podgorie și timpul de recoltare contribuie la modificări ale compoziției strugurilor care pot influența ulterior compușii volatili din vinuri (Keyzers și Boss, 2010).

Pentru obținerea vinurilor albe fructate, este deosebit de important momentul culegerii strugurilor (dimineața devreme sau chiar noaptea), atunci când strugurii sunt reci. De asemenea, de preferință strugurii sunt păstrați reci și/sau zdrobiți cât mai rapid posibil, adesea cu o adăugare de dioxid de sulf (SO_2) (Bakker și Clarke, 2012).

În vin întâlnim trei tipuri de arome (fig. 2.1):

a) arome primare, denumite și arome varietale, adică cele care provin din struguri, formându-se în urma proceselor metabolice din plantă. Acestea sunt responsabile pentru tipicitatea aromei vinului (floral, tămâios, erbaceu, muscat);

b) arome secundare, cunoscute și sub numele de fermentație, acestea fiind datorate activității levurilor și bacteriilor. Ele conferă vinului caracterul de vinuozitate și note aromate specifice;

c) arome terțiare, adică cele care apar în timpul maturării sau învechirii vinului. Aceste arome apar ca urmare proceselor fizico-chimice de esterificare și oxidare care au loc în vin, contribuind la formarea buchetului vinului (Țârdea și colab., 2010; Bakker și Clarke, 2012).

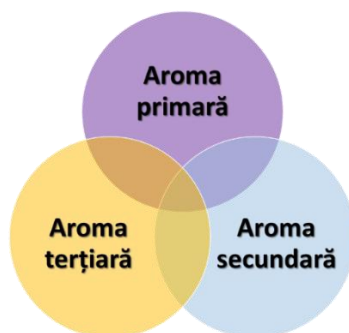


Figura 2.1 – Tipurile de arome întâlnite în vin

Figure 2.1 – Aromas in wine

(sursa/source: <https://media.winefolly.com/origin-of-wine-aromas-wine-folly.png>)

Deși unii compuși aromatici volatili apar direct din componentele chimice ale strugurilor, levurile, prin activitățile metabolice, eliberează sau modifică compușii obținuți din struguri, determinând formarea unor alte fracțiuni de substanțe aromate în vin.

Aromele din struguri determină tipicitatea soiurilor, în timp ce aromele de fermentație pot completa aromele varietale.

Fermentarea vinului este realizată de obicei printr-o evoluție complexă a microorganismelor care implică atât levuri cât și bacterii (Romano și colab., 2019), levurile selecționate fiind principalii factori care influențează aroma vinurilor.

Deși levurile de vin au fost cunoscute de mult timp, producția de vin a fost mai mult o artă decât o știință până acum aproximativ 70 de ani. Producția și utilizarea drojdiilor uscate active a început în Statele Unite ale Americii la mijlocul anilor 1960 și s-a extins apoi la nivel mondial (Krieger-Weber, 2017).

Pentru o perioadă lungă de timp, fermentația mustului s-a efectuat fără levuri selecționate, aceasta realizându-se pe cale spontană. După anul 1960, o dată cu răspândirea și folosirea levurilor uscate active (preparate comerciale aparținând *S. cerevisiae*) a avut loc unul dintre cele mai importante progrese tehnologice în vinificație. Ca rezultat direct, calitatea și cantitatea producției de vin au fost îmbunătățite, deoarece procesul de vinificație a devenit controlabil și cu un rezultat sigur, revoluționând astfel industria și piața vinului.

Este general acceptat faptul că compoziția strugurilor joacă un rol primordial în determinarea calității finale a vinului. Cu toate acestea, multe dintre caracteristicile senzoriale utilizate în mod normal pentru a evalua calitatea unui vin, inclusiv cele care sunt considerate tipice vinului obținut dintr-un soi specific, nu pot fi detectate în struguri (Ugliano, 2009).

Începând cu recoltarea strugurilor, pe parcursul procesului de vinificare și până la îmbuteliere, microorganismele sunt prezente și intervin pe tot fluxul tehnologic într-o măsură însemnată, adesea chiar decisivă. Intervenția acestora, după

condiții și felul microorganismelor poate avea un caracter pozitiv sau negativ (Popa și colab., 2004).

Dintre acestea, levurile sunt cele mai importante, deoarece prin metabolismul lor influențează în mod direct compoziția vinului rezultat (Croitoru, 2009), astfel vinurile pot avea diferite profile de aromă (fig. 2.2).

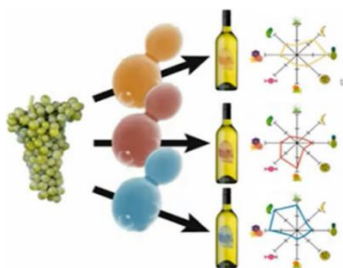


Figura 2.2 – Influența levurilor asupra profilului aromatic al vinului

Figure 2.2 – Yeast modulates wine aroma

(sursa/source: <https://www.aeb-group.com/en/aeb-academy>)

Profilul aromatic al vinului este rezultatul unui număr aproape infinit de variații în producție, fie din podgorie, fie din cramă. Vinificatorul utilizează o varietate de tehnici și instrumente pentru a produce vinuri cu profiluri aromatice specifice. Unul dintre aceste instrumente este alegerea microorganismelor care influențează fermentația. În timpul fermentației alcoolice, levurile *S. cerevisiae* aduc cele mai importante schimbări: modificarea aromelor, a corpului, a culorii și a complexității chimice (Swiegers și colab., 2005).

Aroma este formată în timpul fermentației de către levuri, iar formarea compușilor dominanți care apar în băuturi depind mai mult de levurile alese decât de materiile prime utilizate (Cordente și colab., 2012). Impactul levurilor asupra aromei vinului este determinat în mare măsură de o serie de substanțe volatile (de exemplu, alcooli superiori, acizi, esteri, tioli, fenoli) produse din metabolismul microorganismelor.

Levurile *Saccharomyces* produc un spectru larg de compuși care au un impact semnificativ asupra calității vinului (Sipiczki, 2019).

Fermentarea vinului este un proces biotehnologic complex în care levurile joacă un rol esențial. Deși *S. cerevisiae* este principalul microorganism implicat în timpul transformării mustului în vin, multe alte specii de levuri apar în timpul fermentării mustului, participând activ la acest proces. În zilele noastre, culturile inițiale selectate de *S. cerevisiae* sunt de obicei adăugate de către oenologi pentru a controla procesul fermentativ și pentru a obține caractere oenologice specifice dorite (fermentații inoculate). Scopul este acela de a domina levurile indigene aparținând mediului oenologic, instalațiilor vinicole și echipamentelor cramei. S-a demonstrat că populația microbială este un consorțiu multi-cuprinzător care cuprinde ciuperci

filamentoase, levuri și bacterii cu caracteristici fiziologice diferite, având impact diferit asupra metabolomului strugurilor și a calității finale a vinului. Compoziția microbiotei din struguri poate fi influențată, în complexitate și frecvență, de diverși factori abiotici sau biotici, incluzând condițiile climatice, de temperatură, expunere la ultraviolet (UV), precipitațiile, lumina soarelui și vânturile, maturitatea sau varietatea de struguri și interacțiunea în cadrul tulpinilor care au co-habitat.

S. cerevisiae este principala levură utilizată în vinificație datorită capacității sale de fermentare ridicate. Mai mult de 200 de levuri diferite de *S. cerevisiae* sunt disponibile în prezent în comerț (Sablayrolles, 2019), oferind industriei vinului o diversitate biologică semnificativă (Krieger-Weber, 2017).

Utilizarea *S. cerevisiae* comerciale pentru fermentarea vinului este o practică enologică folosită pe scară largă. Fermentarea pură cu *S. cerevisiae* prezintă avantaje în ceea ce privește ușurința controlului și omogenitatea produselor în timpul vinificației (Wen-Ke și colab., 2019), acestea fiind capabile să fermenteze complet musturile naturale bogate în zahăr spre deosebire de alte levuri. Mai mult decât atât, ele sunt foarte bine adaptate la condițiile dure de fermentație, caracterizate prin: conținut ridicat de zaharuri, conținut ridicat de alcool, pH scăzut, prezența sulfurilor, a cuprului, a cantităților de azot, a anaerobiozei și a altor condiții de stres, fiind o levură de vin de excelență (Mendes-Ferreira și colab., 2017).

Complexitatea caracteristică și a aroma vinurilor provenite din musturile însămânțate cu *S. cerevisiae* este slabă în comparație cu fermentația spontană. În timpul fermentației spontane, diferite levuri indigene non-*Saccharomyces* co-există în must și contribuie la aroma vinului și la distincția aromatică, dar acestea pot provoca chiar deteriorarea vinului. În zilele noastre, co-fermentarea unor levuri non-*Saccharomyces* selecționate cu *S. cerevisiae* este din ce în ce mai mult acceptată pentru a evita neajunsurile fermentației pure și a fermentației spontane (Wen-Ke și colab., 2019).

Este bine stabilit că, împreună cu *S. cerevisiae*, speciile non-*Saccharomyces* participă activ în timpul fermentației alcoolice, contribuind la percepția senzorială a vinului, acestea fiind recent reevaluate pozitiv (Romano și colab., 2019).

Vinurile care sunt produse prin aerarea fermentațiilor mixte (*S. cerevisiae* și *H. vineae*) au cantități mai mari de glicerol, acid lactic și esteri acetati și niveluri mai scăzute de etanol, alcoolii superiori și esteri ai acizilor grași etilici. În raport cu inocularea simplă mixtă, aerarea are un potențial mai mare de a influența calitatea vinurilor și de a diversifica caracteristicile aromatice (Yan și colab., 2020).

Provocările survenite din cauza schimbărilor climatice; a noilor reglementări din partea autorităților europene și internaționale: Organizația Internațională a Viei și Vinului (OIV), Uniunea Europeană (UE), Organizația Mondială a Sănătății (WHO), Codex Alimentarius; regulamentele privind producția de vinuri organice, biodinamice; cererile de sustenabilitate; protecția mediului; și nu în ultimul rând,

cerințele consumatorilor, au stimulat dezvoltarea unei game de produse enologice noi, care să servească nevoile și să ajute industria vinicolă să producă vinuri sigure și de bună calitate, cu mai puțin SO₂ sau cu un conținut mai scăzut de alcool și o aciditate echilibrată (Krieger-Weber, 2017).

Rolul principal al levurilor în bioconversia mustului în vin este bine stabilit, chiar dacă alte microorganisme pot afecta compoziția produsului final (Romano și colab., 2019).

De-a lungul anilor, s-au făcut progrese majore în înțelegerea biochimiei, ecologiei, fiziologiei și biologiei moleculare a diferitelor levuri implicate în producția de vin și modul în care aceste levuri afectează chimia vinului și proprietățile senzoriale ale vinului. Cu toate acestea, multe aspecte importante ale impactului levurilor asupra parametrilor senzoriali specifici pentru vin rămân puțin înțelese. Unul dintre aceste domenii de cunoaștere restrânsă, este contribuția levurilor la profilul acizilor organici ai vinurilor (Chidi și colab., 2018).

Levurile produc factori inhibitori împotriva bacteriilor acidului lactic în timpul fermentației alcoolice, cum ar fi alcoolul, SO₂, acizii grași cu lanț mediu, care pot afecta fermentația malolactică. Efectele acestora sunt dependente de tip și concentrație. De exemplu, prezența acizilor decanoici și dodecanoici la niveluri scăzute (respectiv, 12,5 și 2,5 mg/L) stimulează activitatea malolactică, în timp ce valori ridicate au efect invers (Guzzo și colab., 2017).

Levurile prezintă diferențe în cinetica lor de fermentare, în multe cazuri observându-se diferențe semnificative în producția de acizi organici (Chidi și colab., 2015).

Nivelurile diferitelor tipuri de levuri variază considerabil, în funcție de practicile din cramă și de utilizarea agenților antimicrobieni. Diversitatea genetică, variabilitatea parametrilor de creștere a mediului înconjurător, apariția simultană a factorilor de stres și interacțiunea acestor trei factori afectează în mare măsură potențialul genetic al levurilor (Bisson, 2019). Cinetica fermentării, adică rata consumului de zahăr și producția de alcool și CO₂, depinde de interacțiunile dintre levuri, disponibilitatea nutrienților din must și parametrii care controlează fermentația (de exemplu, temperatura) (Sablayrolles, 2019). Zara și Mannazzu în 2019 afirmă faptul că, inclusiv calitatea strugurilor, tehnologia vinificației, proprietățile și performanțele microorganismelor care participă la fermentarea mustului prezintă un rol cheie în producerea unui vin bun. Se poate dezbate care dintre acești factori este cel critic pentru producția de vin, și probabil, toți aceștia sunt la fel de importanți. Într-adevăr, pe lângă strugurii sănătoși și o vinificație iscusită, alegerea levurii este esențială pentru succesul fermentării (Zara și Mannazzu, 2019).

Principalele obiective ale controlului fermentației alcoolice și-au redirecționat atenția de la scopuri tehnologice la probleme legate de calitate. Efectul levurii asupra calității vinului, în special a producției de aromă, a fost evidențiată de

mulți autori, dar gestionarea fermentației, în special adăugarea de substanțe nutritive și controlul temperaturii, reprezintă, de asemenea, o modalitate puternică de a influența caracteristicile vinului (Sablayrolles, 2019).

Levurile contribuie pozitiv la sinteza aromelor prin mai multe mecanisme:

(I) producția independentă a unor noi clase de metaboliți (de exemplu, de novo: esteri, alcoolii superiori, acizi grași),

(II) biotransformarea constituenților mustului în componente care influențează aroma (de exemplu, tioli),

(III) producerea de enzime care transformă compușii neutri ai strugurilor în compuși activi de aromă (Sablayrolles, 2019).

Principalele clase de compuși aromatici derivați din metabolismul levurilor sunt acizii organici, alcoolii superiori, esterii și într-o măsură mai mică aldehidele (Aranda și colab., 2011).

Profilul aromatic al vinurilor albe realizat cu levuri din genul *Saccharomyces* poate fi clasificat în două grupe: unul fructat și unul unde caracterul varietal este îmbunătățit. Grupul fructat poate fi împărțit la rândul său în puternic și slab producători de esteri, ultimul grup făcând referire uneori la levuri neutre. Această clasificare se bazează pe percepția senzorială de către vinificatorii din întreaga lume, fiind făcută pe durata mai multor decenii de vinificație (Ugliano și Henschke, 2009).

Perspectivile de a obține levuri de vin industriale superioare sunt extrem de luminoase. Investigațiile recente au oferit dovezi convingătoare că problemele de fermentație pot fi depășite atunci când fermentațiile sunt efectuate succesiv cu *S. bayanus* și hibridul triplu *S. cerevisiae* × *Saccharomyces kudriavzevii* × *Saccharomyces bayanus* (Romano și colab., 2019).

Levurile și condițiile de fermentare sunt considerate a fi cei mai importanți factori care influențează aromele din vin. Atât fermentațiile spontane, cât și cele inoculate sunt impactate de diversitatea levurilor, în corelație cu caracteristicile podgoriei și cramei.

Taxonomiile actuale recunosc 100 de genuri cuprinzând mai mult de 700 de specii de levuri (Kurtzman și Fell, 1998), dintre care mai relevante pentru vinificație sunt: *Brettanomyces* și echivalentul său *Dekkera*; *Candida*; *Citeromyces*; *Cryptococcus*; *Debaryomyces*; *Hanseniaspora* și omologul său asexual *Kloeckera*; *Issatchenkia*; *Lodderomyces*; *Kluyveromyces*; *Metschnikowia*; *Pichia*; *Rhodotorula*; *Saccharomyces*; *Sacharomycodes*; *Schizosaccharomyces*; *Torulaspora*; *Zygoascus*; și *Zygosaccharomyces*. În ciuda creșterii izbitoare a numărului de specii de levuri descrise în ultimii 50 de ani, se acceptă, în general, că bogăția biodiversității levuriene cu potențial oenologic ascuns este încă în mare măsură neexploată (Lambrechts și Pretorius, 2000).

În ultimii ani, un număr din ce în ce mai mare de cercetări au fost întreprinse pentru a vedea contribuția mai multor genuri și specii de levuri non-*Saccharomyces*. Numeroasele rezultate ale acestor studii constau în faptul că biosinteza unor compuși, cum ar fi alcoolii, esteri, acizii sau aldehidele, sunt puternic dependente de specii, iar impactul pozitiv sau negativ al acestora asupra aromei vinului este influențat de concentrațiile lor (Tufariello și colab., 2021). Acestea, față de levurile din genul *Saccharomyces*, prezintă noi funcții: creșterea complexității aromatice, producerea de glicerol, tioli, esteri, acizi organici, reducerea conținutului de etanol. Mai jos sunt prezentate câteva levuri non-*Saccharomyces* pentru proprietățile lor mai distinctive:

- *T. delbrueckii* este una dintre cele mai investigate levuri non-*Saccharomyces*, în ceea ce privește toleranța sa relativ mai mare la alcool 9÷10% vol. alc. În condiții de co-inoculare, sau inoculare mixtă s-au observat creșteri semnificative de aromă, datorată creșterii mai multor esteri și a unor alcoolii, intensificând caracterul fructat, floral și dulce al vinurilor. Concentrații mai reduse în acizi volatili au fost înregistrate în condițiile de mai sus menționate (Tufariello și colab., 2021).

T. delbrueckii este o specie frecvent întâlnită pe suprafața strugurilor, fiind una dintre cele mai studiate specii pentru a crește complexitatea aromelor în băuturile alcoolice (Ciani și Comitini, 2019).

T. delbrueckii are un impact asupra compoziției aromatice și a atributelor senzoriale ale vinurilor atât în fermentație simultană, cât și secvențială printr-o creștere semnificativă a compușilor de aromă, datorată creșterii concentrației mai multor esteri și a unor alcoolii, intensificând caracterul fructat, floral și dulce al vinurilor (Tufariello și colab., 2021).

Contribuie pozitiv la complexitatea senzorială a vinului, limitând în același timp producția acidității volatile și reducerea senzațiilor de astringență datorită eliberării polizaharidelor (AEB France, 2021).

- *Hanseniaspora spp.* este un gen care a fost studiat pe scară largă în ultimii ani datorită faptului că mai multe specii au capacitatea de a îmbunătăți complexitatea aromatică a vinurilor în inocul mixt cu *S. cerevisiae*. Dintre proprietățile mai interesante amintim: capacitatea lor de a se dezvolta la o concentrație ridicată de zaharuri, alcool și SO₂; pentru capacitatea lor de a elibera enzime proteolitice, fiind considerată un bun producător de esteri acetați. Levurile *Hanseniaspora (H.) uvarum* se caracterizează prin activități enzimactice importante, cum ar fi β-glucozidaza, lipaza și proteaza, toate capabile să contribuie la îmbunătățirea calității senzoriale a vinului. În culturi mixte, cu *S. cerevisiae*, conduce la reducerea concentrației în acid acetic, rezultând cantități chiar mai mici decât în cultura pură de *S. cerevisiae*. *H. uvarum* poate fi o levură demnă de luat în calcul în condițiile încălzirii globale

deoarece necesită mai mult de 19 g/L de zahăr pentru a produce 1% vol. alc. (Tufariello și colab., 2021).

- *Lachancea thermotolerans* este prezentă în mod natural pe struguri, fiind cunoscută pentru capacitatea sa de a produce vinuri cu o aciditate volatilă scăzută. Această levură produce acid lactic, în acest fel evitându-se adăugarea de acizi tartric, necesar uneori pentru corecția vinurilor (Tufariello și colab., 2021). Această specie contribuie la creșterea acidității totale și la scăderea concentrației alcoolice (AEB France, 2021).

- *Metschnikowia pulcherrima* este o levură non-*Saccharomyces*, care prezintă activități enzimactice importante, cum ar fi pectinaza, proteaza, glucanaza, β -glucosidaza, xilanaza, amilaza, sulfitreductaza, lipaza și β -liaza, fiind un partener excelent al *S. cerevisiae* în realizarea culturilor mixte. Contribuie de asemenea la eliberarea tiolilor volatili în vinuri, având un impact pozitiv asupra producției de esteri (Tufariello și colab., 2021).

- *Candida zemplinina*, o levură non-*Saccharomyces*, deține caracteristici oenologice importante: capacitatea de a activa în musturi foarte dulci, de a tolera nivelurile ridicate de alcool și de a produce cantități însemnate de glicerol. Are calitatea de a produce vinuri cu concentrații reduse de alcool prin producerea de metaboliți secundari, în principal glicerol și acid piruvic (Tufariello și colab., 2021). *Candida* este o specie care are o capacitate mai mare de producere a acetaților de etil decât levurile *S. cerevisiae* (Manzanares și colab., 2011).

- *Pichia spp.*, inocularea speciilor genului *Pichia* împreună cu *S. cerevisiae* produce niveluri ridicate de tioli varietali și de alți compuși volatili, incluzând acetaldehida, acetat de etil, 1-propanol, 1-hexanol, n-butanol, 2,3-butandiol. În plus, vinurile produse prin fermentații cu *Pichia spp.* prezintă cantități mari de polizaharide, ce îmbunătățesc proprietățile senzoriale ale vinului (Tufariello și colab., 2021). *Pichia* este o specie cunoscută prin capacitatea sa mai mare de producere a acetaților de etil decât levurile *S. cerevisiae* (Manzanares și colab., 2011).

- *Hansenula* este cunoscută ca fiind cea mai producătoare de esteri (Musteață și Furtuna, 2012).

Buna desfășurare a proceselor metabolice, de creștere și reproducere a microorganismelor este determinată în primul rând de existența unor condiții generale favorabile ale mediului, cât și de disponibilitățile pentru satisfacerea nevoilor de nutriție. Realizarea și dirijarea desfășurării proceselor vitale ale levurilor în sensul dorit, implică, o cunoaștere a factorilor care stimulează sau inhibă activitatea acestor microorganisme.

Dintre acești factori amintim (Popa și colab, 2004):

1) *Condițiile generale de mediu*

Dezvoltarea levurilor, ca și a oricărui organism este condiționată de mediul în care trebuie să trăiască. În general levurile sunt sensibile la condițiile de temperatură și aerare, totuși o serie de factori pot interveni, având o deosebită importanță (lumina, pH-ul, proporția de apă)

a) Temperatura optimă de dezvoltare, unde procesele vitale se petrec cu maxim de intensitate, este definită convențional ca temperatura la care multiplicarea celulelor se face cel mai intens. Totuși, această valoare termică nu coincide cu cea a temperaturilor optime pentru alte activități fiziologice ale celulei, așa încât în mod absolut nu se poate vorbi despre o temperatură optimă pentru fiecare dintre activitățile ei biologice. Temperatura optimă de multiplicare a levurilor prin înmugurire este cuprinsă între 22-30 °C, în timp ce numărul cel mai mare de celule se acumulează la temperaturi de 10-15 °C. Temperaturile scăzute favorizează creșterea producției de compuși volatili (esteri, acetati, acizi grași cu lanț mediu) de către levuri în timpul fermentației alcoolice, ducând la pierderi mai mici cauzate de evaporare (Sablayrolles, 2019).

b) Aerul (oxigenul) – gradul de preferință al levurilor pentru oxigen (O_2) măsurat prin numărul de mL O_2 consumat sau de CO_2 produs pentru un mg greutate uscată levuri/oră, este diferit de la o specie la alta, oxigenul având un rol hotărâtor pentru înmulțirea levurilor. În procesul de vinificare, desfășurarea fermentației în absența totală a aerului duce la obținerea unor cantități însemnate de zaharuri nefermentate (25-30 g/L). Efectul cel mai puternic al oxigenului se realizează printr-o aerare cât mai fină în stare de mișcare, cu aplicare la primele 2-3 zile;

c) Apa – conținutul în apă al microorganismelor este o condiție de bază pentru activitatea celulară, în formă vegetativă, levurile conțin în medie 75% apă;

d) Presiunea osmotică – levurile se dezvoltă bine atunci când mediul are o presiune osmotică cât mai apropiată de cea din interiorul celulelor (mediu izotonic);

e) Lumina – influența negativă nu o are numai când intervine direct asupra microorganismului ci și indirect asupra mediului de cultură în care se află aceasta;

f) Concentrația în ioni de hidrogen a mediului (pH-ul);

g) Suprafața internă a produsului supus fermentării – toate suspensiile aflate în masa unui lichid provoacă o degajare mai rapidă a CO_2 , astfel musturile tulburi fermentează mai rapid și mai complet decât cele limpeze;

h) Etanolul – sfârșitul activității fermentative este determinat în mare măsură de o creștere sensibilă a etanolului în mediu, acesta influențând prin perturbarea permeabilității membranei citoplasmice și diminuarea selectivității;

i) Inhibitori exogeni (pesticidele) pot să conducă în mod nefavorabil la mirosuri neplăcute, de tipul celor sulfurate, putând chiar afecta fluiditatea

membranei plasmatică a celulei de *S. cerevisiae*, făcând-o mai sensibilă la acțiunea etanolului (Popa și colab, 2004);

j) Inhibitori endogeni (alcoolii superiori, acetaldehida, acizii grași și gazul carbonic) influențează metabolismul celulelor;

2) *Nutriția levurilor*, complexul de procese biochimice implicate în activitatea vitală a levurii și care constituie în totalitatea lor metabolismul celular, cuprind două categorii de reacții biochimice: unele prin care degradarea substanțelor nutritive din mediu eliberează diverși compuși și altele prin care își sintetizează constituenții celulari proprii și consumă; primele, exotermice, corespund dezasimilării (catabolismului), celelalte endotermice, corespund asimilării (anabolismului):

a) Nutriția carbonată. Celula de levură are nevoie de cantități importante de substanțe carbonatate care îi sunt necesare atât ca aliment, cât mai ales ca element energetic. Glucoza și fructoza reprezintă principala sursă de carbon și energie pentru fermentație (Jackson, 2020);

b) Nutriția azotată. Levurile sunt capabile să utilizeze ca principal aliment, atât compușii azotați anorganici cât și cei organici. Consumul de substanțe azotoase de către levuri este influențată puternic de gradul de aerare al mustului, putând fi de două ori mai mare în aerobioză decât în anaerobioză (Popa și colab, 2004);

c) Nutriția cu sulf. Formarea SO_2 și a hidrogenului sulfurat (H_2S) în cursul fermentației. Aprovizionarea celulei cu grupări $-\text{SH}$ și $-\text{S}-\text{S}$ este importantă: pentru constituirea aminoacizilor sulfurați (cisteina, metionina), a unor enzime de mare importanță (carboxilaza și coenzima A) și pentru biosinteza unor compuși celulari (glutathionul);

d) Nevoia de substanțe minerale. Elementele minerale au diferite roluri fiziologice și catalitice;

e) Nevoia de substanțe de creștere. Sunt substanțe organice, cel mai adesea vitaminele;

3) *Factori de stimulare a fermentației*. Nevoile pentru factorii de creștere ale diferitelor levuri pot antrena faze de simbioză sau de antagonism:

- a) Stimularea prin acetaldehidă și acid piruvic;
- b) Activarea prin extracte concentrate de levuri;
- c) Stimularea prin produse de origine fungică;
- d) Activarea fermentației de către pruina strugurilor.

4) *Factori de inhibiție ai levurilor*. Activitatea normală a levurilor poate fi stânjenită de numeroși factori fizici, chimici sau biologici:

a) Concentrația zaharurilor. La câteva g/L zaharuri, fermentația se desfășoară lent, sporește până la 15-30 g/L, mai departe viteza rămâne constantă până la 250 g/L. Nivelul optim de zaharuri pentru producția de alcool este de 280 g/L, mărirea în continuare a concentrației de zaharuri începe să încetinească tot mai mult mersul fermentației alcoolice (Popa și colab, 2004);

b) Substanțele polifenolice. Substanțele tanante încep să exercite o influență inhibitoare asupra levurilor, pe măsură ce conținutul în alcool al mustului crește în fermentare. Efectul inhibitor este determinat de fixarea acestor substanțe în exces pe membrana celulară, împiedicând schimburile osmotice;

c) Anhidrida carbonică. CO_2 nu are nici o influență asupra activității levurilor, atât timp cât el se degajă liber în masa mustului de fermentare;

d) Alcoolul etilic și ceilalți alcooli. Concentrația alcoolică întârzie sau chiar inhibă activitatea levurilor până la stopare completă, dacă conținutul sporește în continuare;

e) Acidul acetic exercită o inhibiție asupra înmulțirii levurilor. Toxicitatea acidului acetic devine tot mai accentuată odată cu creșterea temperaturii;

f) Fierul. Influența inhibitoare a excesului de săruri de fier este indusă cel mult în limitele unei întârzieri a declanșării fermentației alcoolice;

g) Inhibitori naturali, mustul provenit din strugurii pe care s-a dezvoltat mucegaiul *Botrytis cinerea* prezintă o fermentare lentă și greoaie;

h) Antagonism și izoantagonism. Antagonismul este un fenomen de antibioză în care microorganismele se stânjenesc între ele. Izoantagonismul este de asemenea un fenomen de antibioză, unde substanțele produse devin toxice pentru celulele proprii (Popa și colab, 2004);

i) Substanțe antimicrobiene. Întreținerea unei stări generale de curățenie perfecte din punct de vedere microbiologic (a încăperilor, mașinilor, utilajelor, a recipientelor) se realizează numai prin folosirea unor substanțe antimicrobiene potrivite;

j) Vibrațiile mecanice și ultrasunetele. Prin orice mediu material, solid, lichid sau gazos se pot transmite vibrații mecanice. Vibrațiile ultrasonore pot provoca diferite efecte: efecte termice, optice, fizico-chimice, biologice și fizico-mecanice;

k) Radiațiile electromagnetice. Aici trebuie luat în calcul influența directă asupra celulei, cât și influența indirectă asupra mediului de cultură în care se află celulele.

2.1. Studii privind acizii volatili din vinuri

Cel mai important factor în vinificație este calitatea senzorială a produsului. Buchetul vinului este determinat de prezența unor compuși într-un raport echilibrat și de absența celor nedoriți.

Acizii volatili conferă vinului fructuozitate și prospețime, iar alături de alcooli sunt factori principali de conservare a vinului (Țârdea și colab., 2010). Acizii carboxilici prezenți în vin, în concentrații mai mici decât cele ale pragurilor lor de detecție, pot spori intensitatea altor arome (Cometto-Muñiz și Abraham, 2010).

Chiar dacă acizii grași sunt caracterizați în general de note neplăcute, pragul de percepție al compușilor din această familie este atins doar de câțiva dintre ei. Pe de altă parte, aroma acizilor este esențială la realizarea echilibrului aromatic al vinurilor (Vilanova și Oliveira, 2012).

Acizii volatili sunt produși de levuri și bacterii prin metabolismul acizilor grași (Wang și colab., 2018).

Controlul parametrilor tehnologici (epuizarea zahărului, durata fermentației și cantitatea de energie necesară pentru reglarea temperaturii fermentației) este o condiție necesară generală pentru gestionarea caracteristicilor vinului. Constrângerile legale sunt, de asemenea, responsabile pentru anumite aspecte ale controlului fermentației în timpul vinificației. Anumite practici tradiționale au o importanță istorică și culturală deosebită, în special în contextul D.O.C. (Denumire de origine controlată), în care au fost stabilite reglementări pentru păstrarea acestor practici și este posibilă doar o listă limitată și predefinită de operațiuni. Cu toate acestea, această listă se schimbă rapid pentru a permite vinificatorilor să se adapteze noilor piețe ale vinului și a așteptărilor consumatorilor.

Acidul acetic este cel mai important acid organic prezent în vin. Deși cantitatea de acizi organici din vin este mică, aceștia sunt suficient de volatili pentru a contribui la aroma vinului. Alți acizi organici, cum ar fi acidul propanoic, butanoic și lactic sunt de obicei sub pragul de percepție.

Fermentația alcoolică a mustului reprezintă o verigă decisivă a procesului de vinificație, fiind etapa de „naștere” a vinului; cele mai multe componente ale vinului fiind metabolizate în această perioadă.

2.2. Studii privind alcoolii din vinuri

Alcoolii reprezintă o clasă de compuși organici ce au în structura lor, fie una, fie mai multe grupe hidroxil. Alcoolii simpli conțin o singură grupare hidroxil, în timp ce diolii și poliolii conțin două sau mai multe grupări hidroxil. Alcoolii superiori includ alcoolii alifatici și aromatici, fiind cantitativ cel mai mare grup de compuși aromatici din multe băuturi alcoolice (Romano și colab., 2019).

Alcoolii superiori joacă un rol indirect în dezvoltarea unui buchet de vin învechit, ei fiind produși de levuri în timpul fermentației alcoolice.

Folosirea unor levuri diferite în timpul fermentației alcoolice contribuie considerabil la variații ale profilelor alcoolilor superiori și ale concentrațiilor din vin (Maksimović și Maksimović, 2017). Alcoolii superiori pot avea o influență semnificativă asupra calității și caracterului senzorial al vinului (Capece și Romano, 2019), fiind considerați contributory semnificativi la aroma complexă a vinurilor (Bakker și Clarke 2012).

Alcoolii superiori pot avea atât efecte pozitive, cât și negative asupra aromei vinului. La concentrații sub 300 mg/L introduc o complexitate plăcută (Bell și Henschke, 2005) fiind considerați compuși favorabili (Maksimović și Maksimović, 2017). Atunci când nivelurile sunt optime, aceștia conferă caractere fructate (Capece și Romano, 2019), iar la valori peste 400 mg/L, alcoolii superiori au un efect negativ asupra calității vinului (Bell și Henschke, 2005) deoarece pot masca fructozitatea vinului (Bakker și Clarke 2012).

Cu toate acestea, alcoolii superiori sunt prezenți în vinuri, de obicei la concentrații sub valorile de detectare și nu afectează în mod nefavorabil gustul vinului, ci mai degrabă, în unele cazuri, pot contribui chiar la calitatea vinului.

Funcția fiziologică a producției de alcoolii superiori de către levuri este neclară (Capece și Romano, 2019).

Toxicitatea etanolului crește odată cu temperatura, temperaturile mai ridicate ducând la evaporarea etanolului și a altor compuși volatili care sunt esențiali pentru proprietățile senzoriale ale vinului (Torija și colab., 2003; Aranda și colab., 2011), în special în cazul vinurilor albe. Temperaturile excesiv de scăzute nu sunt, de asemenea, recomandate, deoarece acestea pot provoca oprirea fermentației atunci când fluiditatea membranei levurii începe să fie afectată (Torija și colab., 2003).

Fermentația alcoolică este asociată cu sinteza unei clase variate de compuși, numiți și metaboliți secundari, precum diferiți alcoolii, esterii, acizii organici, acizii grași, aldehide, cetone, lactone și terpene. Acești compuși determină aroma caracteristică a oricărei băuturi alcoolice. Concentrația totală a substanțelor aromatice în vin este de aproximativ 0,8-1 g/L, astfel de metaboliți fiind sintetizați în principal în faza exponențială a creșterii levurilor (Rupasinghe și colab., 2017).

Alcoolii superiori fac parte din componenta aromei secundare a vinurilor, producerea lor fiind legată direct de metabolismul azotului (ciclul azotului) care implică două căi complexe: catabolismul aminoacizilor (prin calea Ehrlich) și anabolismul aminoacizilor din glucide (Bell și Henschke, 2005). Proporțiile sunt variabile, aproximativ 25 și 75%, având în vedere că ele variază în funcție de rata de azot asimilabil și conținutul de glucide fermentescibile ale mustului (Furtuna, 2015).

Producerea acestor alcoolii variază într-un mod considerabil în funcție de levuri (Furtuna, 2015; Rupasinghe și colab., 2017; Jackson, 2020). Obținerea unor cantități mai mari de alcoolii este favorizată de o serie de factori dintre care amintim: aerarea corespunzătoare a mustului (mai abundentă), pH-ul mai ridicat, renunțarea

la operațiunea de deburbare a mustului și prezența unor cantități ridicate de azot asimilabil (Musteață și Furtuna, 2012). Musturile sulfitate mai energic cât și o macerație pe boștină mai îndelungată favorizează de asemenea formarea alcoolilor superiori (Țârdea și colab., 2010). Printre factorii care concură la producerea alcoolilor superiori mai amintim: compoziția aminoacizilor (Rupasinghe și colab., 2017), compoziția chimică a strugurilor (Furtuna, 2015), temperatura de fermentare, fermentarea în cisterne sub presiune (Jackson, 2020), concentrația de etanol, soiul de struguri, maturitatea, timpul de contact cu pielea (Capece și Romano, 2019), conținutul în ioni de amoniu (Yan și colab., 2020).

Este greu de stabilit o corelație între concentrațiile de aminoacizi și cea a alcoolilor superiori, deoarece producția de alcooli poate continua chiar și atunci când levurile nu mai primesc nutriție azotată (Popa și colab., 2004).

Alcoolii superiori, cunoscuți și sub numele de alcooli fuzel, includ alcoolii alifatici și aromatici, fiind din punct de vedere cantitativ, cel mai mare grup de compuși aromatici din multe băuturi alcoolice. Principalii alcooli alifatici includ propanolul, alcoolul izoamilic, izobutanolul și alcoolul amilic, în timp ce tirosolul și 2-feniletanolul sunt principalii alcooli aromatici.

În timpul fermentației alcoolice, *S. cerevisiae* produce cantități de alcooli superiori care pot avea un efect semnificativ asupra calității senzoriale și caracterului vinului (Capece și Romano, 2019). Fermentațiile mixte generează cantități mai mari de alcooli superiori (în special alcoolii 3-metil-butan-1-ol și alcoolul 2-feniletanol) comparativ cu fermentațiile pure (149,4 respectiv 94 mg/L). Spre deosebire de acestea, la vinurile fermentate spontan, alcoolii superiori se formează în proporții mai mari decât la vinurile fermentate cu levuri pure (Popa și colab., 2004). Astfel *Metschnikowia pulcherrima* are o producție deosebit de mare de 2-feniletanol (Ugliano și Henschke, 2009).

În musturile fermentate de culturi pure de levuri non-*Saccharomyces*, producția totală de alcooli superiori este mai mică decât în cele fermentate cu *S. cerevisiae* (Manzanares și colab., 2011).

Efectul gradului de coacere al strugurilor, al conținutului de azot și al temperaturii este diferit în funcție de compușii chimici. De exemplu, 2-metil-butan-1-ol și 3-metil-butan-1-ol înregistrează valori mai mari atunci când fermentația are loc la o temperatură mai scăzută, în timp ce 2-feniletanolul are valori mai mari când fermentația are loc la temperaturi mai ridicate (Marullo și Dubourdieu, 2010).

Alcoolii superiori sunt influențați de condițiile de aerare, cât și de corelația dintre levurile folosite și aerarea mustului. Creșteri de 97,7% și 84,6% a conținutului în alcooli superiori (inclusiv alcool izoamilic, alcool 2-feniletanol și izobutanol) au loc în condiții de aerare de o zi și două zile față de variantele unde mediul a fost înșămăntat doar cu *S. cerevisiae*. Scăderi de 34,1% și 17,4% a conținutului în alcooli

superiori se înregistrează la musturile cu fermentare mixtă, însămânțate cu două tipuri de levuri diferite (*S. cerevisiae* și *Hanseniaspora vineae*) (Yan și colab., 2020).

Printre compușii volatili care pot fi considerați constituenți cheie, pot fi menționați: 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-butanol, etil-3-metil-butanoat, etil hexanoatul, 2,4-hexadienoic acid etil ester, etil octanoatul. Aceștia pot fi folosiți în diferențierea vinurilor, în special prin valorile diferite de la un an la altul chiar și în cadrul aceluiași produs sau prin diferențele dintre acestea (Pop, 2015).

Alcoolii superiori se formează din degradarea aminoacizilor, carbohidraților și lipidelor (Yan și colab., 2020).

Formarea alcoolilor superiori este posibilă astfel:

- plecând de la zahăr, independent de asimilarea azotului aminat;
- prin transaminare, plecând de la aminoacizi, alții decât leucinele și valina (cistina, cisteina, glicol, treonina, prolina, histidina);
- prin reacția Ehrlich, plecând de la leucină și valină.

Alcoolii superiori produși în cele mai mari cantități sunt 1-propanol, 2-metil-1 propanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol, hexanolul și 2-feniletanolul. Una dintre căile prin care sunt generați acești compuși este conversia aminoacizilor cu lanț ramificat (valină, leucină, izoleucină și treonină); ca urmare, acumularea lor depinde de cantitatea și tipul surselor de azot din must (Aranda și colab., 2011).

Importanța alcoolilor superiori este, de asemenea, legată de rolul lor ca precursori pentru formarea esterilor, compuși foarte importanți în aroma vinului. Producția de alcoolii superiori poate fi utilizată pentru a selecta levurile pentru aplicații industriale (Manzanares și colab., 2011).

În general, combinațiile dintre etanol și acizii hexanoic, decanoic, octanoic, conduc la formarea de esteri ce imprimă nuanțe fructate vinurilor. De asemenea, alcoolii superiori precum alcoolul izobutilic, alcoolul izoamilic, în combinație cu acidul acetic conduc la formarea de esteri ce imprimă vinurilor arome fructate.

Etanolul este componenta principală, care determină vâscozitatea (corpul) vinului și acționează ca un agent de fixare a aromelor. Nivelul ridicat de etanol afectează negativ percepția aromelor din vin, adică nivelurile mai mari de etanol schimbă percepția unui vin de la fructat la ierbos și poate determina, de asemenea, o creștere a percepției astringenței vinului (Goldner și colab., 2009). Mai mult, conținutul ridicat de etanol poate afecta diferite aspecte ale metabolismului celular al levurilor, cum ar fi răspunsul diferit la stres și modificarea structurii membranei celulare (Obreque-Slíer și colab., 2010).

2-feniletanolul mai este cunoscut și sub denumirea de alcool 2-feniletalic, benzyl-metanol, benzil-carbinol, benzenetanol. Alături de tirosol, face parte din alcoolii aromatici principali (Romano și colab., 2019). 2-feniletanolul face parte din categoria alcoolilor superiori, primari, saturați, având caracter aromatic, ce posedă un număr de opt atomi de carbon. În stare pură se prezintă ca un lichid uleios, incolor,

cu miros caracteristic plăcut, puțin solubil în apă (1,6% la 20 °C), dar solubil în etanol (30%). Esterul său volatil, acetatul de 2-feniletanol, are un miros ce-l amintește pe cel al mierii (Cotea și colab., 2009).

2-feniletanolul este în general un contribuitor pozitiv la aroma vinului, fiind caracterizat printr-o aromă plăcută asemănătoare trandafirului.

Dintre levuri, *Saccharomyces oviformis* are capacitatea de a produce cele mai mari cantități de 2-feniletanol (putând ajunge până la 80 mg/L, în comparație cu 20÷40 mg/L produs de alte levuri) (Cotea și colab., 2009). Un conținut mai bogat se găsește în vinurile provenite din recolte botritizate sau atinse de putregaiul cenușiu și alte mucegaiuri. Prezența sa pare a fi esențială în formarea aromei vinurilor. Însă, atunci când conținutul său depășește 100 mg/L, vinul capătă un miros înțepător și erbaceu, iar la doze de peste 1000 mg/L vinul apare denaturant (Cotea și colab., 2009).

2-feniletanolul este cel mai important alcool fenolic superior, el putând acționa ca și compus aromatic de rezervă care poate fi eliberat în timpul fermentării (din metabolizarea levurilor) și învechirii. În timpul învechirii vinului, concentrația în 2-feniletanol poate scădea (Jackson, 2020).

Alcoolul izoamilic sau 3-metil-1-butanol mai este cunoscut și sub numele de alcool de fermentație. Este un alcool superior, aciclic, primar, saturat, cu cinci atomi de carbon. În stare pură se prezintă ca un lichid incolor, cu miros caracteristic neplăcut, ușor inflamabil, miscibil cu etanolul. Este puțin solubil în apă. Solidifică la -117,2 °C și fierbe la 130,6 °C. Cuvântul „amil” provine din latinescul „*amilum*”, care înseamnă amidon, acești alcooli fiind cunoscuți și ca alcooli de fermentație.

Conținutul vinurilor în alcool izoamilic poate ajunge până la 0,1 g/L, reprezentând 30÷50% din cantitatea totală de alcooli superiori. În vinurile albe se găsește în cantități ceva mai mari decât în vinurile roșii. În aceste condiții are un miros destul de fin și o nuanță de vînzitate suficient de pronunțată (Cotea și colab., 2009).

Dintre alcoolii superiori, alcoolul izoamilic (3-metilbutanol) reprezintă mai mult de 50% din totalul acestora (Rupasinghe și colab., 2017).

Referitor la concentrația în *alcool izoamilic*, aceasta înregistrează diferențe semnificative în funcție de levurile folosite, de exemplu, *Saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* produce 56,2 mg/L alcool izoamilic, în timp ce *S. cerevisiae* var. *chevalieri* produce 153,0 mg/L (Thorngate, 1998).

Alcoolul 3-metil-butan-1-ol este cel mai predominant dintre alcoolii alifatici superiori (Manzanares și colab., 2011). Concentrația de 3-metil-butan-1-ol este mai mare la sfârșitul fermentației alcoolice realizate la temperaturi de 15 °C decât la fermentațiile care au loc la temperaturi de 28 °C (Molina și colab., 2007). Cantitatea de 3-metil-butan-1-ol este afectată de rata de creștere a levurii și de prezența inhibitorilor care blochează calea biosintetică.

Alcoolul 3-metil-1-butanol sau alcoolul izoamilic, împreună cu 2-metilbutanol se particularizează prin aceea că, la aceleași concentrații, provoacă stări de ebrietate mai puternice decât etanolul sau ceilalți alcooli.

În literatura de specialitate este specificat faptul că prezența alcoolului izoamilic poate influența profilul senzorial al vinurilor, iar alcoolii izobutanol și 1-propanol nu au o influență semnificativă asupra aromei vinurilor (Rankine, 1967). Totuși, este necesar să se menționeze faptul că această afirmație este făcută pentru o soluție model, nefiind considerați și ceilalți constituenți ai vinului și nici sinergismul dintre acești compuși.

3-metil-1-pentanolul este prezent în mod natural în anumite varietăți de ardei chilli: *Capsicum frutescens* și *Capsicum tabasco* (Reineccius, 1998). Cercetări anterioare efectuate de Nechita și Moroșanu (2010 și 2019) au confirmat prezența acestuia în vinurile luate în studiu (Frâncușă, Fetească albă, Fetească regală) conferindu-le acestora nuanțe aromatice de cacao și de fruct verde.

Alcoolul 1-dodecilic sau 1-dodecanol, numit și alcool laurilic, este un alcool superior, aciclic, primar, saturat, cu 12 atomi de carbon. În stare pură se prezintă sub formă solidă, cu punct de topire de 23,8 °C, respectiv de fierbere de 255÷259 °C, insolubil în apă dar solubil în etanol.

1-dodecanolul sau alcool laurilic, face parte din grupa alcoolilor grași, în cantitatea cea mai mare în toate soiurile. Acesta are o aromă caracteristică de gras, de ceară. Apariția lui se datorează prezenței sale în compoziția cerurilor de pe pielea strugurilor.

cis 3-hexenol este un produs de tip C6 ce apare obișnuit în stadiul prefermentativ care este cunoscut și sub numele de alcool de frunze.

Astfel tipul ierbos, fruct crud, de frunză strivită, etc., este exclusiv caracterizat ca fiind un defect. *cis 3-hexenolul* se datorează zdrobirii în prezența aerului a frunzelor, a boabelor incomplet maturizate, a lăstarilor care se pot găsi în recoltă. De asemenea o altă sursă importantă o constituie ciorchinii, de unde derivă și numele unuia dintre descriptorii obișnuiți în literatura de profil (*gôut de râpe*). În aceste condiții, lipidele conținute în resturile vegetale sunt hidrolizate, iar unii dintre acizii grași rezultați sunt oxidați de către lipooxigenaze la aldehide C6, care la rândul lor, sunt reduse de către alcooldehidrogenaze la alcoolii corespunzători (hexanoli, hexenoli) adevărații responsabili de acest gust. Cantitatea de alcooli C6 depinde de gradul de maturitate a resturilor vegetale, condițiile de contact al recoltei cu oxigenul din aer și, bineînțeles, gradul de inactivare a enzimelor de către SO₂ adăugat în recoltă (Cotea și colab., 2009).

1-octanol sau *1-octilic*, este un alcool superior, aciclic, primar, saturat, cu opt atomi de carbon. În stare pură se prezintă ca un lichid incolor, cu miros aromatic plăcut. Este insolubil în apă, dar miscibil în etanol. Solidifică la -16,7 °C, fierbe la 195,2 °C (Cotea și colab., 2009). Este caracterizat printr-o aromă ceroasă, cu nuanțe vegetale, de citrice, de aldehide, chiar florale și cu nuanțe de cocos (Mosciano, 1996).

Prezența 1-octanolului în vinuri se poate datora faptului că acesta se regăsește pe piețița strugurilor în compoziția cerurilor.

Alcoolul izobutylic sau *2-metilpropanol-1* este un alcool superior, aciclic, primar, saturat, cu patru atomi de carbon. În stare pură se prezintă ca un lichid incolor, cu un miros apropiat de cel al alcoolului izoamilic, ușor inflamabil, miscibil cu etanolul. Este puțin solubil în apă.

În concentrație mică (mai puțin de 300 mg/L) contribuie la complexitatea aromatică a vinurilor, în schimb când acest prag este depășit, aroma lui penetrantă specifică maschează finețea aromatică a vinului, impregnând un miros înțepător. Alcoolul izobutylic este potențat de tratamentele cu enzime, macerarea cu ultrasunete și macerarea pe boștină (Colibaba, 2010).

Influențează însușirile de miros și gust ale vinurilor. Pragul de percepție în vinuri corespunde unor concentrații mai mari decât a esterilor pe care îi poate forma.

2-metil-1-butanol (alcool amilic activ), are o aromă pământoasă, reavănă (R), eterat-fructată (S). Acesta conferă un caracter fructat atât vinului cât și strugurilor. Formarea alcoolilor amilici este specifică fermentației provocate de *S. cerevisiae* sau a altor microorganisme și face parte din suita de reacții de degradare a leucinei (ciclul Ehrlich).

Hexanolul este cunoscut și ca „alcool de frunze”, având o aromă ierboasă ce este reflectată în aroma vinului. Hexanolul este un alcool prezent deseori și în mustul obținut în urma presării strugurilor datorită acțiunii enzimelor asupra acidului linoleic și care conferă vinurilor o aromă vegetală, ierboasă (Moroșanu, 2019).

1-Hexanolul se formează în plantă ca produs de oxidare a lipidelor sub acțiunea lipoxigenazei. Acesta apare în microorganisme în cadrul seriei de reacții de degradare a ciclohexanolului. Aromă este de iarbă proaspăt cosită.

Analizând compușii identificați în struguri s-a constatat că în ceea ce privește alcoolii la toate soiurile în boabe predomină 1-dodecanolul și 1-hexanolul (Nechita, 2010).

1-hexanolul este o dovadă a unei posibile materii prime (struguri) culeasă înainte de a atinge maturitatea tehnologică.

2,3-butandiolul este singurul izomer, din cei patru ai butandiolului care se găsește în vin. Prezența sa demonstrează faptul că a avut loc o fermentație a mustului. 2,3-butandiolul este un diol ce face parte din grupa alcoolilor polihidroxilici care are influență asupra însușirilor senzoriale ale vinului, el contribuind chiar la echilibrul general olfactiv al vinului.

În vinuri 2,3-butandiolul se găsește în cantități variabile, de la 0,2 până la 2 g/L, în funcție de levurile implicate și de accesul aerului în vasul de fermentare. Participă la ridicarea valorii extractului vinului. Un conținut ridicat în acest diol denotă că în lichidul supus fermentării a pătruns oxigen. În mod obișnuit vinurile conțin $0,5 \div 0,7$ g/L 2,3-butandiol. Fiind un produs constant al fermentației alcoolice,

pe baza lui se poate face deosebirea dintre o băutură fermentată, cum este vinul, care îl conține, și una nefermentată cum este, de exemplu, mistelul, din care lipsește (Cotea și colab., 2009).

Oxidarea 2,3-butandiolului alături de decarboxilarea și condensarea a două molecule de acid piruvic și prin condensarea a două molecule de acetaldehidă poate duce la formarea acetoiniei.

2,3-butandiolul este un diol aciclic saturat care se formează în calitate de produs secundar al fermentației alcoolice pornind de la acidul piruvic sau poate apărea în timpul fermentației malolactice și participă la ridicarea valorii extractului (Moroșanu, 2019).

2,3-butandiolul este un diol care se formează în urma procesului de fermentație malolactică. Acest compus prezintă o aromă subtilă, dulce și astringentă în același timp, însă nu are un impact senzorial deosebit asupra vinului. 2,3-butandiolul este un compus stabil, care împreună cu acetatul de metil, carbinolul și diacetilul au un rol important în menținerea balanței de oxido-reducere (Ribéreau-Gayon și colab., 2006).

Alcoolul 1-heptilic, 1-heptanol se mai numește și alcool oenantic, fiind un alcool superior, aciclic, primar, saturat, ce are șapte atomi de carbon. Se prezintă în stare pură ca un lichid uleios incolor, cu un miros caracteristic. Este greu solubil în apă, dar miscibil cu etanolul.

1-heptanolul împrumută vinurilor arome vegetale cu nuanțe de măr și banane, de citrice, de iarbă proaspăt tăiată. Cantități diferite de 1-heptanol au fost identificate în vinuri obținute din Cabernet sauvignon fermentat cu trei tipuri de levuri (Drtilová și colab., 2020) studiind impactul culturilor de *S. cerevisiae* asupra profilului volatil. Iar Gil și colab., în 1996, au determinat cantități mai mari de 1-heptanol la vinurile obținute prin însămânțare mixtă de *Saccharomyces spp.* și levuri apiculate, decât la vinurile obținute în condițiile fermentării simple.

1-hexadecanolul este un alcool gras, rezultat cel mai probabil în urma procesului fermentativ, având ca sursă posibilă cerurile de pe suprafața pielii boabelor de struguri.

Propanolul influențează însușirile senzoriale ale vinului. Cantitatea de propanol care se formează depinde de levuri și conținutul mustului în săruri de amoniu (Colibaba, 2010).

Alcoolul n-propilic sau 1-propanol este un alcool superior, aciclic, primar, saturat, cu trei atomi de carbon. În stare pură se prezintă ca un lichid incolor, ușor inflamabil. Solidifică la $-126,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, fierbe la $97,2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Este biosintetizat de levuri plecând de la treonină, prin intermediul acidului α -cetobutiric. Se poate forma de asemenea și plecând de la glucide, în cursul fermentației heterolactice. În vin s-au decelat și unii esteri ai săi precum acetatul, propionatul și caprilatul de propil (Cotea și colab., 2009).

1-propanol (alcool propilic) se caracterizează prin arome fructuoase / miros alcoolic, el apărând datorită fermentației levuriene prin transformarea treoninei, (Nechita, 2010).

Conținutul în alcooli superiori alifatici ai vinurilor nu depășește în general valoarea de 350 mg/L, respectiv $0,02 \pm 0,03\%$ vol, din care: propanolul atinge valori cuprinse între 20÷40 mg/L (Colibaba, 2010).

Alcoolul 1-decilic sau 1-decanol este un alcool superior, aciclic, primar, saturat, cu zece atomi de carbon. În stare pură se prezintă ca un lichid uleios incolor, insolubil în apă dar solubil în etanol. În vin se află în prezența izomerului său 2-decanol, un alcool secundar, cu proprietăți întrucâtva asemănătoare.

Principalul compus ce poate imprima vinului un miros de pământ reavăn este geosminul, un derivat dimetilat al decanolului biciclic, cu scheletul decahidronaftalinei (decalină), mai precis trans-1,10-dimetil-trans-9-decahidronaftalenul care, în vin, se află în forma optic activă (-). Decahidronaftalină (-)-geosmin. Denumirea provine din cuvintele grecești *geo* (pământ) și *osme* (miros). Geosminul este sintetizat atât de bacterii (*Actinomyces*) din genul *Streptomyces*, cât și de diverse specii de fungi, în special din genul *Penicillium*, cum ar fi *P. expansum*.

Alcoolul 1-undecilic sau 1-undecanol este un alcool superior, aciclic, primar, saturat, cu 11 atomi de carbon. În stare pură se prezintă, în funcție de temperatură, ca un lichid uleios sau cristalizat, insolubil în apă dar solubil în etanol.

2.3. Studii privind esterii din vinuri

Esterii sunt compuși volatili formați în reacția dintre un acid și un alcool. Ei provin direct din struguri și din activitatea levurilor în timpul fermentației alcoolice (Claus, 2017), formarea lor fiind paralelă cu formarea alcoolului. Esterii aduc cea mai mare contribuție la buchetul dorit de fermentare (Romano și colab., 2019), jucând un rol important în formarea aromelor secundare. Esterii au impact mai mare asupra aromelor decât acizii și alcoolii independent.

În timpul fermentației, producția esterilor are loc rapid sub egida enzimelor din levuri. Reacțiile de esterificare continuând și în timpul învechirii, aici au loc neenzimatic, într-un ritm mult mai lent (Jackson, 2020).

Acești esterii pot avea un efect pozitiv asupra calității vinului, în special la vinurile din soiuri cu arome neutre, care sunt consumate la scurt timp după producție (Lambrechts și Pretorius, 2000).

Conform lui Carrau și colab. (2017) mai multe levuri implicate în procesele de vinificație au activitatea specifică dată de β -glicozidază. Aceasta tinde să fie mai mare în cazul levurilor non-*Saccharomyces* decât în cazul levurilor *S. cerevisiae*. Fermentările realizate cu ajutorul levurilor *H. uvarum* simultan cu *S. cerevisiae* conduc la creșterea concentrației unor esterii, *H. uvarum* fiind considerată o bună

producătoare de esteri acetați. De asemeni *Lachancea thermotolerans* prezintă acțiune β -D-glucozidazică, unii autori raportând o creștere a esterilor atât în cazul fermentărilor mixte cât și în cazul fermentărilor secvențiale (Tufariello și colab., 2021).

În timpul fermentației alcoolice, se formează o serie de esteri mirositori, care se împart în esterii acetați și esterii etilici. Esterii acetați sunt mai importanți pentru aroma vinului decât esterii etilici ai acizilor grași.

Cea mai mare contribuție pentru caracterul floral și fructat din vinurile albe tinere o au esterii acetați ai alcoolilor superiori (cum ar fi acetat de etil, acetat de 2-feniletanol sau acetat de izoamil) și esterii etilici ai acizilor grași saturați cu lanț mediu (cum ar fi hexanoatul de etil) (Aranda și colab., 2011).

Cei mai importanți esteri acetați sunt: acetatul de etil – arome fructate; acetatul de izoamil – aromă de banane; acetatul de 2-feniletanol – arome de miere, trandafiri, flori (Capece și Romano, 2019).

Esterificarea enzimatică sau chimică a acizilor organici și a alcoolilor duce la formarea esterilor, iar în vinuri, cei mai frecvenți sunt esterii etilici. Esterii etilici ai principalilor acizi organici din vin (acizi tartric, malic, lactic, succinic, acetic și citric) se formează în toate vinurile și contribuie la îmbunătățirea aromei vinului prin proprietățile lor senzoriale florale și fructate. Aceasta înseamnă că, concentrația de acizi organici scade odată cu învechirea vinurilor (Robles și colab., 2019).

Un aspect relevant, demn de luat în calcul este faptul că preferințele cumpărătorului tind spre vinurile tinere, cu arome variate, pornind de la fructe proaspete, cu parfum varietal, spre vinuri cu un buchet mai subtil, delicat, la vinurile mai vechi. Cele mai multe vinuri moderne sunt produse pentru a fi consumate cu plăcere la scurt timp după îmbuteliere (Jackson, 2009).

Esterii sunt lipide solubile ce pot difuza prin membrana plasmatică în mediul de fermentare. Difuzia esterilor acetați este rapidă și completă, în timp ce transferul esterilor etilici la mediul de fermentație depinde de compoziția lor. Acesta scade drastic cu lungimea lanțului, de la 100% pentru hexanoatul de etil, la 54÷68% pentru octanoat etil și 8÷17% pentru decanoat de etil. Rata formării esterilor depinde de trei factori: concentrația acil-coenzimei A, a alcoolilor și activitatea enzimelor implicate în sinteza și hidroliza lor (Saerens și colab., 2010).

Variația concentrațiilor esterilor în timpul învechirii este diferită, ei pot crește sau scădea în timpul depozitării datorită esterificării chimice sau a hidrolizei ce tinde către un echilibru chimic. Concentrațiile de esteri etilici cu catenă liniară, derivate din metabolismul lipidic al levurii, scad, în general, în timpul învechirii vinului. Esterii inițial produși sunt hidrolizați lent în timpul depozitării până când se ajunge la un echilibru între acizii și alcoolii corespunzători (Linsenmeier și colab., 2010).

Saerens și colab. (2010) în studiul lor, au emis patru ipoteze care ar sta la baza sintezei esterilor, dar adevăratul rol fiziologic al sintezei esterilor este încă o întrebare fără răspuns.

Deși acești compuși sunt întâlniți la toate vinurile, cantitatea esterilor formați variază semnificativ. În afară de factori precum soiul strugurilor, portaltolul și maturitatea strugurilor, concentrația de esteri produsă în timpul fermentației depinde de levuri, temperatura de fermentare, metodele de vinificație, contactul cu pielea, pH-ul, regimul de sulfitați, aminoacizii prezenți în must, fermentația malolactică (Cole și Noble, 1995), nivelul burbelor, existența oxigenului, aerarea mustului, conținutul de azot (Ugliano și Henschke, 2009), activitatea esterazei în diferite levuri, fermentația intracelulară a strugurilor (macerația carbonică) (Jackson, 2020), tăria alcoolică și perioada de învechire (Țârdea și colab., 2010).

Maturitatea strugurilor determină tipul de esteri care se va forma în vin, astfel încât esterii acetati scad, în timp ce esterii etilici cresc (Ugliano și Henschke, 2009).

Temperaturile scăzute de fermentare (10 °C) favorizează sinteza esterilor fructați, cum ar fi izoamil, izobutil și acetat de hexil, în timp ce temperaturile mai ridicate (15÷20 °C) contribuie la producerea de esteri cu greutate moleculară mai mare, cum ar fi octanoatul de etil, decanoatul de etil și acetatul de feniletil. Temperaturile mai ridicate tind, de asemenea, să suprimă acumularea esterilor prin favorizarea hidrolizei (Jackson, 2020).

Jackson emite și ipoteze legate de formarea esterilor, și anume: în unele cazuri, capacitatea necesară pentru formarea esterilor scade pe măsură ce strugurii ajung la maturitate, fermentația strugurilor intracelulară (macerația carbonică) și absența oxigenului în timpul fermentației alcoolice sporesc formarea esterilor, iar cantitățile reduse de SO₂ cât și deburbarea mustului, susțin sinteza și retenția esterilor.

Deoarece majoritatea esterilor se găsesc în cantități foarte mici, sub formă de urme și au volatilitate redusă sau mirosuri ușoare, semnificația lor senzorială este probabil neglijabilă. Cu toate acestea, esterii mai comuni pot apărea la sau peste pragurile lor senzoriale. Dintre aceștia amintim esterii acetati (derivați din acid acetic și alcooli superiori) și esteri etilici (formați între etanol și acizi grași sau acizi organici nevolatili). Mulți dintre aceștia contribuie semnificativ la buchetul fructat al vinurilor albe tinere. Amestecurile de esteri nu au aceeași intensitate sau atribute calitative ca în mod individual.

Esterii acetati sunt adesea considerați că dau vinurilor o mare parte din parfumul lor vinos. Acești esteri cu greutate moleculară mică sunt numiți esteri fructați. Dintre aceștia amintim: acetatul de izoamil (acetat de 3-metilbutil), caracterizat printr-un parfum asemănător cu cel de banană și acetatul de benzil, cu o notă asemănătoare mărului. Dintre esterii fructați etilici amintim butiratul de etil, octanoatul de etil și hexanoatul de etil, care au atribute de ananas și, respectiv, de

coajă de măr. Esterii fructați joacă un rol important în aroma vinurilor albe tinere (Jackson 2020).

Esterii etilici apar în concentrații mai mici, iar formarea esterilor din acizi grași etilici nu este încă bine înțeleasă. Esterii etilici sunt eliberați mai lent și mai puțin eficient din levuri în fermentație decât esterii acetat (Bakker și Clarke, 2012).

Esteri de fermentare produși de levuri în timpul fermentației la concentrații peste echilibrul lor chimic hidrolizează lent după fermentare, ceea ce duce la pierderea fructuozității. Esterii acetati ai alcoolilor superiori hidrolizează mai rapid decât esterii etilici, în timp ce esterii etilici cu legatura lungă hidrolizează mai rapid decât esterii mai scurți. Esterificarea acizilor și a alcoolilor are loc și în timpul învechirii. Acidul tartric și alți acizi organici esterifică lent cu etanolul pentru a reduce aciditatea și a diminua amăreala în timpul maturizării.

În timpul fermentației vinului, concentrația maximă de esteri este obținută atunci când levurile sunt în faza fermentației alcoolice liniștite.

Esterii pot fi considerați metaboliți secundari ai levurilor din trei motive:

1. acești compuși sunt, de obicei, mai puțin toxici decât alcoolii și acizii din care provin, drept urmare, formarea esterilor reprezintă un mecanism de detoxifiere;
2. pentru insecte, acționează precum unii hormoni, reprezentând un mecanism de răspândire a levurilor în etapa de creștere;
3. sinteza lor reprezintă un mecanism prin care se poate regenera acetil coenzima A din forme legate.

Producția de esteri în timpul fermentației are loc rapid sub controlul enzimelor.

Deși esterii sunt prezenți în cantități mici, esterii volatili au un impact mai mare asupra aromelor de vin decât alcoolii superiori. Cu toate acestea, dacă acești compuși sunt prezenți în cantități prea mari, pot masca aromele varietale, scăzând complexitatea vinului.

Octanoatul de etil prezintă arome asemănătoare cu cele de coacăze.

Esterul decanoat de etil (capratul de etil) prezintă arome fructuoase, cu note de portocale.

Hexanoatul de etil, numit și caproatul de etil prezintă arome de fructe (ananas, caisă)

Acetatul de izoamil se formează în timpul fermentației alcoolice, fiind unul dintre principalii esteri responsabili de aroma vinurilor tinere, aroma sa este cea de acetat, fructat (măr). În cursul maturării și învechirii, această aromă se diminuează în paralel cu scăderea conținutului în acetat de izoamil, pentru ca în final să dispară.

În timpul maturării, conținutul excedentar al esterilor acizilor volatili (acetatul de izoamil), se micșorează prin hidroliză. Acetatul de izoamil este un compus organic din clasa esterilor, care se formează din reacția alcoolului izoamilic cu acidul acetic.

Pentadecanoatul de etil se mai numește și pentanoatul de ester (valeratul), ce prezintă arome eterice (fructat/măr)

Acetatul de 2-feniletil are un miros ce-l amintește pe cel al mierii, fiind esterul alcoolului 2-feniletanol.

Esterii cu masă moleculară și temperatură de fierbere mai mari (acetat de 2-feniletil, octanat de etil, decanoat de etil) se formează și sunt reținuți în masa vinului la temperaturi de peste 20 °C.

Butirat de feniletil are descriptori de arome de fructe, floral, verde cu nuanțe tropicale.

2.4. Studii privind aldehidele și cetonele din vinuri

Aldehidele sunt compuși organici în care o grupă carbonil este legată de un atom de hidrogen și de un radical organic, având formula generală $R-CHO$ și constituie o treaptă de oxidare intermediară între acizi și alcoolii primari (alcoolii secundari se oxidează la cetone, iar cei terțiari sunt stabili), fiind substanțe foarte reactive.

Mirosul diferă de la formaldehida care este sufocantă, acetaldehida care este iritantă, aldehidele cu $C8÷C18$ sunt plăcut mirositoare; cele aromatice, în mod deosebit benzaldehida, au miros de migdale amare. Numeroase aldehide aromatice (sau derivați benzenici) au mare importanță din punct de vedere al aromei din vin, ca de exemplu cele formate în timpul maturării în butoaie de stejar. Aici intră vanilina și aldehida cinamică (Nechita, 2010).

Aldehidele sunt formate de către levuri și bacterii, ca produși de metabolism, în cursul fermentațiilor (alcoolice, eventual malolactice), ca produși specifici vinului.

În funcție de numărul atomilor de carbon, aldehidele se pot prezenta sub formă gazoasă (formaldehida), lichidă ($C2÷C11$) sau solidă (peste $C12$).

Aldehidele reacționează cu acizii formând acetali. Alcoolii primari se pot oxida la aldehide și apoi la acizi carboxilici (Cotea și colab., 2009).

Aldehidele cu lanț scurt volatil sunt importante și contribuie în special cu arome de ananas și lămâie.

Datorită pragului lor scăzut de percepție și a caracteristicilor pe care le conferă vinului (aromă de mere, lămâie și nuci), aldehidele volatile sunt printre cei mai interesanți compuși carbonilici.

Vinul conține aldehide volatile care au un impact important asupra calității senzoriale a produsului final. Deoarece aldehidele aduc o contribuție atât de importantă la aroma vinului, cantitățile în exces trebuie eliminate. Bacteriile lactice și *Oenococcus oeni* pot fi folositoare pentru metabolizarea unor aldehide, care pot avea mirosuri neplăcute.

Speciile *K. apiculata*, *C. krusei*, *C. stellata*, *H. anomala* și *M. pulcherrima* produc aldehide în cantități cuprinse de la praguri nedetectabile la 40 mg/L, în timp ce *S. cerevisiae* produce între 6 și 190 mg/mL. Producția maximă de benzaldehidă este de 1200 mg/L obținută de speciile *Schizosaccharomyces* și *Zygosaccharomyces*.

Prin hidrogenare, aldehidele se reduc la alcooli primari, ceea ce se întâmplă într-o oarecare măsură sub acțiunea reducătoare a levurilor și în cursul învechirii vinului. Cu alcoolii, care adăunează la dubla legătură a grupei carbonil, formează semiacetali și acetali. Cu SO₂ se formează combinații stabile, de tipul acidului hidroxiacalsulfonic. Condensarea a două molecule de aldehydă conduce la formarea de β- hidroxialdehide cum este, de pildă, 2-hidroxi benzaldehida. Aldehidele alifatice polimerizează, pe când cele aromatice nu polimerizează, la care grupa carbonil este legată direct la nucleul aromatic. Excepție fac cele la care între grupa carbonil și nucleul benzenic se interpune cel puțin un atom de carbon, cum este cazul fenilacetaldehydei. Aldehidele sunt foarte sensibile la oxidare, formând ușor acizi carboxilici. În acest sens, ele reduc soluția Fehling, interferând în analizele care o folosesc, cum ar fi dozarea zaharurilor reducătoare (Cotea și colab., 2009).

Concentrații mai mari ai acestor compuși sunt observate mai des la vinurile mai vechi și sunt adesea asociate cu degradarea calității și caracterul oxidat al vinurilor (Waterhouse și colab., 2016).

Strugurii conțin puține aldehide de importanță, raportate la aromele varietale. Acest lucru poate rezulta din reducerea lor la alcooli în timpul fermentației.

Reacțiile secundare în catabolismul de aminoacizi implică conversia aminelor, α-ceto-acizilor și aminoacizilor în aldehide. Reacțiile finale în transformarea aminoacizilor sunt reducerea aldehydelor la alcooli sau oxidarea lor la acizi.

La începutul fermentației alcoolice a mustului se formează în principal glicerolul și aldehidele. Acetaldehida, hexanalul, cis-hexen-3-al și transhexen-2-al sunt responsabile pentru mirosurile neplăcute (Carrascosa și colab., 2011).

Benzaldehidele sunt produși intermediari în timpul fermentației alcoolice, ele pot apărea în vin, în urma oxidării alcoolului benzilic de către enzimele produse în strugurii infectați cu *Botrytis* (Goetghebeur și colab., 1992) sau de unele levuri. Benzaldehida (gust și aromă de migdale) din vinuri poate fi un posibil defect al vinului, deși poate și funcționa ca element de tipicitate pentru unele vinuri (Gamay).

Pentru prima dată, benzaldehida a fost extrasă în anul 1803 din migdalele amare, fiind una dintre principalele componente ale uleiului de migdale amare.

Benzaldehida are un alt miros neplăcut asociat ocazional cu utilizarea de rășini epoxidice. Are potențialul de a produce un miros de migdale amare atunci când concentrația sa atinge 2÷3 mg/L.

S-a constatat că anumite levuri din genurile *Schizosachromyces japonicus*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces* au capacitatea de a produce cantități mai mari de benzaldehidă (Ribéreau-Gayon și colab., 2006).

În plante, benzaldehida participă în reacții de oxidare a aldehydelor, la biosinteza benzoatului, și se poate reduce până la toluen. Ca produs de reacție, apare la degradarea amigdalinei, în degradarea mandelică, la degradarea toluenului, biosinteza benzoatului (Nechita, 2010). Cantitățile de benzaldehidă sau prezența acesteia este influențată de: tratamentul cu enzime de limpezire, care favorizează creșterea conținutului acesteia (Moroșanu, 2019); durata de păstrare a vinului, aceasta se diminuează rapid în primul an de păstrare (Cotea și colab., 2009); poate fi și o caracteristică specifică anului, nefiind identificată în ani diferiți din același soi (Pop, 2015).

Aldehidele de tip C6 fac parte din compușii volatili din frunzele verzi, care sunt pierdute în cea mai mare parte în timpul fermentației. Acestea pot fi identificate în must după zdrobire, formându-se prin oxidarea enzimatică a lipidelor din struguri (Waterhouse și colab., 2016).

Decanalul, aldehida caprinică, compus aciclic saturat, se prezintă, în stare pură, ca un lichid incolor, făcând parte dintre cei mai activi compuși, ce contribuie cu aroma plăcută de portocale, care fierbe la 207÷209 °C. Este insolubilă în apă dar solubilă în etanol, fiind întâlnită numai în unele vinuri.

Conținutul în decanal are valori duble la vinul din soiul Chardonnay sau de patru ori mai mare la vinul obținut din soiul Cabernet Sauvignon după fermentarea malolactică (MLF) a vinurilor, formarea sa putând fi indusă de formarea acidului decanoic în timpul MLF (Flamini și colab., 2002).

Enzimele solubile pot oxida etanolul, acetaldehida sau glucoza. Unele enzime au spectru de substrat limitat și reduc doar octanal, nonanal și decanal (Helmut și colab., 2017).

Nonanalul sau aldehida pelargonică, este caracterizată prin notele sale proaspete, de citrice. În concentrații mici are miros de trandafiri, stânjenei și mandarine.

În vin găsim cetone și dicetone, care pot fi saturate, nesaturate, aromatice cât și cetone cu altă grupă funcțională – cetoli (Cotea și colab., 2009; Vararu, 2016).

Comparativ cu celelalte cetone, acetoina poate atinge 30 mg/L, iar în cele roșii 40 mg/L (Cotea și colab., 2009), valorile fiind mult mai mici decât cele ale pragul senzorial de 150 mg/L (Ugliano și Henschke, 2009). Vinurile cu rest de zahăr, obținute prin sulfitare, pot conține chiar până la 200 mg/L acetoină. În general, vinurile atinse de înăcrirea lactică și, mai ales, de oțetire, conțin cantități mărite de acetoină. Acetoina intervine în buchetul vinului, dar mai ales ca precursor în biosinteza 2,3-butandiolului și a diacetilului (Cotea și colab., 2009).

2.5. Studii privind monoterpenele din vinuri

Monoterpenele contribuie în mod semnificativ la aroma strugurilor și a vinului. Mai mult, s-a demonstrat că anumite monoterpene prezintă beneficii pentru sănătate cu proprietăți antimicrobiene, antiinflamatorii, antivirale, anti-proliferative, antioxidante, anxiolitice și hipotensive (Pardo și colab., 2015).

Este binecunoscut faptul că metaboliții secundari din struguri oferă baza caracterului varietal al unui vin. Metaboliții secundari importanți sunt reprezentați de o serie de grupuri de compuși chimici care contribuie la profilul aromatic distinctiv al vinurilor obținute din soiuri de struguri ce aparțin speciei *Vitis vinifera*.

Monoterpenele sunt o clasă de terpeni derivate în principal din struguri. Sunt considerați a fi compuși chimici odoranți cheie, în ceea ce privește determinarea profilului aromatic. Terpenii sunt asociați cu aromele varietale (sau primare) ale unor vinuri albe, ce imprimă strugurilor și implicit vinurilor un caracter aromatic floral, respectiv fructat. Linaloolul, geraniolul, nerolul, citronelolul și α -terpineolul sunt principalii constituenți al acestui grup și ai soiurilor de struguri aromatici (de exemplu, Muscat d'Alexandrie, Gewürztraminer, Riesling), conferind prezența în vinuri a unor note florale, fructate și de citrice (Moroșanu, 2019).

Este important să se sublinieze faptul că deși acești compuși de aromă sunt prezenți în majoritatea soiurilor de struguri numai atunci când unul sau mai mulți compuși dintre aceștia se regăsesc în concentrații situate mult peste pragul senzorial de detecție se poate vorbi despre o aromă varietală specifică unui soi de struguri (Jackson, 2020).

Yuan și Qian (2015) au determinat factorul de diluare a aromei al fiecărui compus ca o diluare maximă la care ar putea fi percepută fiecare compus volatil analizat. Factorul de diluare al α -terpineolului a fost mai mic, pe parcursul a doi ani, în strugurii recoltați în momentul vinificării decât atunci când s-a determinat cu trei săptămâni înainte de cules.

Profilul terpenic al unui vin produs dintr-un soi de struguri nearomat se poate schimba prin fermentare cu *S. cerevisiae* cu enzima GES (geraniol sintaza), ce exprimă mult mai bine note de busuioc dulce. Fără a fi compromise alte trăsături fermentative (creșterea sau capacitatea fermentativă), levurile recombinate produc geraniol în cantități de 750 $\mu\text{g/L}$, cu mult peste pragul de percepție (40-75 $\mu\text{g/L}$). Geraniolul este metabolizat de către enzimele de levuri în monoterpeni și esteri suplimentari: citronelol, linalol, nerol, acetat de citronelil și acetat de geranil, rezultând o concentrație totală de monoterpeni de $\sim 1.558 \mu\text{g/L}$. De asemenea, profilurile monoterpeni ale vinurilor obținute din fermentații mixte s-au dovedit a fi determinate de compoziția inoculilor de levuri. Schimbarea activității enzimatică reprezentând o strategie evidentă pentru a extinde în continuare capacitatea de a influența aroma vinului (Pardo și colab., 2015).

Cantități diferite de linalool din același vin sunt obținute prin fermentare cu două levuri distincte *S. cerevisiae* cu enzima GES și *S. cerevisiae* care nu produce monoterpene. Rezultatele prezintă diferențe cantitative de 7,5 ori mai mare (~ 141 față de ~ 19 μg/L). Concentrații mai mare se obținut când se folosește un amestec din cele levuri în proporție de 1:1, cantitatea de geraniol atingând pragul de 388 μg/L.

Conținutul în monoterpene este influențat de o serie de factori incontrollabili din care amintim clima și solul (Pardo și colab., 2015) și de o serie de alți factori cum ar fi: soiul de struguri, gradul de coacere al acestora, tehnologia folosită la producerea vinurilor coroborată cu condițiile de fermentare (Carballeira și colab., 2001).

În cazul soiului Fetească regală, un soi de struguri albi neutri, nu se poate vorbi despre prezența unor arome varietale specifice acestui soi așa cum este cazul soiurilor Muscat Ottonel și Tămâioasă românească, ci mai degrabă de prezența unor arome rezultate în urma procesului fermentativ. În această situație, contribuția monoterpenele la profilul aromatic al vinurilor obținute din soiul de Fetească regală este una mult mai redusă, linaloolul fiind compusul terpenic de importanță majoră.

Linaloolul, un terpenol aciclic, dar cu funcție alcool terțiară, are un miros care amintește de lăcrămioară și iasomie. Numele său vine de la planta mexicană *linaloe*, din genul *Bursera*, din care se extrage în mod curent. Se găsește în soiurile nearomate până la 0,2 mg/L, pentru ca la cele aromate (Muscat de Alexandria) să atingă 0,8 mg/L. Este cel mai important compus din această clasă, reprezentând peste 50% din cantitatea terpenolilor.

Întrucât pragul său de percepție este coborât (100 μg/L), iar al celorlalți terpenoli mult mai ridicat, linaloolul se distinge ca cel mai activ din punct de vedere olfactiv, și are o participare importantă la aroma tuturor vinurilor.

În timpul maturării strugurilor, linaloolul crește odată cu conținutul în zahăr, iar la supramaturare suferă o oarecare scădere. La fermentația peste 20 °C, apare o ușoară scădere, pentru ca, în cursul evoluției ulterioare a vinului, linaloolul să-și mărească participarea la aroma-buchet, chiar dacă aceasta suferă astfel o ușoară modificare.

Ho-trienolul este un terpenol aciclic, cu funcție de alcool terțiară, ce apare ca produs de hidroliză în urma încălzirii mustului la 70 °C. Prezintă un miros de coriandru.

α-terpineolul

Înrudirea unora dintre monoterpeneoli permite transformarea lor reciprocă și chiar formarea altora. Obişnuit, la o astfel de transformare participă linaloolul, nerolul și geraniolul, care pot fi considerați izomeri de poziție. Această interconversie poate conduce, prin ciclizare, la formarea unor compuși suplimentari, precum α-terpineolul, și a 6,7-dihidroxlinaloolului (un triterpenol). Aceste transformări sunt favorizate de pH-ul acid al vinului și includ reacții de izomerizare, ciclizare, hidratare, deshidratare, oxidare.

PARTEA a II-a CONTRIBUȚII PROPRII
PART II –PERSONAL CONTRIBUTIONS

CAPITOLUL III: SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII ÎNTREPRINSE

CHAPTER III: AIM AND OBJECTIVES OF THE RESEARCH

Deosebirea vinurilor de alte produse este dată în special de valorile concentrațiilor relative a compușilor decât de prezența componentelor unice.

Opțiunile unui vinificator în fața multitudinii de decizii cu care se confruntă poate duce la obținerea de vinuri diferite. Fiecare decizie luată sau omisă în podgorie sau cramă influențează stilul și calitatea finală a vinului, care se va regăsi, în final, în sticlă. Niciodată nu au existat atâtea oportunități pentru vinificator, pentru a direcționa atât viticultura cât și vinificarea în vederea obținerii vinului. Vinul nu a fost niciodată mai bun din punct de vedere tehnic, dar aceste noi posibilități creează dilema tipicității, astfel încât vinul poate să restrângă diferențele între locuri, obținându-se produse asemănătoare, caracterul lor varietal specific fiind pierdut (Lewin, 2010).

Pentru mulți producători, precum și pentru pasionați, vinul este un obiect de artă, chiar dacă unul lichid. Hotărârile creatorului de vinuri pe fluxul de producere asigură individualitatea vinului, care culminează în momentul în care acesta este turnat într-un pahar, învârtit, sorbit, savurat, înghițit și impregnat în memorie. Deși majoritatea vinurilor nu necesită și nici nu beneficiază de un control intens, vinurile finite justifică și răsplătesc pe măsură efortul implicat.

În ultimii ani, piața mondială a vinului se extinde rapid, consumatorii de vin fiind din ce în ce mai mult orientați spre achiziționarea de produse standard de înaltă calitate.

Actualmente, piața vinului se află într-o evoluție continuă în ceea ce privește calitatea vinului. Organizația Internațională a Viei și Vinului (OIV) arată o tendință a creșterii pieței vinului din anul 2001 până în anul 2018, atât din punct de vedere al prețului cât și al volumului de vin în comerțul mondial (fig. 3.1 și 3.2).

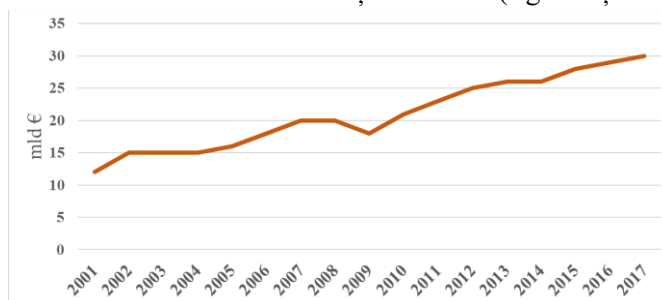


Figura 3.1 – Evoluția prețului vinului (euro) în comerțul mondial

Figure 3.1 – The evolution of wine price (euros) in world trade

(<https://www.oiv.int/public/medias/6371/oiv-statistical-report-on-world-vitiviniculture-2018.pdf>)

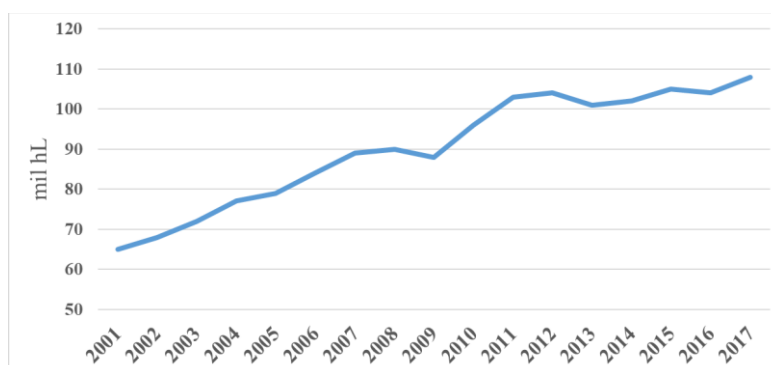


Figura 3.2 – Evoluția volumului de vin (litri) în comerțul mondial

Figure 3.2 – The evolution of wine volume (liters) in world trade

(<https://www.oiv.int/public/medias/6371/oiv-statistical-report-on-world-vitiviniculture-2018.pdf>)

În zilele noastre, vinul ocupă un loc important în economia națională a României. În ceea ce privește suprafața cultivată cu vița de vie, țara noastră ocupa în anul 2018 locul 10 pe plan mondial, cu o suprafață de 191 000 ha.

Referitor la producția de vin, țara noastră se situează pe locul 13, producând 5,1 milioane hectolitri de vin. În ceea ce privește exportul și importul, România nu se află în clasamentul OIV al principalilor exportatori importatori de vin.

SCOP

În contextul prezentat se încadrează și scopul prezentei teze de doctorat ce s-a axat pe studierea influenței unor levuri, dar și a tehnologiei folosite în procesul fermentativ asupra conținutului de compuși volatili și acizi pe toată durata fermentației alcoolice la vinurile Aligoté și Fetească regală din Centrul Viticol Bucium Podgoria Iași.

Necesitatea studiului efectuat a rezultat tocmai din nevoia realizării unor vinuri din soiuri nearomate, capabile să facă față concurenței acerbe existente pe piața vitivinicolă, prin obținerea unor vinuri selecționate atent lucrate.

În vederea realizării scopului propus s-au avut în vedere următoarele obiectivele:

- urmărirea influenței levurilor asupra compoziției vinurilor, prin determinarea parametrilor fizico-chimici principali, din care amintim: aciditatea volatilă, aciditatea totală, pH-ul, densitatea relativă, concentrația alcoolică, substanțele nereducătoare, extractul nereducător, extractul sec total;
- determinarea influențelor calitative ale levurilor asupra compușilor de aromă la cele două soiuri luate în studiu;
- acumularea de date referitoare la potențialul oenologic al soiurilor de viță de vie destinate producerii vinurilor albe;

- examinarea diferențelor în urma fermentării vinurilor la volume mari și mici;
- studierea influenței unor levuri asupra conținutului de compuși volatili și acizi pe toată durata fermentației alcoolice la vinurile obținute din soiurile Aligoté și Fetească regală din Centrul Viticol Bucium, Podgoria Iași;
- formularea și testarea ipotezelor statistice cu privire la influențele exercitate de ziua de fermentare, levura folosită, cât și de interacțiunea dintre acestea, la realizarea vinurilor din cele două soiuri;
- realizarea profilului aromatic al vinurilor cu ajutorul analizei senzoriale „închise” în vederea identificării și cuantificării principalelor caracteristici gustative și olfactive.

CAPITOLUL IV: CADRUL ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU DESFĂȘURAT CERCETĂRILE PRIVIND STUDIUL ACIZILOR DIN VINURILE ALIGOTÉ ȘI FETEASCĂ REGALĂ

CHAPTER IV: ORGANIZATIONAL AND INSTITUTIONAL FRAMEWORK IN WHICH THE RESEARCH ON THE STUDY OF ACIDS IN WINES OBTAINED FROM ALIGOTÉ AND FETEASCĂ REGALĂ WAS CARRIED OUT

Studiul privind acizii și compușii volatili din vinurile albe Aligoté și Fetească regală obținute prin (ne)aplicarea unor levuri s-a efectuat în două puncte: primul punct a fost sediul societății S.C. CASA OLTEANU S.R.L., de unde a provenit materia primă și Laboratoarele de Vinificație și Oenologie din cadrul Facultății de Horticultură, parte a Universității de Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași în perioada 2015-2021, unde s-au efectuat analize privind principalii parametri fizico-chimici dar și analize specifice, de identificare și cuantificare a acizilor organici și a unor compuși volatili.

Laboratoarele de Vinificație și Oenologie (fig. 4.1) sunt localizate în incinta Stațiunii Didactice Experimentale „Vasile Adamachi” Iași și cuprind stația de vinificație, depozitul de păstrare a probelor, laboratorul în care se desfășoară și lucrările practice ale unor discipline de la diferite specializări și Centrul de Cercetări pentru Oenologie al Academiei Române – Filiala Iași, care din anul 2006 este Centru de Excelență din cadrul Filialei Iași al Academiei Române.



Figura 4.1 – Clădirile Laboratorului de Oenologie „Acad. Valeriu D. COTEA” al Universității pentru Științele vieții „Ion Ionescu de la Brad” Iași (original)

Figure 4.1 – The buildings of the Oenology Laboratory „Acad. Valeriu D. COTEA” of „Ion Ionescu de la Brad” University of Life Sciences, Iasi (original)

Laboratorul de Oenologie „Acad. Valeriu D. COTEA” deține o dotare tehnică modernă: cromatograf de lichide de înaltă performanță, spectrometru de masă tip IT-TOF (trapă ionică și zonă cu timp de zbor), cromatograf de gaze cuplat cu spectrometru de masă, spectrometru de absorbție atomică, spectrofotometru UV-VIS, spectrometru FT-IR, spectrometru ATR-FTIR, aparatură electrochimică pentru conductometrie, pH, potențial redox; aparatură de determinare a diferiților parametri fizici și chimici, cum ar fi: aciditatea volatilă, concentrația alcoolică, densitatea, SO₂ (Moroșanu, 2019).

Personalul care desfășoară activitatea didactică și de cercetare, sub coordonarea domnului Prof. univ. dr. Valeriu V. Cotea m.c. AR, este format din persoane cu diferite specializări în domeniul oenologiei și viticulturii, datând de peste 50 de ani.

Prezentarea cramei S.C. CASA OLTEANU S.R.L.

Societatea S.C. CASA OLTEANU S.R.L., a fost înființată pe una dintre cele șapte coline ale orașului în anul 2005, urmând ca în decembrie 2007, să beneficieze de un proiect cu finanțare nerambursabilă prin SAPARD-ul românesc pentru construirea și dotarea cramei. Crama a fost construită după modelul podgoriilor de familie din Franța, capacitatea acesteia fiind de 43 de vagoane. Suprafața lucrată se întinde pe o suprafață de 60 de hectare, vița de vie având o vechime de peste trei decenii.

Prima campanie de vinificație a avut loc în toamna anului 2009, lansarea vinurilor având loc în anul următor, 2010. Crama (fig. 4.2) s-a făcut cunoscută pentru cele trei soiuri de vin pe care le deține: Aligoté, Fetească regală și Fetească albă, cât și a unui vin care a luat naștere din cupajul celor trei soiuri în anul al doilea de existență. Din cele trei soiuri, s-a readus la lumină renumitul vin Aligoté, ce constituie unul din subiectele acestei lucrări științifice.

Pentru cei doritori de vizitarea cramei, pot fi puse la dispoziție degustări de vinuri, incursiuni ale locului unde se îmbuteliază vinul, cât și mese cu platouri reci sau mâncare gătită. Societatea poate fi o destinație ideală pentru o după-amiază de toamnă împreună cu cei dragi (prieteni, familia), alături de un ospăț asociat cu un pahar de vin.



Figura 4.2 – Imaginea plantației viticole și a sediului cramei S.C. CASA OLTEANU S.R.L. (original)

Figure 4.2 – Image from vineyard and of the wine cellar of S.C. CASA OLTEANU S.R.L. (original)

CAPITOLUL V: MATERIALUL ȘI METODA DE CERCETARE

CHAPTER V: RESEARCH MATERIAL AND METHOD

5.1. Materialul de cercetare

5.1.1. Descrierea centrului viticol Bucium- Iași

Podgoria Iași este un areal cu suprafață considerabilă localizată în nord-estul Podișului Moldovei, la contactul Câmpiei colinare a Moldovei cu Podișul Central Moldovenesc de sud, „Coasta Repedei”.

Relieful se dispune în două trepte: Câmpia Moldovei caracterizată de relief colinar și de platouri netede (altitudinea medie de 150 m) și Podișul Central Moldovenesc (altitudine de 300÷350 m).

Hidrografia este reprezentată de râurile Bahlui (cursul său inferior) și Prut (cursul său mijlociu) care constituie colectoriile unor pâraie relativ scurte și cu debite anuale reduse, iar lacurile din zonă sunt creații antropice cu scopuri multiple. Apele subterane, cu debite reduse, sunt interceptate prin fântâni sau descărcate prin izvoare nu se încadrează într-o categorie de calitate accesibilă.

Climatul este temperat continental cu nuanțe excesive, consecință a poziției de interferență care se produce la 200÷250 m în panta Câmpiei Moldovei. Temperatura medie lunară este de 9,6 °C, echilibrul termic activ este de 3155 °C, insolația reală este în medie de 1513 ore, cu precipitații medii în perioada de vegetație de 351 mm (tabelul 5.1) (Moroșanu, 2019).

Tabelul 5.1/ Table 5.1

Date generale privind climatul local în Podgoria Iași

General data on the local climate in Iași vineyard

Perioada anuală		Perioada de vegetație convențională			Indicele de aptitudine oenoclimatică
T med (°C)	Suma precipitațiilor (mm)	Suma t (°C)	Insolația (ore)	Suma precipitațiilor (mm)	
9,6	562	3155	1513	351	4403

5.1.2. Descrierea soiurilor de struguri luate în studiu

5.1.2.1. Soiul Fetească regală

Sinonime. La noi în țară soiul mai este cunoscut sub denumirea de Dăneșană sau Galbenă de Ardeal, în Slovacia acesta poartă numele de *Pesecká Leánka*.

Origine. Acest soi este rezultatul unei hibridări naturale între Fetească albă și Grasă de Cotnari. Începând cu anul 1920, pepineristul Gaspari din localitatea Daneș a înmulțit acest soi sub denumirea de „*Dunnesdörfer Königsast*”. Vinul obținut

din acest soi a fost apoi prezentat de Gașpări la Expoziția Națională de Vin și Fructe de la București în 1928 sub denumirea consacrată de Fetească regală.

În prezent este cel mai răspândit soi din România, ce ocupă o suprafață de 16.363 ha. S-a sugerat de mult că Fetească regală este o încrucișare naturală între Fetească albă și Grasă de Cotnari obținută în anii 1930, dar, chiar dacă studii recente au sugerat că Fetească regală și Fetească albă sunt apropiate din punct de vedere morfologic și genetic, compararea profilurilor ADN-ului lor tinde să contrazică orice relație strictă parentală-descendenți dintre Fetească regală și oricare dintre părinții săi (Robinson J și colab., 2012). În anul 2009, soiul Fetească regală era numărul 1 de la noi din țară cu un procent de 17,9% din sortimentul de soiuri (Bora și Bunea, 2019).

Caractere ampelografice. Dez mugurirea soiului Fetească regală este scămoasă, având rozeta de o culoare verde albicioasă. Frunza adultă este de mărime mijlocie având $11 \div 13$ cm lungime prezentând adâncituri pe fața superioară a mezofilului cunoscute sub denumirea de „lovituri de ciocan” (Dobrei și colab., 2017). Floarea este hermafrodită normal, soiul fiind autofertil. Strugurii de Fetească regală (fig. 5.1) au greutate medie ($110 \div 130$ g), cilindro-conici, deseori aripați. Aceștia au boabele inegale ca mărime fiind dispuse des pe ciorchine.



Figura 5.1 – Struguri din soiul Fetească regală (original)

Figure 5.1 – Grapes from Fetească regală variety (original)

Boabele sunt mijlocii, sferice, având pielea subțire, de culoare verde – gălbui, pruinată. Pulpa este nearomată și zemoasă (Rotaru, 2009).

Însușiri agrobiologice. Soiul prezintă o perioadă mijlocie de vegetație ($160 \div 170$ zile), necesitând în acest timp o temperatură globală cuprinsă între 2500 și 3200 °C. Soiul prezintă o vigoare de creștere mijlocie, cu fertilitate ridicată, 80÷85% dintre lăstari fiind fertili. În urma accidentelor climatice, soiul are proprietatea de a se reface ușor. Pârga strugurilor începe în prima parte a lunii august, urmând ca maturarea deplină să fie realizată la 3÷4 săptămâni după soiul Chasselas doré.

Rezistențe biologice. Soiul Fetească regală rezistă la geruri de $-20 \div -22$ °C. Rezistența la mană și făinare este mijlocie, dar este sensibilă la secetă și la putregaiul cenușiu, indicându-se evitarea cultivării în zonele secetoase (Dobrei și colab., 2017).

Înșușirile agrotehnice și tehnologice. Soiul poate acumula concentrații medii în zaharuri din must ce variază între 170 și 210 g/L, iar în ceea ce privește aciditatea totală a mustului, este cuprinsă între 4,5 și 7 g/L exprimată în acid sulfuric. Acumulările în zaharuri au un maximum de $220 \div 235$ g/L. În mod normal, vinurile obținute, prin vinificarea acestui soi, sunt de calitate, acestea putând fi folosite și la obținerea vinurilor materie primă pentru distilate învechite din vin sau spumante (Rotaru, 2009).

Variații și clone. În cadrul populației acestui soi, au fost depistate două biotipuri. Un biotip prezintă strugurii uniaripați, compacți cu boabe de culoare verde gălbui. Al doilea biotip prezintă strugurii mari, mai puțin compacți având boabele de culoare galbenă, apropiată soiului Grasa de Cotnari.

În anul 1979 a fost omologată la SCDVV Blaj clona Fetească regală–21 Bl care se caracterizează printr-o capacitate ridicată de acumulare în zaharuri cu o producție de 15,8 t/ha (Rotaru, 2009).

Zonare. Producțiile mari pe care le conferă și plasticitatea sa ecologică pronunțată au făcut ca acest soi să se extindă foarte mult în cultură. Zonele cele mai favorabile pentru cultivarea acestui soi, unde se obțin cele mai bune rezultate sunt Podișul Transilvaniei și Moldova (Dobrei și colab., 2017).

Vinurile obținute din soiul Fetească regală sunt, de obicei, seci, dar, uneori putem obține și vinuri demiseci sau uneori dulci. Culoarea acestor vinuri variază de la alb-verzui la galben-verzui, culoare care migrează pe măsura maturării, spre galben-pai sau galben-auriu. Vinurile sunt de calitate superioară, ce au o concentrație alcoolică cuprinsă, între 10,5÷11,5% vol. alc., putând atinge în unii ani chiar 13,7% vol. alc. Aroma sa specifică este una florală, vinurile obținute fiind echilibrate. Vinurile tinere sunt apreciate datorită aromelor elegante pe care le posedă cumulată cu prospețimea și vioiciunea specifică.

Este foarte apreciat vinul tânăr, pentru că păstrează aroma originală, de tip floral, elegantă, nealterată de timp, cu vioiciunea și prospețimea specifică, date de aciditatea mai ridicată.

Nota de vioiciune, care poate fi găsită foarte atractivă pentru mulți consumatori, este dată de aciditatea sa (aciditate totală de $7 \div 7,5$ g/L acid tartric), chiar mai ridicată uneori. Este un vin armonicos și bine constituit, ce poate fi folosit ca atare și în cupaj cu alte vinuri. Vinul se caracterizează și prin stabilitatea durabilă, limpiditatea sa strălucitoare, prezentând un buchet cu note eterate, ceea ce îi conferă lejeritate.

5.1.2.2. Soiul Aligoté

Sinonime. Este cunoscut și sub denumirea de *Aligoté bijeli*, *Blanc de Troyes*, *Alligotay*, *Chaudenet Gris*, *Plant de Trois*, *Giboudot Blanc*, *Plant à trois*, *Griset blanc*, *Plant Gris*, *Vert blanc*, *Carcaroné Troyen blanc*, *Aligotte*, *Alligotay*, *Alligoté*, *Chaudenet Gras*, *Giboulot* sau *Giboudot* (Robinson și colab., 2012).

Origine. Acest soi a fost probabil citat pentru prima dată de Dupré de Saint-Maur în 1780 sub numele de „*Plant de Trois*”, un vechi sinonim care se referă la faptul că ramurile sale poartă de obicei câte trei ciorchini.

Numele Aligoté derivă probabil din „*Gôl*”, un vechi sinonim pentru *Gouais blanc* în *Arrières-Côtes de Beaune*, unde „mama” a fost înlocuită de „copilul său”, Aligoté. Este membru al aceleiași grup ampelografic ca *Gouais* (Robinson și colab., 2012).

Aligoté-ul face parte din peisajul vinicol din Burgundia de mai bine de 200 de ani, fiind plantat alături de Chardonnay.

În țara noastră a fost introdus în cultură după anii 1900, adaptându-se foarte bine la condițiile climatice din Moldova, putându-se spune că și-a găsit a doua patrie la Iași (Cotea și colab., 2003).

Inițial a fost înmulțit în Iași la pepiniera Otge din Nicolina apoi la Tecuci (Constantinescu și colab., 1959).

Caracterele ampelografice. Dezmugurirea soiului Aligoté începe primăvara timpuriu, oscilând între 6÷7 aprilie și 1÷3 mai. Rozeta este pufoasă de culoare verzuie-albicioasă, scămoasă, cu liziera roz-liliachiu (Constantinescu și colab., 1959). Frunzele tinere sunt peroase, verzi deschis. Frunza adultă este întreagă de mărime mijlocie având 14÷16 cm lungime. Este orbicular-reniformă, având codul ampelometric 035–2–57, cu un început de trilobie; sinusurile laterale foarte slab schițate; sinusul pețiolar deschis în formă de V. Limbul frunzei este neted sau ușor gofrat, de culoare verde-închis, glabru și lucios pe partea superioară și scămos cenușiu pe inferioară. Dinții sunt mijlocii ca mărime, ascuțiți cu o așezare neuniformă. Floarea este hermafrodită, normală, pe tipul 5, rar 6 cu polen fertil și puțin abundent, soiul fiind autofertil (Constantinescu și colab., 1959).

Strugurii sunt mici spre mijlocii, de 10÷12 cm lungime și 100÷120 g în medie, fiind cilindrici, rar cilindro-conici. Strugurii sunt uniaxiali, uneori aripați, având boabele des așezate pe ciorchine, încât uneori se deformează. Bobul este adeseori deformat, mic, sferic, cu pielea subțire, de culoare verde gălbui ce prezintă pete ruginii pe partea însoară, pulpa zemoasă, cu gust specific soiului. Pielea este relativ groasă fiind acoperită cu un start intens de pruină cu mici puncte negre. Punctul pistilar este puțin vizibil, fiind persistent. Lăstarii sunt striati, ușor scămoși și au o vigoare mijlocie. Culoarea predominantă este verde, având nuanțe roșcat-vineții pe partea însoară. Coardele au toamna culoarea maro-cenușiu, aceasta fiind mai pronunțată la noduri (fig. 5.2) (Rotaru, 2009).



Figura 5.2 – Struguri din soiul Aligoté (original)

Figura 5.2 – Grapes from Aligoté variety (original)

Soiul Aligoté frecvent prezintă câte trei ciorchini pe lăstar care apar pe nodurile 4/5/7 sau 3/4/6.

Înșușirile agrobiologice. Soiul Aligoté are o perioadă de vegetație mijlocie către lungă (175÷200 zile), în acest timp necesitând 2800÷3800 °C temperatură activă. Prezintă vigoare mijlocie de creștere, având o fertilitate foarte ridicată, (peste 95% lăstari fiind fertili), fiecare lăstar purtând 2÷3 inflorescențe.

Dezmugurirea soiului Aligoté începe primăvara timpuriu, oscilând între 6÷7 aprilie și 1÷3 mai. Pârga începe la mijlocul lunii iulie, iar maturarea deplină are loc în partea a doua a lunii septembrie (epoca a IV–V-a). Maturează bine lemnul lăstarilor, inclusiv chiar și al copililor, având capacitatea de a emite cu ușurință lăstari din lemnul multianual (o parte dintre aceștia fiind fertili). Datorită acestor capacități, butucii se refac cu ușurință în urma eventualelor accidente climatice (Rotaru, 2009).

Rezistențe biologice: soi ce prezintă o bună rezistență la ger (–20 ÷ 22 °C) fiind foarte rezistent la secetă. Soiul este sensibil la putregaiul cenușiu al strugurilor și la mană având rezistență medie la făinare.

Înșușirile agrotehnice și tehnologice. Este un soi cu o mare plasticitate ecologică, acesta fiind adaptat foarte bine la toate tipurile de sol. Rezultate bune se obțin atât în zona colinară cu climat moderat (județele Botoșani, Iași, Vaslui), cât și în zone ce prezintă un climat mai călduros (Ștefănești-Argeș, SaricaNiculițel, Odobești) dar și pe terenurile nisipoase din județele Buzău și Brăila. Se pretează la tăieri mixte, pe tulpini semiînalte și înalte (0,6÷1,6 m) cordon bilateral. La tăiere sarcina de rod lasată este cuprinsă între 18÷20 ochi/m² productivitatea mare a soiului Aligoté impune folosirea unei agrotehnici înaintate, soiul reacționând foarte bine la fertilizările cu îngrășăminte chimice.

Soiul are un potențial biologic productiv foarte ridicat, având cea mai mare valoare a coeficientului de fertilitate relativă. Din punct de vedere tehnologic, acesta acumulează la maturarea deplină, 170÷180 g/L zaharuri, având o aciditate echilibrată 5,3÷5,5 g/L H₂SO₄. Producțiile de struguri obținute sunt mijlocii, de 14÷20 t/ha. În

zonele colinare, concentrațiile în zaharuri din struguri ating 190÷200 g/L, putând depăși 210÷220 g/L, permițând obținerea vinurilor de calitate. Cea mai ridicată concentrație în zaharuri a fost de 259 g/L atât la maturitatea deplină, (Pietroasa în anul 1937), cât și la supracoacere (Odobești în anul 1948) (Constantinescu și colab., 1959).

Randamentele variază considerabil în funcție de locul unde este cultivat (Robinson și colab., 2012).

La Iași soiul manifestă aptitudini pentru supramaturare și obținerea unor vinuri de calitate superioară, la aceasta contribuind conținutul său în aciditate totală (6,4÷6,6 g/L acid tartric). Soiul Aligoté își manifestă plenar însușirile calitative în condițiile viticulturii din partea centrală și de nord a Moldovei.

Este capabil să producă vinuri delicate atunci când este cultivat pe solurile cretoase din Burgundia, dar prosperă și în soluri mai nisipoase, precum cele găsite în Rhone. Poate contra-intuitiv, această rezistență și fiabilitate au servit doar la scăderea statutului lui Aligoté la „util” și „fiabil”, mai degrabă decât „misterios” și „enigmatic”.

Variații și clone. Din populația soiului Aligoté, la SCDVV Iași s-a obținut clona Aligoté-5 Iș, omologată în anul 1978, care se remarcă printr-o mai bună rezistență la ger și producții de 16 t/ha, iar în anul 2002 a fost omologată, la aceeași unitate, clona Aligoté-31 Iș, cu o producție de 18 t/ha. La SCDVV Ștefănești-Argeș, în anul 2000, a fost obținută clona Aligoté 63 Șt, ce se caracterizează prin producții de 20 t/ha.

Zonare. Soiul Aligoté ocupa o suprafață de 7203 ha la noi în țară în anul 2009, în timp ce în Franța suprafața totală a podgoriilor este de 1.946 ha (aproape exact aceeași cu cea de acum cincizeci de ani, în ciuda unui declin din anii 1980) (Robinson J și colab., 2012).

La noi zona favorabilă de cultură a acestui soi, este cea a podgoriilor și centrelor viticole din Moldova, începând din nord (județele Botoșani, Iași) și până în sudul acestei provincii (județele Galați, Vrancea). Datorită plasticității sale ecologice pronunțate, Aligoté-ul prezintă eficiență economică în ecocliate variate începând de la cel răcoros, în nordul județului Iași și până pe nisipurile și solurile intens nisipoase din județul Brăila.

La nivelul întregii țări, soiul Aligoté, este inclus în sortimentul a 61 de centre viticole situate în 10 județe, figurând pe poziția de „soi recomandat” în 29 de areale (Alexandrescu și colab., 1994).

Particularități ale vinurilor

Vinul Aligoté este un vin de calitate superioară ce reușește să impresioneze deosebit prin aromele sale și unicitatea soiului. Vinul se prezintă cu o culoare galben – verzuie, intensă, limpezime cristalină, cu arome ce se aseamănă perfect cu cele de ananas și citrice. Gustul său debutează cu o amprentă proaspătă, revigorantă, de fructe de vară, cu urme discrete de mentă și agrișe albe bine coapte, amintind de tente

discrete dulci-acrișoare (Codreanu, 2014). Vinul obținut este unul fructat, echilibrat și plin de prospețime (Cotea și colab., 2003). Prin aciditatea relativ ridicată și aromele sale grațioase și discrete, Aligoté-ul devine o alegere surpriză (Cotea și colab., 2000).

Aroma cu tentă minerală, specifică soiului, puțin ierboasă când vinul este tânăr, se înobilează după câteva luni de păstrare. Foarte răcoritor, cu un post-gust suficient de lung, susținut de onctuositatea sa, alcool integrat aproape perfect, un vin care pe parcursul zilelor toride, alături de preparate din pește sau aperitive se dovedește a fi alegerea ideală (Codreanu, 2014).

Vinul Aligoté este acum apreciat de iubitorii de vinuri pentru vioiciunea sa și calitățile sale de a potoli setea fiind popular printr-o clientelă tânără.

Olfactiv, vinul ne oferă o gamă de arome delicioase de fructe cu carne albă, floare albă, piersică, lămâie, tei, salcâm, alun, măr verde și, uneori, chiar citrice. Gustativ, este întotdeauna remarcabil prin prospețimea sa, cu note saline și o aciditate fructată care asigură o persistență îndelungată. Vinul este ideal ca aperitiv în aer liber în grădină, la un prânz pe malul râului, pentru a însoți un grătar sau pentru o cină cu prietenii lângă șemineu, Aligoté este acompaniamentul perfect pentru un eveniment convivial și este ideal pentru a fi savurat împreună cu familia, prietenii și colegii.

Acest vin îmbunătățește minunat notele saline ale fructelor de mare și ale stridiilor. Alături de carnea albă, cum ar fi carnea de pasăre sau friptura de porc, sau la sfârșitul mesei cu brânză proaspătă sau învechită, cum ar Crottin Chavignol, vinul este o asociere sublimă.

5.1.3. Descrierea produselor levuriene luate în studiu

5.1.3.1. *Fermactive® Sauvignon Blanc*

Prezentare

Este o levură aparținând speciei *S. cerevisiae*. Prezența fenotipului *Killer* și a caracterului crioofil ce îi asigură o implementare rapidă în mediul fermentativ, cât și o fermentație alcoolică regulată și completă a zaharurilor la temperaturi scăzute. Este o levură selecționată *S. cerevisiae* destinată obținerii vinurilor de calitate superioară din soiul Sauvignon blanc și din alte soiuri aromate și semiaromate (Croitoru, 2009).

Caracteristici

Caracteristici fermentative:

- Posedă fenotipul *Killer*;
- Prezintă o perioadă foarte scurtă de latență (< 6 ore), astfel încât declanșează rapid fermentația alcoolică chiar și în condiții tehnologice restrictive;
- Posedă o activitate fermentativă regulată, astfel exclude posibilitatea unor creșteri anormale de temperatură;
- Are o putere alcooligenă ridicată, deoarece poate atinge concentrații alcoolice de până la 15% vol. alc.;

- Randamentul zaharuri/alcool este superior altor levuri selecționate, întrucât, produce 1% vol. alc. prin metabolizarea a numai 16,2 g. zaharuri/L.
- Intervalul temperaturilor optime de fermentare alcoolică se recomandă a fi cuprins între 10 și 24 °C.

Caracteristici tehnologice:

- Evidențiază o excelentă rezistență la SO₂;
- Produce un conținut redus de acizi volatili cu o medie sub 0,15 g/L;
- Capacitatea de spumare este aproape nulă;
- Producția de hidrogen sulfurat este neglijabilă;
- Manifestă un caracter crioofil accentuat, ce îi permite declanșarea fermentației alcoolice în musturi cu temperaturi mai scăzute;
- Producția de glicerol este ridicată, fiind în medie 6,8 g/L.

Produsul Fermactive® Sauvignon Blanc respectă următoarele caracteristici microbiologice: nivelul de contaminare cu bacterii lactice este nesemnificativ, fiind situate sub limita normal de 10⁴ celule/g; nu conține germeni poluanți patogeni și nici toxinele acestora; produsul este lipsit de germeni coliformi, streptococi fecali și bacterii sulfito-reducătoare din genul *Clostridium* (Croitoru, 2009).

Caracteristicile privind garantarea calității sunt:

- densitatea de celule viabile mai mare de 2×10^{10} /g;
- conținutul în substanță uscată de $96 \pm 1\%$;
- pierderea de eficacitate biologică să fie în medie de 10÷15%/an, în funcție de temperatura de păstrare (situată în intervalul 10÷15 °C), cu mențiunea că printr-o conservare la temperaturi de 3÷5 °C populația de celule viabile nu este afectată (Croitoru, 2009).

Caracteristici senzoriale: Fermactive® Sauvignon Blanc se recomandă pentru soiul Sauvignon blanc, datorită metabolismul său ce produce cantități ridicate de esteri, polizaharide și glicerol asigurând obținerea unor vinuri cu un caracter olfactiv elegant și persistent, și un caracter gustativ franc și armonios. Această levură relevă tipicitatea soiului Sauvignon blanc deoarece favorizează evidențierea aromelor varietale exprimate prin următorii descriptori analitici volatili: 4 – metil – mercaptopentan – 2 – onă (4MMP), ce exprimă aromele de merișor și linte; 3 – mercaptohexanol (3MH), ce relevă simbioza dintre aromele de merișor, citrice, grapefruit și fructul pasiunii.

Aplicații oenologice: se recomandă mai ales în cazul soiului Sauvignon blanc, datorită metabolismului său ce produce cantități mari de esteri, polizaharide și glicerol asigurând obținerea unor vinuri cu un caracter olfactiv fin, persistent și elegant, și un caracter gustativ franc și accentuat, ce evidențiază onctuositate și armonie. Datorită timpului de latență scurt și caracterului său criotolerant foarte accentuat, se recomandă elaborarea vinurilor albe și roze obținute prin macerația la rece a mustuielii și fermentații alcoolice regulate chiar și la temperaturi scăzute.

Datorită caracteristicilor sale levura Fermactive® Sauvignon Blanc se poate utiliza cu succes la elaborarea vinurilor provenite din soiuri aromate și semiaromate.

Alte caracteristici

Dozele recomandate pentru majoritatea levurilor selecționate sunt cuprinse în intervalul 10÷20 g/hL; unele levuri selecționate necesită doze mai ridicate de până la 25 g/hL cât și condiții mai speciale de utilizare.

În cazul levurii Fermactive® Sauvignon Blanc, se recomandă doze cuprinse între 10 și 30 g/hL must sau 100 kg. mustuială. Se rehidratează levurile uscate active în apă încălzită la maximum 40 °C și îndulcită cu must concentrat steril sau zaharoză. Perioada de latență a suspensiei apoase omogene astfel obținute, trebuie să fie de cel puțin 20÷30 minute. Se recomandă un raport volumic de 1:10 între cantitatea de levuri administrată și volumul soluției apoase îndulcite. Suspensia apoasă omogenă ce conține levuri aflate într-o fază avansată de multiplicare, se introduce fie în mustul limpezit în prealabil, fie în mustuială, asigurând o omogenizare optimă a mediului fermentativ cu mediul biologic rehidratat (Croitoru, 2009).

Stabilitatea și activitatea fementativă a levurilor Fermactive® Sauvignon Blanc este influențată de temperatura și perioada de conservare. Temperatura este factorul dominant în vederea conservării unei viabilități celulare maxime a levurilor în cursul depozitării. Își pot conserva viabilitatea celulară astfel: 3 ani – la o temperatură constantă sub 5 °C; 2 ani – la o temperatură constantă sub 10 °C. La temperaturi de 15÷20 °C, preparatele comerciale de levuri selecționate suferă o pierdere importantă de viabilitate celulară în numai câteva luni ce poate depăși uneori 10÷15%.

Produsul Fermactive® Sauvignon Blanc este ambalat sub vid. Comercializarea sa se face în pungi (dintr-un laminat multistrat) ce au o greutate de 500 g, ambalate în cutii de carton cu 20 de unități ce asigură un conținut net de 10 kg (Croitoru, 2009).

Levura Fermactive® Sauvignon Blanc face parte din categoria levurilor selecționate destinate producției vinicole; a fost obținut în conformitate cu reglementările UE, acesta neavând sursă de proveniență O.M.G. (organisme modificate genetic) (Croitoru, 2009).

5.1.3.2. Fermol Candy®

Prezentare

Este o levură uscată activă *S. cerevisiae* pentru vinificarea vinurilor tinere albe, roz și roșii, rezultată prin hibridizare în colaborare cu Institutul Francez al Viei și Vinului, pole Val-de-Loire (Franța).

Caracteristici

Descrierea tehnică. Levurile oferite de AEB sunt rezultatul unor selecții riguroase făcute în colaborare cu prestigioase institute de cercetare. Gama extinsă

disponibilă se caracterizează prin capacitatea sa de a genera precursori aromatici, de a produce esteri și acetati în timpul fermentației alcoolice, în cantități și proporții variabile, de a sintetiza glicerină, acizi și manoproteine. Toate levurile selectate sunt caracterizate din punct de vedere tehnologic și produc cantități extrem de limitate de compuși care ar putea interfera cu calitatea vinurilor.

Fermol Candy® este o levură selecționată datorită caracteristicilor sale senzoriale, care dezvoltă arome de fermentație și îmbunătățește profilul senzorial al vinurilor, oferind note și arome amilice care amintesc de bomboane și fructe galbene. Este ideal pentru prelucrarea vinurilor albe, roz și roșii tinere. Aceasta poate fi utilizată pentru fermentarea musturilor obținute prin fermentare rece pre-fermentativă sau în cazul unei microflore considerabile nedorite. Se înmulțește foarte ușor și dă rezultate bune la temperaturi de fermentare peste 12 °C.

Compoziție și caracteristici tehnice:

- Timp de așteptare: scurt;
- Cinetică de fermentare: rapidă;
- Temperaturi de fermentare: > 12 °C;
- Producția de spumă: Scăzută;
- Randament zahăr / alcool: 16,8 g zahăr / L pentru 1% vol. alc.;
- Puterea alcoolică: 14,7%;
- Producția de acetat de izoamil: > 7 mg/L;
- Producția de glicerol: > 6,5 g/L;
- Producție AV: scăzută;
- Conține sorbitan monostearat (E491).

Alte caracteristici

Dozele recomandate și mod de utilizare: Dozele recomandate sunt cuprinse între 10 și 30 g/hectolitru de recoltă sau pe hL de must.

Se rehidratează în 10 părți apă caldă, la care s-a adăugat zahăr, max. 38 °C timp de cel puțin 20÷30 de minute. Se sugerează adăugarea Fermoplus Energy la apa de reactivare la raportul 1/4 din levură. Studiile efectuate arată că adăugarea de Fermoplus Energy crește numărul de celule vii cu aproximativ 30% la 6 ore după reactivare.

Ambalare. Produsul este obținut prin ambalat în vid, comercializarea sa fiind făcută în pachete, ce au o greutate de 500 g., ambalate în cutii de carton cu 20 de unități ce asigură un conținut net de 10 kg.

În ceea ce privește depozitarea, se păstrează în ambalajul original într-un loc uscat, răcoros și fără mirosuri la temperaturi sub 20 °C.

5.1.3.3. Levulia® Esperide

Prezentare

Levura Levulia® Esperide este rezultată prin hibridizare, selectată de Institutul Francez al Viei și Vinului (IFV Pôles Val de Loire) și OENOLIA CONSEIL Immélé, se recomandă pentru revelația aromatică a vinurilor albe și roz. Produsul combină caracteristicile interesante a două levuri preselectate care evidențiază tipicitatea și intensitatea aromatică a vinurilor.

Favorizează producția de arome de fermentație și a tiolilor varietali, mai ales 3-mercaptohexan-1-ol (sau 3-MH), caracteristic aromelor de citrice și fructe tropicale.

În fermentație la temperaturi scăzute (12÷16 °C), prezintă o tendință aromatică mai amilică prin producția sa de esteri și acetați (florale, pere, căpșuni).

Levulia® Esperide este ideală pentru obținerea vinurilor roz și cupaje din struguri albi, cum ar fi Chardonnay, Riesling, Sauvignon, permițând producția de vinuri gourmet, expresive și originale.

Caracteristici

Compoziție și caracteristici tehnice:

- Levură hibridă: *S. cerevisiae* (fenotipul *Killer*);
- Populație viabilă > 10¹⁰ levuri/g;
- Umiditate: <8%;
- Toleranță la alcool: 14,5% vol. alc.;
- Temperatura optimă de fermentare: 15÷20 °C;
- Conservant: conține monostearat de sorbitan (E491);
- Nu conține OMG-uri și nu a fost supus unui tratament ionizat Levulia®

Esperide respectă standardele Codului Oenologic Internațional.

Alte caracteristici

Dozele recomandate și mod de utilizare: dozele recomandate la musturile albe sau roz sunt cuprinse între 10 g/hL și 25 g/hL pe musturile puternic deburbate;

Se rehidratează 500 g de levuri în 5 litri de apă la 38 °C, se ține 30 de minute, apoi se dublează cantitatea cu must sau un amestec de apă (4,5 L) și zahăr (1 Kg); după care se așteaptă încă 30 de minute urmând administrarea în vas.

Precauții de utilizare

- Levură sensibilă la SO₂;
- Evitarea șocurilor termice peste 8 °C în timpul inoculării;
- În caz de deburbare intensivă (NTU (unități nefelometrice) <50),

adăugarea activatorului de fermentație este esențială.

Ambalare și conservare: în pungă de 500 g sau Cutie de (20 × 500 g) = 10 Kg. Se recomandă păstrarea în ambalajul original, într-un loc uscat, răcoros și fără mirosuri. După deschidere, se utilizează rapid, păstrarea fiind recomandată a fi

făcută la frigider, iar depozitarea în plicul original sigilat. Rata de mortalitate <10% pe an la 10 °C (Croitoru, 2009).

5.1.3.4. Zymaflore® X5

Prezentare

Zymaflore® X5 combină revelația excelentă a aromelor varietale de tip tiol (în special 4MMP) și producția de arome cu fermentație ridicată, se potrivește perfect producției de vinuri albe și roz, moderne (Popular Premium, Premium), proaspete și complexe, garantând siguranța fermentării chiar și în condiții dificile: turbiditate scăzută, temperatură scăzută. Această levură a fost achiziționată de de la firma Laffort din Australia.

Caracteristici:

Caracteristici de fermentare:

- Toleranță la alcool: până la 16% vol;
- Cerințe de azot medii până la mari;
- Toleranță la temperatură scăzută: de la 13 °C;
- Toleranță la turbiditate scăzută (<50 NTU);
- Producție redusă de aciditate volatilă și hidrogen sulfurat.

Caracteristici aromatice: Profil aromatic complex și intens:

- Revelație foarte mare a aromelor varietale de tip tiol (4MSP, 3SH, 3SHA: cimișir, citrice, fructe tropicale).
- Bună producție de arome de fermentație (IA, PEA, PE: fructat, floral).

Caracteristici fizice:

- Levură deshidratată	ambalată sub vid
- Aspect	granular
- Analiza chimică și microbiologică	
- Umiditate (%)	8%
- Levură uscată activă (ADY) (CFU / g)	≥ 2.1010
- Bacterii lactice (CFU / g)	<105
- Bacteriile acetice (CFU / g)	<104
- Levuri dintr-un alt gen decât <i>Saccharomyces</i> (CFU / g)	<105
- Levuri dintr-o altă specie (%)	<5
- Coliformi (CFU / g)	<102
- <i>E. coli</i> (/ g)	Nici unul
- <i>Stafilococ</i> (/ g)	Nici unul
- <i>Salmonella</i> (/ 25 g)	Nici unul
- Matrile (CFU / g)	<103
- Plumb (părți per milion/ppm)	<2
- Arsenic (ppm)	<3
- Mercur (ppm)	<1
- Cadmiu (ppm)	<1

Protocol de utilizare condiții oenologice:

- Se inoculează levura cât mai curând posibil după rehidratare;
- Se respectă doza prescrisă pentru a asigura o bună implementare a levurii, chiar și în cazul abundenței de levuri indigene;
- Temperatura, levurile, rehidratarea și igiena cramei sunt, de asemenea, esențiale pentru implementarea cu succes.

Alte caracteristici:

Dozare: 20÷30 g/hL (200÷300 ppm).

Implementare:

- Se respectă cu atenție protocolul de rehidratare a levurii indicat pe pachet.
- Se evită diferențele de temperatură care depășesc 10 °C între must și levură în timpul inoculării. Timpul total de rehidratare a levurii nu trebuie să depășească 45 de minute;

Recomandare de păstrare: se depozitează deasupra nivelului solului într-o zonă uscată care nu poate produce mirosuri. Păstrarea se face la o temperatură moderată, în ambalajul său original, nedeschis. Ambalare Pungă de vid de 500 g. în cutie de 10 kg.

5.2. Variantele tehnologice luate în studiu

În vederea realizării obiectivelor propuse, în lucrarea de față s-au luat în studiu două soiuri de struguri, unul cosmopolit – Aligoté și unul autohton – Fetească regală. Studiul s-a realizat pe parcursul anului 2015. Strugurii luați în studiu au fost puși la dispoziție de S.C. CASA OLTEANU S.R.L., din producție proprie. Întregul proces de obținere al strugurilor fiind atent monitorizat începând cu lucrările din toamnă (arat, subsolaj) până la recoltat, urmat de vinificat.

Caracteristicile fizico-chimice ale strugurilor materie primă în momentul recoltării sunt prezentate în tabelul 5.2:

Tabelul 5.2/ Table 5.2

Caracteristicile fizico-chimice ale strugurilor de Aligoté și Fetească regală
Physico-chemical characteristics of Aligoté and Fetească regală grapes

Producția anului 2015/ recoltat la data de: 19.09. 2015/29.09. 2015				
Nr. crt.	Soi	Aciditate totală (g/L C ₄ H ₆ O ₆)	pH	Substanțe reducătoare (g/L)
1	Aligoté	8,01	3,05	191
2	Fetească regală	7,73	3,1	194,5

Urmărind datele prezentate în tabelul 5.2 și în mod deosebit valorile parametrului substanțe reducătoare, se poate observa că cele două soiuri de struguri luate în studiu au fost culese la maturitatea deplină. Prin urmare musturile rezultate îndeplinesc condițiile necesare, în vederea obținerii de vinuri DOC – CMD, cerința minimă conform legislației OIV fiind de a avea un conținut de zaharuri în must de cel puțin 187 g/L.

Aciditatea totală a avut valori de 7,73 g/L (acid tartric), în cazul musturilor obținute din soiul Fetească regală, iar la musturile obținute din soiul Aligoté acest parametru a prezentat valori mai mari 8,01 g/L (acid tartric), specifice pentru acest soi.

Recoltarea strugurilor s-a efectuat manual, în recipiente din plastic de 8 Kg pe rândul de vie. Transportul la cramă s-a realizat în lădițe din plastic cu o greutate medie de 15 Kg, cu ajutorul unor remorci. Prelucrarea materiei prime a avut loc în interiorul societății S.C. CASA OLTEANU S.R.L., societate, care a pus la dispoziție spațiile și aparatura din dotare pentru prelucrarea strugurilor și a mustului. Pentru determinarea acizilor și a compușilor volatili, probele au fost transportate spre a fi analizate la laboratorului de Oenologie al Facultății de Horticultură-Iași unde s-a folosit aparatura specializată din dotare.

Strugurii aparținând celor două soiuri au fost procesați separat, urmând fluxul tehnologic specific de obținere a vinurilor albe aromate, acesta fiind prezentat și în fig. 5.3.

După cum se poate observa și în fig. 5.3, după ce s-a realizat recepția calitativă și cantitativă a strugurilor pe soiuri, s-a aplicat o desciorchinare-zdrobire, utilizând desciorchinătorul-zdrobitor Delta E2 de la firma Bucher Vaslin. Aplicarea operației de desciorchinare a avut ca scop principal diminuarea contactului dintre ciorchine și mustuală, evitând în acest mod trecerea în must și mai apoi în vin a unor cantități considerabile de componente chimice responsabile de apariția unor caracteristici nedorite precum caracterul erbaceu și astringența. Simultan cu aplicarea operației de desciorchinare s-a realizat și o ușoară zdrobire a strugurilor pentru a favoriza extragerea precursorilor de aromă.

Mustuală rezultată s-a vehiculat cu ajutorul unei fulopompe către presa pneumatică XPF 40, moment în care s-a efectuat o enzimare cu produsul Lafazym extract în doză de 3 g/hL și Endozym® β -Split în doze de 4 g/hL (prima enzimă favorizează extracția precursorilor aromatici și limpezirea mustului, iar a doua enzimă este una pectolitică cu o puternică activitate β -glucozidazică, care crește intensitatea aromatică a vinurilor), o ușoară sulfitare cu o soluție de SO₂ 6% într-o doză de 25 mg/L SO₂ (pentru protejarea împotriva oxidării) și s-a administrat taninul galic Gallovin în doză de 8 g/hL (folosit pentru: reactivitatea sa ridicată față de proteine, ce reduce activitatea lacazelor și a tirozinazelor, protejând culoarea

mustului și a vinului; protejarea prospețimii aromatice prin eliminarea mirosurilor străine (hidrogen sulfurat) și pentru caracterul antioxidant ce ajută la folosirea unor doze mai mici de SO_2). Înainte de presare s-a efectuat o macerație prefermentativă pe o durată de două ore. Presiunea maximă de lucru a preseii este de doar 2 bari. Pentru atingerea acestei presiuni, presa realizează mai multe cicluri, astfel încât la sfârșitul presării, semințele de struguri rămân intacte, tegumentele nefiind strivite. Prin această presare s-a realizat extracția „blândă” a componentelor dorite din părțile solide ale strugurilor, evitând migrarea taninurilor, și a unor compuși fenolici ce ar fi putut avea o influență negativă asupra calității viitorului vin.

În același timp este necesar să se menționeze faptul că aplicarea unei presării superficiale conduce la obținerea unui must ravac uniform din punct de vedere compozițional și mai ușor fermentescibil. Mustul rezultat a fost divizat în două părți: must ravac și must de presă. În prezentul studiu a prezentat interes doar prima fracție, adică mustul ravac. Mustul astfel obținut a fost vehiculat în cisterne de oțel-inox de la Biomashinostroene prin intermediul unui schimbator de căldură, temperatura acestuia reducându-se brusc cu câteva grade Celsius. Scăderea temperaturii s-a efectuat în vederea realizării unei deburbări gravitaționale cât mai eficiente, în modul acesta apariția fermentațiilor spontane fiind blocate. Turbiditatea mustului deburbat a avut valori de 72 (NTU) pentru mustul provenit din soiul Aligoté și 91 NTU pentru soiul Fetească regală, determinate cu ajutorul turbidimetrului portabil HI83749. După efectuarea deburbării și omogenizării mustului s-a trecut la obținerea variantelor experimentale, în același timp, pentru a evita efectele de eșantionare. Musturile obținute au fermentat cu ajutorul unor levuri selecționate disponibile în comerț, dar și cu levuri din flora spontană conform tabelului 5.3.

Levurile folosite la cele două soiuri au fost diferite, la soiul Fetească regală folosind levuri specifice soiului Sauvignon blanc, soi care prezintă caracteristici asemănătoare.

Pe întreg parcursul fermentației alcoolice, evoluția mustului în vin a fost atent monitorizată și controlată. După 20 respectiv 21 de zile s-a aplicat tratamentul cu bentonită (Bentogran: 1g/L), clei de pește (Wineglass: 3g/hL) și au fost sulfitate cu o soluție de SO_2 6% în doză de 90 mg/L.

Prelevarea probelor a început din faza de must, unde s-a determinat aciditatea totală (metoda titrimetrică), pH-ul (cu ajutorul pH metrului) și concentrația în zaharuri fermentescibile (metoda refractometrică). Monitorizarea zilnică a fermentației alcoolice a început după deburbarea mustului, la fiecare soi și variantă, moment în care s-a determinat atât pH-ul cât și temperatura. Astfel s-au prelevat câte două probe de must în sticle de 0,5 L din fiecare variantă, una pentru determinarea ulterioară a acizilor și una pentru determinarea compușilor volatili. În cazul probelor prelevate pentru determinarea acizilor s-a efectuat o suprasulfitare a mustului cu o soluție de SO_2 6% în doză de 600 mg/L, urmând ca aceste probe să fie depozitate la

rece, în frigider la o temperatură de 6 °C, până în momentul pregătirii microprobelor. În cazul probelor prelevate pentru determinarea compușilor volatili, acestea s-au etichetat fiind depozitate cât mai rapid în congelatoare la o temperatură de -18 °C pentru a bloca fermentația alcoolică a mustului.

Ultima zi de prelevare a probelor a fost a doua zi după efectuarea stabilității proteice, moment în care vinul a fost îmbuteliat. Probele au fost ținute în condițiile menționate timp de șase luni până la pregătirea microprobelor.

Filtrarea și îmbutelierea vinurilor s-a făcut cu ajutorul unei mașini semiautomate de îmbuteliere (Enoveneta).

Datorită bazei de date foarte mare, fiecare variantă a fost reprezentată cu o culoare aleasă aleatoriu: 1 – culoarea maro, 2 – portocaliu, 3 – roșu, 4 – verde și 5 – galben, respectând paleta de culori pentru ambele soiuri studiate.

Variantele experimentale luate în studiu sunt prezentate mai jos, în tabelul 5.3 pentru mustul obținut din strugurii de Aligoté și tabelul 5.4 pentru mustul obținut din strugurii de Fetească regală.

Variantele A1 și F1- variante martor (fără adaos de levuri selecționate)

În acest caz, din mustul obținut din strugurii de Aligoté și Fetească regală, după realizarea operației de deburare s-a extras o fracție de 50 L în vase de sticlă de capacități mici (50 L), asigurând un gol de fermentare, necesar fermentației. Aceasta s-a desfășurat sub acțiunea levurilor indigene asigurând acestora activatori de fermentație și hrană pentru levuri în doze similare tuturor variantelor experimentale. Vasele s-au ținut în crămă pe toată durata fermentației alcoolice, amplitudinile de temperatură zi-noapte fiind astfel diminuate, evitând contactul cu aerul.

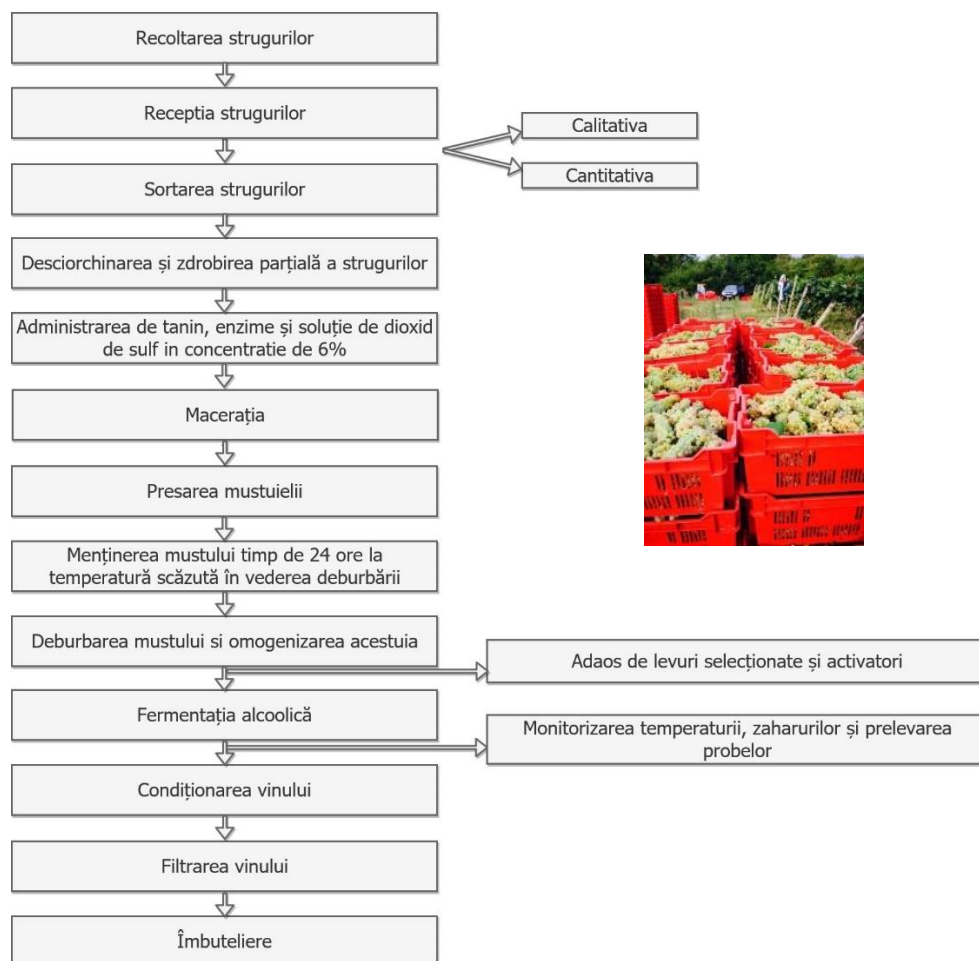


Figura 5.3 – Schema tehnologică de obținere a variantelor experimentale

Figure 5.3 – Technological scheme for obtaining experimental variants

Tabelul 5.3/ Table 5.3

Variantele experimentale pentru strugurii de Aligoté
Experimental variants for Aligoté grapes

VARIANTELE ALIGOTÉ	TRATAMENTELE APLICATE
Varianta A1 – varianta martor	- nu s-a efectuat însămânțare cu levuri selecționate - s-a aplicat tehnologia de vinificare în alb
Varianta A2	- adaos de levuri selecționate (Levulia® Esperide) - fermentat la vase mici de sticlă (50L)
Varianta A3	- adaos de levuri selecționate (Zymaflore® X5) - fermentat la vase mici de sticlă (50L)
Varianta A4	- adaos de levuri selecționate (Levulia® Esperide) - fermentat la vase de capacități industriale (cisterne 1000 L)
Varianta A5	- adaos de levuri selecționate (Zymaflore® X5) - fermentat la vase de capacități industriale (cisterne 1000 L)

Tabelul 5.4 /Table 5.4

Variantele experimentale pentru strugurii de Fetească regală

Experimental variants for Fetească regală grapes

VARIANTELE FETEASCĂ REGALĂ	TRATAMENTELE APLICATE
Varianta F1 – varianta martor	- nu s-a efectuat însămânțare cu levuri selecționate - s-a aplicat tehnologia de vinificare în alb
Varianta F2	- adaos de levuri selecționate (Fermol Candy®) - fermentat la vase mici de sticlă (50L)
Varianta F3	- adaos de levuri selecționate (Fermactive® Sauvignon Blanc) - fermentat la vase mici de sticlă (50L)
Varianta F4	- adaos de levuri selecționate (Fermol Candy®) - fermentat la vase de capacități industriale (cisterne 1000 L)
Varianta F5	- adaos de levuri selecționate (Fermactive® Sauvignon Blanc) - fermentat la vase de capacități industriale (cisterne 1000 L)

Variantele A2, A3, F2 și F3

Ca și în cazul variantelor anterioare, din mustul obținut din strugurii de Aligoté și Fetească regală, după realizarea operației de deburbare s-a extras o fracție de 50 L în vase de sticlă de capacități mici, asigurând un gol de fermentare, necesar fermentației. Fermentarea acestor musturi desfășurându-se sub acțiunea unui inocul de levuri selecționate, menționate în tabelele 5.3 și 5.4, asigurând acestora activatori de fermentație și hrană pentru levuri în doze similare tuturor variantelor experimentale. Fermentația s-a desfășurat pe o durată egală pentru toate variantele luate în studiu. Vasele au fost ținute în crămă pe toată durata fermentației alcoolice pentru a evita amplitudinile de temperatură zi-noapte.

Variantele A4, A5

După ce s-a extras must din cisterne pentru fermentarea la volume mici a celorlalte variante experimentale, fermentarea acestor musturi s-a desfășurat sub acțiunea unui inocul de levuri selecționate, prezentat anterior. Au fost asigurați activatori de fermentație și hrană pentru levuri în doze similare tuturor variantelor experimentale. Fermentația s-a desfășurat în cisterne, acestea fiind legate la un panou de comandă, asigurând un control termic pe toată durata fermentației alcoolice.

Variantele F4 și F5

După ce s-a extras must din cisternă pentru fermentarea la volume mici a celorlalte variante experimentale, din această cisternă, mustul omogenizat s-a împărțit în 2 cisterne. Fermentarea acestor musturi s-a desfășurat sub acțiunea unui inocul de levuri selecționate, separat pe fiecare variantă, menționat mai sus în tabelele, asigurând acestora activatori de fermentație și hrană pentru levuri în doze similare tuturor variantelor experimentale. Fermentația s-a desfășurat în cisterne, care au fost legate la un panou de comandă, asigurând un control termic pe toată durata fermentației alcoolice.

Pregătirea microprobelor pentru determinarea acizilor

În acest scop s-a realizat o filtrare grosieră cu ajutorul unui filtru de hârtie (porozitate medie de 5 μm) pe o pâlnie de polipropilenă cu un volum de 200 mL într-un flacon Erlenmayer de 100 mL. Flaconul se spală cu probă filtrată care se aruncă, secondat de umplerea flaconului. Se pune la filtrat volumul necesar (min. 20 mL). Cu o seringă de 5 mL se preia filtratul și se clătește tubul seringii de două ori. În capătul seringii se atașează un filtru molecular de nylon cu porozitate de 0,45 μm , care se spală cu o cantitate de cel puțin 2 mL de filtrat. Într-o fiolă de 2 mL se introduce filtratul trecut prin filtrul molecular, după ce fiola a fost clătită de două ori înainte de a fi umplută.

Pregătirea microprobelor pentru determinarea compușilor volatili

Probele congelate se lasă la decongelat, acestea urmând a fi filtrate grosier într-un flacon Erlenmayer cu ajutorul unor pâlnii de 200 mL cu filtru de hârtie grosieră (porozitate medie de 5 μm). Flaconul se spală cu filtrat de două ori și se îndepărtează la canal. Se filtrează minim 25 mL. Cu ajutorul unei pipete, clătite în prealabil cu filtrat, se prelevează 6 mL care se pun într-o fiolă de 20 mL, peste care se adaugă câte 0,3 g de clorură de sodiu (NaCl), sulfat de sodiu anhidru (Na_2SO_4) și fosfat acid de mono-potasic (KH_2PO_4).

5.3. Metode de analiză utilizate la determinarea principalilor parametri fizico-chimici

5.3.1. Pregătirea probelor pentru analiză

Probele medii de struguri colectate pentru fiecare soi în parte au fost supuse operației de zdrobire parțială, aceasta realizându-se în laborator cu ajutorul unui mojar. Mustuiala rezultată a fost inițial filtrată grosier prin tifon medical, aplicându-se mai apoi o nouă filtrare prin hârtie de filtru asigurând astfel reținerea particulelor coloidale de dimensiuni mai mici pe suprafața poroasă a hârtiei de filtru și obținerea unui mediu cu un grad de limpiditate mai ridicat.

În vederea determinării parametrilor fizico-chimici ai vinurilor obținute din soiurile Fetească regală și Aligoté obținute în urma aplicării tratamentelor prefermentative, probele au fost supuse într-o primă etapă operației de filtrare și decarbonatare. Operația de filtrare s-a realizat prin trecerea vinului prin hârtie de filtru într-un balon Büchner (Kitasato/Bunsen). Decarbonatarea sau eliminarea CO_2 remanent din probe s-a efectuat prin agitarea acestora cu ajutorul unui agitator magnetic simultan cu extracția vaccumetrică prin intermediul unei pompe de vid Vaccubrand ME 4R NT asigurată cu un spălător de gaze la un nivel de presiune de 500 mbar pentru o perioadă de 5÷10 minute, până nu se mai constată degajarea de gaz din mediul parțial vidat.

5.3.2. Determinarea parametrilor fizico-chimici la must

Determinarea acidității totale a mustului s-a efectuat conform metodei de determinare a acidității vinului, prin neutralizarea acizilor din must cu o soluție alcalină, în cazul de față NaOH 0,1 N (hidroxid de sodiu).

Determinarea substanțelor reducătoare (în majoritate monozaharide) din must s-a realizat prin metoda refractometrică (OIV- MA- AS2- 02) prezentată în Compendiul internațional de metode de analiză OIV utilizând un refractometru Krüss DR201-95 care asigură și corecția de temperatură la 20 °C.

5.3.3. Determinarea parametrilor fizico–chimici principali la vin, la variantele tehnologice luate în studiu

Analizele caracteristicilor compoziționale a variantelor tehnologice luate în studiu, s-au efectuat în cadrul Laboratorului de Oenologie al Universității de Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași. Analizele fizico-chimice au fost efectuate pe baza unor metode acreditate, indicate de standardele de stat și literatura de specialitate, precum și a celor impuse de către OIV. Astfel, la probele analizate s-a efectuat determinarea următorilor parametri fizico-chimici: concentrația alcoolică; aciditatea volatilă; aciditatea totală; determinarea SO₂ liber și total; substanțele reducătoare; extractul sec total și nereducător; pH-ul.

Determinarea concentrației alcoolice a fost efectuată conform STAS 6182/6-70, prin distilare simplă cu aparatul Dujardin-Salleron DE 2000 (fig. 5.4) și determinarea conținutului în alcool al distilatului folosind un alcoolmetru de mână, exprimarea fiind făcută în % v/V (de volum).



Figura 5.4 – Distilator-extractor automat Dujardin-Salleron DE 2000 (original)
 Figure 5.4 – Automatic distiller-extractor DUJARDIN-Salleron DE 2000 (original)

Aciditatea volatilă a fost determinată în acord cu prevederile STAS 6182/2-86, fiind dată de acizii volatili liberi sau sub formă de săruri (butiric, formic, propionic, acetic). Principiul metodei constă în antrenarea cu vapori a acizilor volatili într-un distilator (fig. 5.4) și titrarea distilatului obținut cu o soluție de NaOH 0,1 N, folosindu-se fenolftaleinei, ca indicator. Aciditatea volatilă s-a exprimat în g/L acid acetic.

Aciditatea totală a fost determinată conform STAS 6182/1-79 cu ajutorul metodei potențimetrice, prin titrarea probei de vin cu o soluție de NaOH 0,1 N, după ce în prealabil s-a eliminat CO₂ și SO₂; rezultatele exprimându-se în g/L acid tartric.

Substanțele reducătoare au fost determinate prin metoda unică Luff-Schoorl prin dozarea iodometrică a excesului de ioni cuprici de către monozaharide, într-un mediu alcalin, la cald în reflux. Valorile finale ale acestui parametru, exprimate în g/L substanțe reducătoare, s-au obținut cu ajutorul tabelelor și formulelor de calcul.

Pe baza diferenței dintre parametrul determinat anterior (substanțele reducătoare) și extractul sec total (prin calcul după formula Tabarié) se obține extractului nereducător. Pe baza diferenței dintre densitatea relativă a probei de vin și densitatea relativă a amestecului hidroalcoolic cu aceeași concentrație alcoolică ca a probei de vin, s-a determinat parametrul densității relative a soluției apoase a extractului, din care se deduce conținutul în extract total corespunzător din tabelele de calcul exprimându-se în g/L (substanțe uscate).

Determinarea pH-ului s-a efectuat cu pH-metrul WTW 350i/SET (fig. 5.5). Înainte de utilizare, electrodul de sticlă SenTex81 al pH-metrului a fost etalonat cu ajutorul unor soluții etalon de pH 4,01 și 7,00 la 20 °C. Softul de achiziție permite înregistrarea parametrilor urmăriți la temperatura de 20 °C.



Figura 5.5 – pH-metrul WTW 350i/SET folosit pentru determinarea pH-ului (Moroșanu, 2019)

Figure 5.5 – pH-meter WTW 350i/SET used for pH determination (Moroșanu, 2019)

5.3.4. Determinarea acizilor din timpul procesului fermentativ și din vin

Cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC) se utilizează pentru analiza de substanțe chimice care în general nu sunt stabile la tranziții de fază. HPLC are la bază mecanisme de adsorbție, asocieri moleculare precum și efecte fizice/chimice induse, care diferă în funcție de faza staționară folosită.

Metoda implică o fază staționară care este solidă de obicei, prezentă printr-o coloană de oțel inoxidabil, și o fază lichidă care este mobilă. Separarea componentelor unei soluții se separă în funcție de diferențele vitezelor de distribuție relative ale substanțelor dizolvate între cele două faze (The International Pharmacopoeia, 2015)

Sistemul (fig. 5.6) are în componența sa un sistem de pompare, un injector, o coloană cromatografică, două faze dintre care una staționară și una mobilă, tuburi și fittinguri pentru conectare, un detector și un sistem de calcul pentru preluarea și procesarea semnalelor înregistrate.

1. Principiul metodei

Acizii organici pot fi determinați utilizând două coloane cu următoarele faze staționare: una de silice grefată cu octil și o altă coloană cu rășină schimbătoare de ioni. Acizii sunt determinați prin spectrometrie de absorbție în ultraviolet.

Pentru determinarea acizilor malic și tartric este de preferat utilizarea unei coloane de silice derivatizată cu octil, iar pentru acizii citric și lactic, o coloană cu rășină schimbătoare de ioni. Determinarea cantitativă a acestor acizi se realizează prin comparație cu o soluție standard externă analizată în condiții similare.

Această metodă este deopotrivă utilizată și pentru determinarea cantității de acid: shikimic, acetic, succinic și fumaric.

2. Aparatură și accesorii

- a. Membrană filtrantă din celuloză (porozitatea de 0,45 μm)
- b. Cartușe tip SPE umplute cu silice grefată cu octadecil (C18)
- c. Cromatograf de înaltă performanță compus din:
 - injector cu volum de 10 μL ,
 - cuptor de coloane,
 - detector spectrofotometric capabil să facă determinări la valoarea de 210 nm,
 - sistem de colectare a datelor tip înregistrator, integrator sau sistem de calcul cu interfață.

Condițiile determinărilor:

2.1. la determinarea acizilor: citric, lactic și acetic:

- coloană HPLC (Cromatografie lichidă de înaltă performanță) cu rășină schimbătoare de ioni puternică tip H^+ (lungime de 300 mm, diametru intern de 7,8 mm, dimensiunea particulei de 9 μm) (exp.: BIORAD HPX-87 H),
- faza mobilă: soluție de acid sulfuric 0,0125 mol/L,
- debit de eluție: 0,6 mL/min.,
- temperatură determinării: 60÷65 °C (depinde de tipul de rășină utilizată).

2.2 la determinarea acizilor: fumaric, succinic, shikimic, lactic, malic și tartric:

- două coloane (lungime de 250 mm, diametru intern de 4 mm, particule sferice cu diametru de 5 μm) puse în serie, umplute cu o compoziție de silice grefată cu grupări octil,
- faza mobilă: soluție de fosfat acid mono-potasic (KH_2PO_4) 70 g/L și sulfat de amoniu ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) 14 g/L, ajustat la pH 2,1 prin adaos de acid fosforic,
- debit de eluție: 0,8 mL/min.
- temperatura determinării: 20 °C.

3. **Reactivi:** dintre aceștia fac parte: apă distilată calitate HPLC, metanol calitate HPLC, acid tartric, acid malic, lactat de sodiu, acid shikimic, acetat de sodiu, acid succinic, acid citric, acid fumaric, acid sulfuric ($p^{20} = 1,84 \text{ g/mL}$), soluție de acid sulfuric, 0,0125 M, KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, acid orto-fosforic, 85% ($p^{20} = 1,71 \text{ g/mL}$), soluție de referință compusă din: 5 g/L acid tartric + 5 g/L acid malic + 6,22 g/L lactat de sodiu + 0,05 g/L acid shikimic + 6,83 g/L acetat de sodiu + 5 g/L acid succinic + 0,01 g/L acid fumaric și 5 g/L acid citric.

4. Modul de lucru

a. Pregătirea probei

La început se va spăla cartușul SPE cu 10 mL metanol și apoi cu 10 mL apă.

Se va degaza proba de vin sau must. Se filtrează prin membrana de 0,45 μm .

Un volum de 8 mL din proba filtrată se i-a într-o seringă spălată în prealabil cu probă și se injectează în cartuș SPE. Primii 3 mL de eluent nu se colectează, importanți fiind următorii 5 mL (având grijă să nu se usuce cartușul sau SPE).

b. Analiza cromatografică

Se injectează succesiv în HPLC 10 μL soluție de referință și 10 μL soluție de lucru. Se repetă această procedură de trei ori cu aceeași probă.

5. Calculul rezultatelor

a. Analiza calitativă

Se determină diferenții timpi de retenție pentru fiecare eluat.

Ordinea de eluție a acizilor organici din soluția de referință este următoarea:

- citric, tartric, malic, succinic + shikimic, lactic, fumaric și acetic dacă se lucraază conform 2.1

- tartric, malic, shikimic, lactic, acetic, citric, succinic și fumaric dacă se lucraază conform 2.2

b. Analiza cantitativă

Se va măsura aria fiecărui pic din cele trei injecții la fiecare cromatogramă și media aritmetică va fi valoarea cantității de compus luat în analiză atât în cazul soluției de referință cât și la proba luată în lucru. Cantitatea de acid se va determina conform regulilor analitice.

6. Exprimarea rezultatelor

- se face în g/L în cazul acizilor: tartric, malic, lactic, citric, acetic și succinic și în miligrame per litru (mg/L) pentru acizilor shikimic și fumaric (Niculaua, 2010).



Figura 5.6 – Echipament Shimadzu LC-DAD (original)

Figure 5.6 – Shimadzu LC-DAD (original)

5.3.5. Determinarea compușilor volatili din vin

Conform lui Rapp (1988), investigațiile timpurii asupra compușilor volatili ai vinului datează din anul 1942. În plus, a fost folosită cromatografia în fază gazoasă pentru prima dată spre sfârșitul anilor 1950 pentru determinarea compușilor aromatici din vin, urmând ca această metodă să fie folosită în anii următori de mai multe instituții de cercetare. Îmbunătățirea constantă a metodelor de determinare au condus la o perspectivă mereu îmbunătățită asupra compoziției complexe a aromei vinurilor (Rapp, 1988).

Cromatografia se bazează pe faptul că diferite substanțe trec de un sistem format dintr-o fază mobilă și o fază staționară cu afinități chimice diferite. Faza staționară constă dintr-un material de cele mai multe ori în fază solidă ambalat în tuburi adecvate (coloane) de cuarț, sticlă sau metal. Faza mobilă prezintă o entropie/fugacitate superioară precum la lichide/gaze/plasmă și este trecută prin coloană, unde diferitele componente sunt separate prin fenomene în special fizice. Determinarea se efectuează pe faza mobilă cu un detector adecvat. În cromatografia de gaze GC, faza mobilă este un gaz cât mai inert (heliu, azot sau hidrogen). Introducerea probei în sistemul de analiză se realizează prin injectarea probei într-un orificiu de intrare încălzit care să permită transferul doar a compușilor volatili (cu tranziție în fază gazoasă stabilă) (Linskens și Jackson, 1988).

Pentru a efectua determinarea compușilor volatili, toate probele au fost analizate folosind un GC cuplat la un spectrometru de masă (Shimadzu HS 20trap - GC 2010plus - MS8040TQ) (fig. 5.7). Sistemul folosește ca gaz purtător heliu 6.0 (puritate 99,9999%), iar materialul de adsorbție din capcană de tip head-space (HS) este o fază staționară de rășină de 2,6-difenilen oxid (TENAX). Într-o fiolă de 20 mL se introduce 10 mL de probă (vin) pentru analiza compușilor volatili prin intermediul fracției de vapori (fracția gazoasă din spațiul interior liber al fiolei sau HS), peste care se adaugă un amestec de 1 g din următoarele săruri: NaCl, Na₂SO₄ și KH₂PO₄, pentru dezlocuirea fracției organice din probă; metodă cunoscută și ca sărare (dezlocuire solvolică). Probele sunt încălzite la 70 °C și se agită cu 25 rpm timp de 5 minute pentru echilibrarea între faza lichidă și cea gazoasă (HS). Flacoanele au fost presurizate la 60 KPa cu He pentru a elimina condensul. Fracția volatilă este transferată într-o capcană chimică cu Tenax răcită la -10 °C printr-o linie de transfer la încălzită la 150 °C. Înainte de injecție timp de o jumătate de minut, capcana este purjată pentru uscare, iar apoi substanțele volatile sunt transferate de pe trată la 280 °C cu o divizare (split) de 1/50 în coloana analitică. Coloana de separare utilizată este un Phenomenex® ZB WAXplus 60 m × 0,25 mm ID (*internal diameter*) × 0,15 μm care este conectată la valva de split și se află într-un cuptor cu temperatură

controlată aerodinamic. Programul de temperatură pentru separare este: timpul de injecție 2 minute; temperatura rămâne constantă timp de 3 minute la 82 °C, apoi începe să crească cu 3 °C/min. până la 135 °C, se menține 1 minut, apoi 7,5 °C/min. până la 160 °C, se menține timp de 1 minut și crește în cele din urmă cu 27 °C/min. la 240 °C, rămânând constant timp de 8 minute (programul de eluție total este de 37 minute). Separarea se efectuează la o viteză liniară constantă de 35 cm/s (debitul pe coloană 1,5 mL/min). Detectorul este un spectrometru de masă de tip triplul cuadropol utilizat în modul de scanare pe cuadropolul Q3 (al treilea cuadropol) într-un interval de la 30 la 400 Da (m/Z, unde $Z \approx 1$ u.a.m), cu frecvența achiziției de 0,1 s (sau 5000 scanări/s). Interfața de transfer către spectrometru este menținută la 230 °C și sursei de ioni la 200 °C. Rezultatele sunt procesate calitativ comparându-le cu diferite baze de date MS disponibile: NIST 14, Wiley 10, FFNSC și SZTERP. Pentru evaluarea semi-cantitativă, toate rezultatele sunt prelucrate prin metoda cu standard intern cu o raportare la semnalul (aria) generată de un adaos de 100 ppm (mg/L) de 4-metil-pentan-2-ol (Niculaua, 2010).



Figura 5.7 – Sistem gaz-cromatografic cuplat cu spectrofotometru de masă de tip Shimadzu HS20–GC–MS (original)

Figure 5.7 – Gas-chromatographic system coupled with mass spectrophotometer Shimadzu HS20-GC-MS (original)

5.4. Evaluarea senzorială a variantelor tehnologice luate în studiu

La nivelul său cel mai de bază, vinul este un amestec de mii de substanțe diferite, într-o stare constantă de flux, caracteristică care îi conferă calitatea de a fi un "lucru viu", capabil de oxidare înzestrat cu o oarecare capacitate "respiratorie". Identitatea și concentrația acestor compuși variați, depind în orice moment de fiecare factor posibil, de la vița de vie și sol, la procesul complex de producție, la modul în

care a fost depozitată o sticlă de vin, cât timp a fost deschisă sticla, dacă aceasta, a avut șansa de a permite vinului să respire înainte de a fi savurat. Percepția noastră despre gustul vinului este la fel de variabilă. Aceasta depinde de temperatura vinului, de starea noastră de spirit, de ce am consumat recent și în primul rând, cât de bine pot primi receptorii noștri acele sute de substanțe. Astfel, dacă trebuie să luăm în considerare cum să ne bucurăm de complexitatea vinului, trebuie să începem prin a înțelege această băutură din punctul de vedere al chimiei sale, întrucât, este vorba de substanțe și ceea ce pot face acestea la contactul cu senzațiile unei persoane.

Gustul și aroma interacționează puternic, aroma fiind predominantă de obicei. Un om are potențialul de a deosebi între milioane de arome prin interacțiuni complexe la nivelul receptorilor din nas (bulb olfactiv) (Firestein, 2001). Există o diversitate genetică considerabilă, indivizii de origine africană având cu aproximativ 10% mai mulți receptori funcționali decât alte grupuri de indivizi americani (Considine și Frankish, 2014).

Sectorul vitivinicol a fost pionier în dezvoltarea analizei senzoriale. Analiza senzorială este aplicată pe scară largă în cercetarea vinului pentru a descrie efectul factorilor, cum ar fi varietatea de struguri sau proprietățile de prelucrare a vinului și pentru a studia relația dintre caracteristicile chimice și senzoriale (Carrau și colab., 2017).

De la apariția vinului cu mii de ani în urmă, iubitorii de vin au fost dornici să descopere secretul aromei din vin. Aceasta este unul dintre cei mai importanți factori în determinarea caracterului și calității vinurilor, provenind dintr-un amestec de sute de componente chimice care interacționează cu organele noastre senzoriale. Degustarea de vinuri a devenit în zilele noastre o activitate plăcută și cosmopolită.

Cuvântul calitate este folosit tot timpul, este discutat de mulți și este încă atât de vag. Vinul de calitate este un obiectiv demn, dar ceea ce constituie calitate poate fi greu de înțeles deoarece poate însemna ceva diferit pentru doi oameni diferiți. Un anumit vin ar putea fi numit de înaltă calitate de către unul, dar ridiculizat de calitate scăzută de către altul. Acest cuvânt, calitate, poate fi la fel de complex ca vinurile minunate și complexe de care ne bucurăm (Steakly și Steakly, 2020).

Producătorii de vin vorbesc adesea despre „cel mai bun vin”, dar astfel de afirmații ascund faptul că atât consumatorii cât și criticii nu au opinii uniforme în preferințele lor de vin.

Aroma vinului este una dintre cele mai complexe arome existente în natură din mai multe motive. Principalul motiv se datorează faptului că există diferite vinuri care prezintă o aromă destul de diferită. Al doilea motiv, deoarece aromele vinului evoluează în timpul stocării până la consum. În cele din urmă, poate fi subliniată existența unei palete de arome subtile care pot fi dificil de deosebit și percepute diferit de oameni (Ferreira și Cacho, 2009).

Simțurile noastre de miros sau de olfacție, sunt mult mai dezvoltate decât simțurile noastre de gust. Simțul nostru de gust s-a dezvoltat în primul rând pentru a

evita compușii toxici, care sunt în mare parte amari. În schimb, suntem capabili să detectăm mii de compuși diferiți în ciuda variației mari a structurii chimice și a greutatea moleculare a acestor compuși volatili, putând face diferența între ei identificând mirosurile individual (Bakker și Clarke, 2012).

Dr. Maynard Amerine (profesor de enologie la Universitatea din California) și echipa sa au creat unul dintre cele mai vechi și notabile sisteme de evaluare a vinului de 20 de puncte. Ei au creat această metodă de evaluare, pentru numărul mare de vinuri experimentale care se produceau la universitate (Steakly și Steakly, 2020).

Numerotarea numerică a vinurilor a fost făcută ulterior de Robert Parker, unul dintre cei mai influenți critici ai vinului, sistemul său de notare fiind publicat pentru prima dată la începutul anilor 1970. Acest sistem de notare a furnizat un scor numeric simplu pentru consumator în vederea evaluării calității unui anumit vin (Steakly și Steakly, 2020). El oferă capacitatea de a clasifica rapid calitatea vinului.

Punctajul poate face ca vinul să fie cuantificabil, dar provocarea, este totuși că aprecierea poate fi subiectivă și influențată de prejudecățile fiecărui individ. Evaluarea unui vin cu o mare repetabilitate și precizie prin vizionare, miros și degustare s-ar putea să nu funcționeze bine pentru toată lumea (Steakly și Steakly, 2020).

Încă din cele mai vechi timpuri, controlul calității se făcea la produsul final al vinificației în sine, uneori precedat de degustare pentru a evalua soiul și calitatea strugurilor. Procedurile de testare a vinului au fost dedicate defectelor vinului, care au provenit din alegerea strugurilor și momentul potrivit de recoltare, mai degrabă decât problemelor care rezultă din procesul de fermentare sau evenimentele de maturare. Așa-numitul examen senzorial cuprindea aspectul (claritatea și lipsa sedimentelor), culoarea, mirosul (aroma, buchetul), aciditatea totală și volatila, substanțele reductoare, corpul, extractul, gustul, finețea și astringența (conținut de tanin), rezultând o analiză generală a calității, care a inclus conformitatea corectă a constituenților și armonia echilibrată a unui anumit tip de vin. Aceste proceduri de degustare au nevoie de personal experimentat, deoarece toate testele senzoriale sunt mai mult sau mai puțin subiective.

Degustătorii experimentați au dezvoltat un grad ridicat de concordanță, astfel încât chiar și astăzi clasificarea vinurilor se face încă pe bază fiziologică. Analiza fizico-chimică din ultimul deceniu este utilizată ca supliment esențial la procedurile de degustare, în special având în vedere manipularea crescândă a procedurii de fermentare (Linskens și Jackson, 1988).

Consumul de vin face parte din cultura omenirii. Această cultură nu are nici o legătură directă cu analiza vinului, care este un proces care oferă criterii obiective, în timp ce consumul de vin este un proces parțial subiectiv. Selecția și clasificarea diferitelor tipuri de vin nu au loc conform datelor analitice. Mai degrabă, aprecierea vinului se face prin degustare. Clasificarea vinului în conformitate cu criteriile obișnuite, prin care vinurile sunt împărțite în diferite clase (Premier Cru Classes,

Grand Cru, Cuvee dans la Cave etc.), ce oferă informații despre originea și modul de manipulare, dar nu și în ceea ce privește calitatea dată de analiza chimică, cu excepția conținutului de zahăr din must și a conținutului de alcool al vinului. Aprecierea finală asupra calității vinului este analiza senzorială. Datele analitice chimice pot ajuta doar la deosebirea vinurilor naturale de cele sintetice. În mod tradițional, evaluarea senzorială a vinului este percepută ca fiind făcută de un expert în vin, care evaluează „calitatea” vinului. Cu toate acestea, acesta este doar un exemplu izolat și, de fapt, slab al activității. Evaluarea senzorială este o disciplină științifică utilizată pentru a evoca, cuantifica, analiza și interpreta reacțiile la caracteristicile vinurilor percepute de simțurile vederii, mirosului, gustului și atingerii (Linskens și Jackson, 1988).

Calitatea vinului este deseori o reflectare a percepțiilor culturale, a instruirii și a experienței, fiind influențată, fără îndoială, de acuitatea senzorială și de intenția de a evalua în mod serios atributele vinului. În general, există mai puțină concordanță cu privire la ceea ce constituie aspecte pozitive de calitate, aceasta este adesea definită în moduri diverse: subtilitate și complexitate, potențial de îmbătrânire, puritate stilistică, expresie varietală, prestigiu, clasament de experți sau consumator. Fiecare părere sau notă atribuită unui vin are justificarea și limitările sale (Jackson, 2009).

Cu toate acestea, punctele de vedere ale experților (fie autoproclamate, fie de la un juriu de degustători instruiți) au avut o mare influență asupra vinificatorilor. Vânzările de vin premium au avut o influență profundă asupra direcției cercetării enologice și viticole. Acest lucru a dus la o îmbunătățire semnificativă a calității vinului, în special începând cu anii 1960. Influența acestor evoluții a fost resimțită până la producția de vrac și a adus, de asemenea, vinul de calitate superioară unei selecții mai largi de oameni decât oricând (Jackson, 2020).

Pentru aprecierea senzorială a variantelor obținute în anul 2015 s-a recurs la metoda degustării închise în care parametrii aromatici sunt notați într-o fișă.

Evaluarea senzorială este o metodă științifică utilizată pentru a evoca, a măsura, a analiza și a interpreta răspunsurile la produsele percepute prin intermediul simțurilor: gustativ, olfactiv, vizual, tactil și perceptual – auzul (Stone și Sidel, 2004).

Primele două simțuri implicate în analiza unui vin sunt asociate cu chimia întregului proces de vinificație și definirea aromei ce reprezintă o combinație între cele două, respectiv miros și gust. Aroma vinului provine din struguri, tratamentul mustului, fermentarea și procesul de maturare a vinului (Clarke și Bakker, 2004).

Procesul de degustare are la bază trei etape:

- a. prezentarea probei: mărimea eșantionului, informații despre mostre;
- b. descrierea cu exactitate a sarcinei (modul de degustare, atributele pentru analiză, modul de notare a mostrelor);
- c. procedura de colectare, analiză, interpretare și prezentare a informațiilor (Clarke și Bakker, 2004).

Condițiile în care se degustă vinurile:

1. Locația – se va alege o sală spațioasă, iluminată corespunzător, cu pereții deschiși la culoare, aerisită cu temperatura ambiantă cuprinsă între 18÷20 °C și umiditatea aerului 60÷70%, eventual cu sisteme de ventilație a aerului (Băducă, 2008).

2. Pahare - se vor folosi doar pahare de sticlă, în formă de lălea, identice, umplute până la același nivel (30÷50 mL), pentru a facilita condiții echivalente și aprecierea cât mai precisă a vinurilor.

3. Pregătirea vinurilor pentru degustare – se întreprinde după reguli generale și particulare, în funcție de tipul, vârsta și tipul de stocare a vinului:

- Prelevarea probelor se face în scopul degustării unor eșantioane reprezentative din loturile de proveniență;

- Temperatura optimă este specifică pentru fiecare tip de vin, la care acesta se exprimă cel mai bine din punct de vedere senzorial;

- Ordinea degustării vinurilor se stabilește astfel încât să se evite influența negativă a probelor anterior degustate.

4. Degustătorul - concură la reușita unei degustări, prin pregătirea, dispoziția și comportamentul său.

În ceea ce privește analiza senzorială a vinurilor se au în vedere:

Analiza vizuală:

- Probele de vin se vizualizează la un unghi de 30 —÷ 45° pe un fundal alb. Se vor aprecia caracteristici precum: limpiditatea, culoarea, vâscozitatea, efervescența (în cazul vinurilor spumante).

- Claritatea este conferită de lipsa aspectului tulbure, vinul fiind clar, strălucitor.

- Culoarea vinului se caracterizează prin nuanță și intensitate. Aceste aspecte oferă indicii asupra anumitor caracteristici: maturitatea strugurilor, tipul de fermentație, timpul de macerare, vârsta vinului. Culoarea vinurilor albe poate fi fie deficitară sau incoloră (struguri recoltați timpuriu) fie cu nuanțe intens gălbui (struguri recoltați la supramaturare) (Jackson, 2020).

- Vâscozitatea sau rezistența la curgere este influențată de conținutul în zaharuri, în glicerol și conținutul de alcool, iar diferențe semnificative se detectează la vinurile de tip desert sau vinurile cu un conținut alcoolic ridicat.

- Prezența bulelor pe pereții sau pe fundul paharului este parte a analizei vizuale prin număr, mărime sau durată. După îmbuteliere la unele vinuri poate apărea o ușoară efervescență care se datorează atât fermentației malolactice cât și unei îmbutelieri timpurii.

- „Lacrimile” sunt un indicator brut al conținutului de alcool al vinului, iar prezența lor este ușor detectabilă pe pereții paharului.

Analiza olfactivă:

La evaluarea aromei vinului se urmăresc următoarele: calitatea, intensitatea și atributele temporale.

- Calitatea face referire asupra modului în care aroma poate fi descrisă, făcând referire la clase vegetale (fructe, flori), putând fi asociată cu experiențele aromatice (miros de trandafir, de mere, de trufe) sau cu răspunsuri emoționale (subtil, elegant, parfumat),

- Intensitatea aromei se referă la amplitudinea acesteia,

- Aspectele temporale fac referire la modificările ce pot afecta aroma în timp, atât din punct de vedere al calității, cât și al intensității (Moroșanu, 2019).

Analiza gustativă:

Se face pe baza mai multor atribute: calitatea, intensitatea și atributele temporale și spațiale.

Calitatea se referă la tipul de gust – dulce, acru, amar, astringent. Intensitatea se raportează la impactul senzației. Atributele temporale fac referire la modificarea în timp a intensității și calității, iar atributele spațiale la localizarea senzațiilor de la nivelul limbii, obrajilor, bolta palatină, etc.

Papilele gustative percep prima dată senzațiile de dulce (vârful limbii) și acru (părțile laterale ale limbii) (Moroșanu, 2019). Mai târziu este perceput gustul amar cu ajutorul receptorilor din partea centrală și posterioară a limbii, deoarece percepția sa se raportează la reducerea senzației de dulce (Kuznicki și Turner., 1986). Ulterior, degustătorii vor detecta senzația de uscat, de mineral, astringent, arzător, dispersat în cavitatea bucală fără o localizare specifică.

Identificarea și recunoașterea senzațiilor sapide nu este așa importantă ca focusarea asupra modului în care acestea sunt integrate pentru a forma percepții de echilibru, corpolență și aromă (Kilcast și Clegg., 2002).

Avem aproximativ 8.000 de papile gustative și fiecare conține un amestec de celule receptoare, permițându-le să guste oricare dintre cele cinci gusturi ale noastre. Astăzi știm că diferite regiuni ale limbii pot detecta dulce, acru, amar și sărat. Mugurii gustativi se găsesc și în altă parte precum pe palatin și chiar în gât. Pe lângă detectarea celor patru gusturi principale, fiecare papilă gustativă poate detecta și umami - gustul care face ca mâncărurile sărate precum parmezanul să fie mai atractive. Este adevărat că avem căi nervoase specializate pentru fiecare gust, dar mai degrabă decât să fie grupate de gusturi în anumite regiuni ale limbii, ele sunt celule receptoare de specialitate cu neuroni care se potrivesc în creier, fiecare acordat unui anumit gust. Diferite zone ale limbii pot gusta orice, dar, deși unele regiuni sunt puțin mai sensibile la anumite gusturi, aceste diferențe sunt „minusculă”. (<https://www.bbc.com/future/article/20171012-do-our-tongues-have-different-taste-zones>).

Biologia moleculară modernă argumentează împotriva localizării diferitelor gusturi pe limbă. În ultimele 2 decenii, cercetătorii au identificat multe dintre proteinele receptoare găsite pe celulele gustative din gură, care sunt critice pentru detectarea moleculelor gustative (<https://theconversation.com/that-neat-and-tidy-map-of-tastes-on-the-tongue-you-learned-in-school-is-all-wrong-44217>).

Ca și în cazul mirosului ortonazal, trebuie acordată importanță intensității relative, identității și asupra schimbărilor calitative. Percepția retronazală a aromelor poate fi diferită din punct de vedere calitativ față de percepția ortonazală a aromelor (Negoiș și colab., 2008). La baza acestui fenomen stau mai mulți factori: concentrația mai mică a compușilor aromatici, unii constituenți ce sunt prezenți sub limita retronazală de detecție, o serie de factori suplimentari dintre care amintim: temperatura mai ridicată din gură, prezența enzimelor etc. În funcție de direcția fluxului de aer, o serie de compuși pot fi percepuți diferit (Small și colab., 2005).

Persistența unui vin se referă la senzațiile gustative cu o durată de la câteva secunde până la câteva minute, aceste senzații reprezentând un indicator important al calității (Buettner, 2004). Unitatea de măsură este „caudalia”, echivalentul cu secunda, vinurile fiind cu atât mai apreciate cu cât are mai multe caudalii.

Calitatea generală a vinului implică mai multe aspecte: legate de zona de proveniență, de soiul de struguri; legate de complexitatea aromelor, de durata persistenței, de experiența de degustare; legate de acuitatea degustătorului (Amerine și Roessler, 1983).

5.5. Formularea și testarea ipotezelor statistice cu ajutorul analizei varianței (ANOVA)

Platforma Statgraphics® Centurion XVI (Stat Points Technologies, Inc. Warrenton, Virginia, USA) a fost utilizată pentru validarea rezultatelor și analiza statistică avansată. Au fost realizate următoarele analize statistice: media aritmetică, varianța, deviația standard, testul Fisher, analize statistice multivariate (MVA), analiza componentelor principale (PCA), ANOVA unifactorial și ANOVA multifactorial.

Analiza varianței este folosită pentru testarea ipotezei egalității mediilor pentru două sau mai multe probe p, adică a provenienței din aceeași populație sau din populații care nu diferă semnificativ (Zamfir, 2009).

Există mai multe tipuri de ANOVA:

- ANOVA unifactorială care se aplică atunci când avem o variabilă dependentă măsurată pe o scală de interval/raport măsurată pentru trei sau mai multe valori ale unei variabile independente categoriale. În contextul ANOVA, variabila independentă este denumită „factor”, iar valorile pe care acesta le ia se numesc „niveluri”. Din acest motiv modelul de analiză de varianță cu o singură variabilă

independentă se numește „ANOVA unifactorială”, „ANOVA simplă” sau, cel mai frecvent „ANOVA cu o singură cale” (One-way ANOVA);

- ANOVA bifactorial (two-way ANOVA) sau analiza dispersională bifactorială. Studiul asocierii dintre o variabilă continuă (variabila dependentă) și două variabile discrete (variabile independente, factori) necesită un instrument de analiză care să poată diferenția influența primului factor, influența celui de al doilea factor, precum și influența combinată, interacțiunea celor doi factori. În acest scop s-a dezvoltat analiza dispersională bifactorială. Metoda este bazată pe descompunerea variației totale în variație explicată și variație reziduală.

- ANOVA multifactorială, care se aplică atunci când avem o singură variabilă dependentă (la fel ca în cazul ANOVA unifactorială) dar două sau mai multe variabile independente, fiecare cu două sau mai multe valori, măsurate pe o scală categorială (nominală sau ordinal).

Aplicarea testului ANOVA poate produce ca rezultat respingerea ipotezei de egalitate a mediilor.

Utilizarea analizei unifactoriale a varianței presupune îndeplinirea următoarelor condiții (Zamfir, 2009):

- independența eșantioanelor grupurilor supuse comparației;
- normalitatea distribuției de eșantionare;
- absența valorilor extreme (outliers), de fapt situarea acestora în limitele acceptabile.

De fapt prin analiza varianței se aplică un singur test, ce respectă o statistică de tip Fisher pentru determinarea semnificației diferenței dintre mediile eșantioanelor. În vederea determinării unor diferențe semnificative din punct de vedere statistic între populațiile analizate se vor formula două ipoteze: ipoteza nulă și ipoteza alternativă. Ipoteza nulă este cea care trebuie testată, testul efectuându-se sub prezumția că ipoteza nulă ar fi cea adevărată. Ipoteza alternativă este aceea ipoteză care într-un sens sau altul contrazice ipoteza nulă, iar aceasta se mai numește și ipoteză de lucru (Țițan și colab. 2002).

Rezultatul p al testului care oferă informații despre rezultatele obținute (cât de semnificative sunt) și despre acceptarea sau respingerea ipotezei nule prezintă următoarea interpretare:

- $p > 0,05$ nu se respinge H_0 (ipoteza nulă) - diferența este nesemnificativă la pragul de semnificație de 95%.
- $p < 0,05$ se respinge H_0 cu pragul de semnificație de 95% - în acest caz vor întâlni cel puțin două medii semnificativ diferite.
- $p < 0,01$ se respinge H_0 cu pragul de semnificație de 99% - diferența este înalt semnificativă.
- $p < 0,001$ se respinge H_0 (ipoteza nulă) - diferența este foarte înalt semnificativă (Moroșanu, 2019).

În funcție de modul de stabilire a grupurilor pot să apară două situații de modele ale analizei dispersonale unifactoriale (Zamfir, 2009):

1. Grupurile corespund categoriilor unei scale nominale (ordinale), toate categoriile scalei fiind luate în considerare; se spune că se studiază întreaga populație a surselor. Situația apare și atunci când, prin convenție, se consideră că se studiază întreaga populație a surselor. În acest caz se compară grupurile între ele și se obțin concluzii valabile pentru fiecare grup în parte. Acesta este modelul cu efecte sistematice (sau modelul 1).

2. Grupurile corespund unor surse alese întâmplător dintr-o populație a surselor. În acest caz este important ca, pe lângă compararea grupurilor, să se obțină informații despre mulțimea tuturor surselor. Este ca și cum, din multitudinea de categorii a unei scale nominale (ordinale), se alege la întâmplare câteva categorii, se obțin eșantioane din grupurile corespunzătoare categoriilor selectate, iar prelucrarea se efectuează asupra acestor eșantioane. Acesta este modelul cu efecte întâmplătoare (sau modelul 2) (Zamfir, 2009).

Când mai multe vinuri sunt evaluate în funcție de un singur atribut (de exemplu, după un acid), poate fi realizată o analiză dispersonală comună a varianței (ANOVA), în timp ce atunci când sunt luate în calcul o serie de attribute diferite, trebuie efectuată o analiză ANOVA multiplă (MANOVA) (Dijksterhuis, 1995).

Determinarea abaterii aleatorii sau obiectivă (semnificativă) reprezintă testarea semnificației unui indicator statistic, care începe prin formularea unei ipoteze statistice, pe baza datelor experimentale, iar după ce este analizată, aceasta poate fi acceptată sau respinsă. Ipoteza de nul (H_0) este cea mai des utilizată ipoteză statistică care pornește de la ideea ca abaterea indicatorilor determinați pe baza datelor rezultate din probele analizate este 0, în raport cu parametrii întregii populații. Opusă ipotezei de nul este ipoteza alternativă (H_1), care atunci când este respinsă, se preferă ipoteza nulă. Decizia de acceptare sau respingere a ipotezei de nul se ia în funcție de probabilitatea de eroare q (prag de semnificație), care variază în general între $0,1 \div 5\%$. În cazul respingerii H_0 apar frecvent 2 erori (ipoteza nulă respinsă nu poate fi niciodată dovedită): eroare de genul I când ea este adevărată și de genul II, când aceasta este falsă în realitate.

Interpretarea se face astfel:

- dacă valoarea estimată a testului este mai mică decât valoarea teoretică, se admite ipoteza nulă;

- dacă valoarea estimată a testului este mai mare decât valoarea teoretică, ipoteza nulă se respinge.

Pentru studiul evoluției acizilor în timpul fermentației alcoolice, valorile procentuale ale fiecărui acid în parte, variază în raport cu varianta de fermentație (Aligoté sau Fetească regală, la cisternă sau volume mici, neînsămânțat sau fermentat cu o anumită levură) și ziua de prelevare a probei.

Pornind de la aceste considerente se pot naște două tipuri de întrebări:

- În funcție de varianta de fermentație se pot determina diferențe semnificative între valorile procentuale ale fiecărui acid?
- În funcție de ziua de prelevare se pot determina diferențe semnificative între valorile procentuale ale fiecărui acid?

Cu alte cuvinte: influențează semnificativ ziua prelevării probelor și varianta de fermentare valorile procentuale ale fiecărui acid în parte și în ce măsură?

În cazul respingerii ipotezei nule rezultă faptul că ziua de prelevare și varianta de fermentare influențează semnificativ valorile procentuale ale fiecărui acid în parte.

CAPITOLUL VI: REZULTATE OBȚINUTE ȘI DISCUȚII

CHAPTER VI: RESULTS OBTAINED AND DISCUSSIONS

6.1 Caracterizarea vinurilor obținute în funcție de principalele caracteristici fizico-chimice

Având în vedere faptul că mustul materie-primă a fost omogenizat înainte de a fi împărțit pe variante, eventualele diferențe dintre componentele analizate pot fi puse pe seama levurilor selecționate folosite, a tehnologiei folosite în procesul fermentativ cât și a acțiunii sinergice a acestora.

În ceea ce privește principalele caracteristici de compoziție ale vinurilor analizate, rezultatele sunt prezentate în tabelele 6.1 și 6.2.

Studiile de profil arată faptul că parametrii fizico-chimici variază foarte mult, fiind în strânsă legătură cu condițiile de fermentare (Colibaba, 2010).

6.1.1 Variația principalelor caracteristici fizico-chimice ale vinurilor obținute din soiul Aligoté

Aciditatea volatilă este dată de acizii grași volatili (acetic, formic, propionic, butiric, caproic, valerianic) care sunt prezenți în vin în stare liberă sau sub formă de săruri și de esteri formați cu diferiți alcooli (Țârdea și colab., 2010). La variantele obținute din soiul Aligoté, rezultatele sunt prezentate în tabelul 6.1, acestea având valori cuprinse între 0,28 g/L la varianta A5 și 0,38 g/L ($C_2H_4O_2$) la varianta A1. Valorile obținute sunt în concordanță cu literatura de specialitate, unde valori mai mari sunt obținute la vinurile fermentate cu levuri din flora spontană. La variantele A2 și A3 (fermentate la vase de sticlă de 50 L cu levuri selecționate) s-au obținut valori mai mari (0,32 și 0,29 g/L) comparativ cu variantele A4 și A5 (0,29 și 0,28 g/L) care au fost fermentate cu aceleași levuri (Levulia® Esperide și Zymaflore® X5) dar la dimensiuni mai mari.

Aciditatea totală sau titrabilă este dată de acizii organici, anorganici și de prezența aminoacizilor. În cazul vinurilor seci, cu cât aceasta are o valoare mai ridicată, cu atât acest parametru poate imprima o duritate excesivă (Moroșanu, 2019). Făcând referire la tabelul 6.1, se poate observa că valoarea cea mai mare a acidității totale (6,89 g/L acid tartric) a fost înregistrată în proba A3, pe când cel mai redus nivel a fost identificat în varianta A4 (5,92 g/L acid tartric).

Zaharurile potentează aroma din vinuri, acționând ca o bază suport pentru fixarea substanțelor volatile. Acestea contribuie la diminuarea senzațiilor astringente sau prea acide din vinuri (Moroșanu, 2019). În urma determinărilor efectuate, nivelul substanțelor nereducătoare din vin a arătat valori cuprinse între 2,4 g/L în cazul probei A2 și 6,30 la varianta A1.

Tabelul 6.1/ Table 6.1

Variația caracteristicilor fizico-chimice ale vinurilor obținute din soiul Aligoté
The variation of the physico-chemical characteristics of the Aligoté variety wines

Proba luată în studiu	Aciditatea volatilă (g/L C ₂ H ₄ O ₂)	Aciditatea totală (g/L C ₄ H ₆ O ₆)	pH	Densitatea relativă	Concentrația alcoolică (% vol.)	Substanțe nereducătoare (g/L)	Extract nereducător (g/L)	Extract sec total (g/L)
A1	0,38	6,47	3	0,9940	11	6,3	22,4	18,6
A2	0,32	6,88	3,09	0,9918	11,2	2,4	17,2	14,8
A4	0,29	5,92	3,02	0,9927	11,5	3,5	21,9	15,6
A3	0,29	6,89	3,04	0,9928	11,2	3,6	19,8	16,2
A5	0,28	6,26	3,02	0,9925	11,3	3,3	19,6	16,3

Tabelul 6.2/ Table 6.2

Variația caracteristicilor fizico-chimice ale vinurilor obținute din soiul Fetească regală
The variation of the physico-chemical characteristics of the Fetească regală variety wines

Proba luată în studiu	Aciditatea volatilă (g/L C ₂ H ₄ O ₂)	Aciditatea totală (g/L C ₄ H ₆ O ₆)	pH	Densitatea relativă	Concentrația alcoolică (% vol.)	Substanțe nereducătoare (g/L)	Extract nereducător (g/L)	Extract sec total (g/L)
F1	0,34	5,93	3,08	1	11,2	11,5	38,5	21
F2	0,26	6,42	3,05	0,9955	11,4	10,7	27,6	16,9
F4	0,23	5,66	3,03	0,9916	12,2	4,2	19,8	15,6
F3	0,29	6,18	3,07	0,9946	11,6	9,6	25,8	16,2
F5	0,24	5,62	3,02	0,9929	12	7,2	22,7	15,5

În ceea ce privește concentrația alcoolică, valorile cele mai mari au fost înregistrate la variantele fermentate la cisternă (între 11,3% vol. alc. la varianta A5 și 11,5% vol. alc. la varianta A4), comparativ cu variantele la care fermentația alcoolică s-a desfășurat la vase de sticlă de 50 L (11,2% vol. alc. la variantele A2 și A3). Varianta A1 a avut cea mai scăzută concentrație alcoolică (11% vol. alc.).

Extractul sec total este dat de substanțele din vin care nu se volatilizează, ci rămân sub formă de reziduu. Acestea sunt de natură chimică diversă (acizi organici, glicerol, glucide, substanțe tanante etc.). În ceea ce privește probele analizate, caracteristicile specifice ale levurilor inoculate au condus la obținerea unor valori cuprinse între 14,8 g/L extract sec total în varianta A2 și 18,6 g/L la proba A1.

Observând rezultatele obținute, valori mai mari ale extractului sec total sunt caracteristice variantelor fermentate în condiții controlate de temperatură și pH (la cisternă), comparativ cu cele fermentate la vase de sticlă de capacități mici (50 L).

6.1.2 Variația principalelor caracteristici fizico-chimice ale vinurilor obținute din soiul Fetească regală

Similar rezultatelor obținute la soiul Aligoté, probele de Fetească regală s-au remarcat prin valori diferențiate ale principalilor parametri fizico-chimici, în funcție de tipul levurilor inoculate.

Aciditatea volatilă a vinurilor, exprimată în g/L $C_2H_4O_2$, prezintă valori cuprinse între 0,24 (F5) și 0,34 g/L (F1).

În ceea ce privește aciditatea totală, au fost înregistrate valori cuprinse între 5,62 (F5) și 6,42 g/L $C_4H_6O_6$ (F2). Valorile cele mai mici au fost evidențiate la probele în care fermentația s-a desfășurat la cisterne, temperatura scăzută favorizând precipitarea tartrică din timpul acestui proces.

Similar variantelor obținute din soiul Aligoté, vinurile Fetească regală s-au remarcat printr-un nivel al concentrației alcoolice cuprins între 11,2% (la varianta F1) și 12,2% vol. alc. (în cazul probei F4).

Cel mai mare nivel al extractului sec total-a fost identificat la varianta F1, similar rezultatelor obținute în cazul soiului Aligoté. Valorile acestui parametru au arătat variații importante în funcție de condițiile de fermentație aplicate (lumină, temperatură, tipul levurilor inoculate).

6.2. Interpretarea statistică a rezultatelor obținute privind conținutul în acizi organici determinați

6.2.1. Interpretarea statistică a rezultatelor obținute privind conținutul în acizi organici determinați din vinurile Aligoté

În tabelele din acest subcapitol sunt prezentate rezultatele aplicării procedurii statistice de comparație multiplă a mediilor valorilor acizilor, pentru

variantele A1÷A5, în vederea stabilirii diferențelor statistic semnificative dintre acestea, la probele prelevate în fiecare zi din timpul fermentației alcoolice a soiului Aligoté.

Asterixul plasat în dreptul valorilor medii ale acizilor, indică faptul că aceste perechi de medii prezintă diferențe statistic semnificative față de toate celelalte valori medii, identificându-se un număr cuprins între 153 și 226 de perechi de medii ce prezintă diferențe statistic semnificative, calculate pentru o probabilitate de transgresiune testată de $p=0,05$. Diferitele litere plasate ca indice în dreptul unor valori medii ale acizilor, determinați analitic, indică faptul că între acestea nu există diferențe statistic semnificative pentru un interval de încredere de 95%. Testul Fisher (LSD least significant difference) a fost metoda statistică utilizată. În urma aplicării sale, a fost identificat un număr cuprins între 11 și 21 grupuri omogene de medii, grupuri în interiorul cărora nu există diferențe statistic semnificative pentru intervalul de încredere de 95%. În afară de acidul tartric și malic, restul acizilor identificați prezintă valori subunitare.

Conținutul acidului tartric la varianta A1, obținut din soiul Aligoté, analizat în zile diferite de fermentare (tabelul 6.3) prezintă valori cuprinse între 3,80 g/L în ultima zi de fermentație și 5,15 g/L în ziua a treia a fermentației alcoolice. Tendința este una de diminuare a conținutului în acid tartric.

Comparativ cu varianta A1, celelalte variante (tabelele 6.3÷6.7) evidențiază cea mai mică valoare (3,49 g/L) la variantele A4 și A5 - fermentate la cisternă, iar cea mai mare concentrație (3,97 g/L) a fost obținută la varianta A3, în care fermentația alcoolică s-a desfășurat în condiții necontrolate de temperatură și lumină.

Cu toate că acidul tartric nu este metabolizat în timpul vinificației, acesta se poate pierde prin diferite mecanisme fizico-chimice, (spre exemplu, prin precipitare tartrică) (Waterhouse și colab., 2016).

Diminuarea conținutului în acid tartric este cauzată pe de o parte de creșterea concentrației alcoolice, ceea ce duce la o insolubilitate mai ridicată a tartratului acid de potasiu (soluția hidroalcoolică devine mai puțin avidă de a solubiliza o cantitate mai mare de acid tartric); pe de altă parte, solubilitatea tartratului neutru de calciu, care însoțește bitartratul de potasiu este invers proporțională cu creșterea concentrației alcoolice.

Tartratul acid de potasiu se găsește în cantități considerabile în vin, iar solubilitatea lui este cu atât mai redusă cu cât nivelul concentrației alcoolice este mai mare și temperatura este mai scăzută. Când acesta se găsește într-o concentrație mai mare decât solubilitatea sa minimă, acidul tartric începe să se separe sub formă de precipitat cristalin. De asemenea, atunci când concentrația ionilor de potasiu și de tartrat care corespund solubilității sunt depășite, se poate considera că vinul este suprasaturat și poate precipita (Odăgeriu, 2006). Principalii cationi implicați în instabilitatea tartraților sunt cei de potasiu și calciu (Ibeas și colab., 2015).

Concentrația acestor cationi în vinuri poate fi variabilă, având valori cuprinse între 125 și 2040 mg/L⁻¹ pentru K⁺, iar pentru Ca²⁺ variază între 50 și 300 mg L⁻¹. Cu cât acești cationi se situează spre limitele superioare, cu atât riscul formării sărurilor de tartrat este mai mare (Ponce și colab., 2018).

Analizând probele experimentale obținute, cele mai reduse valori ale acidului tartric au fost identificate la variantele la care fermentarea a avut loc în cisterne (A4 și A5), aspect ce se poate datora creșterii concentrației alcoolice a vinului în timpul fermentației alcoolice, cumulată cu temperatura de fermentare scăzută.

Gradul de suprasaturare este diferit de la un vin la altul, fiind dependent de valoarea concentrației alcoolice, nivelul temperaturii și pH-ului, gradul de disociere al acidului tartric, dar și de forța ionică (Odăgeriu, 2006).

Acidul malic alături de acidul tartric reprezintă peste 90% din acizii organici din struguri (Robles și colab., 2019) și din vinuri. În ceea ce privește probele analizate, în cazul variantei A1, concentrația sa a prezentat diminuări semnificative de la 1,87 g/L la începutul procesului fermentativ și până la 1,42 g/L în ultima zi de recoltare.

Valorile înregistrate pentru acidul malic evidențiază un trend descendent pe tot parcursul fermentației alcoolice, la toate variantele analizate. Comparând rezultatele obținute, se poate observa că valorile cele mai mici ale acidului malic sunt înregistrate la vinurile unde fermentația alcoolică a avut loc la cisternă (A4 și A5). Varianta A2, fermentată la vase de sticlă, a prezentat cea mai mare valoare a a compusului menționat la finalul fermentației alcoolice (1,56 g/L).

Această evoluție diferită de la variantă la variantă și evidențiază posibile modificări ce pot fi puse pe seama degradării unor cantități importante de acid malic (Ugliano și Henschke, 2009) de către levuri din genul *S. cerevisiae*. Cercetări recente au raportat abilitatea levurilor de a metaboliza acidul L-Malic în timpul fermentării vinului, aceasta fiind o caracteristică dependentă de tulpina levuriană, care reduce între 3 și 45% din acidul L-Malic preexistent în must (Mendes-Ferreira, Mendes-Faia, 2020). Acidul menționat poate fi metabolizat în alcool etilic în raport de 10÷15% în cazul levurilor *Saccharomyces* și până la 70÷80% de către levurile *Schizosaccharomyces* (Țârdea și colab., 2010). O altă cauză pentru scăderea concentrației în acid malic o poate constitui prezența levurilor *Schizosaccharomyces pombe*, care au capacitatea de a metaboliza acidul malic în timpul fermentației alcoolice, simultan cu reducerea acidității titrabilă (Amerine și Kunkee, 1968). De asemenea, acidului malic poate fi transformat de levuri în acid succinic (Țârdea și colab., 2010) în concentrații de până la 34% (de Klerk, 2010). De asemenea, fiind unul dintre acizii mai puțin stabili din punct de vedere biologic, acesta poate fi metabolizat cu ușurință de mai multe tipuri de bacterii din vin.

Variația concentrației acidului malic în raport cu tipul de levuri inoculate a mai fost raportată și de Chidi și colab. (2015).

După finalizarea procesului fermentativ, cea mai mare concentrație a fost evidențiată în cazul probei A2 – 1,56 g/L.

Pe durata procesului fermentației alcoolice, conținutul în acid lactic prezintă o tendință crescătoare, ce poate fi pusă pe seama producerii sale de către levuri în timpul procesului fermentativ (Ribéreau-Gayon și colab., 2006; Zamora, 2009; Jackson, 2020). Concentrația acidului lactic a variat în funcție de tipul levurilor inoculate și de condițiile de fermentație aplicate. Astfel, varianta A3 prezintă cel mai mare conținut în acest compus (0,34 g/L), putând fi corelată cu abilitatea levurii folosite la această variantă de a sintetiza o cantitate mai mare de acid lactic.

Din nivelul total de zaharuri, doar 0,05% pot fi transformate de către levuri în acid lactic. Levurile au capacitatea de a forma în vin doar acid D(-) lactic, pe când izomerul L(+) lactic este produs de către bacteriile malolactice (Țârdea și colab., 2010). Cercetări recente ne arată faptul că *Lachancea thermotolerans* (levură omniprezentă, găsită în mod obișnuit pe suprafața boabelor de struguri) se caracterizează prin capacitatea de a utiliza zaharuri pentru producția de acid lactic, acționând ca un agent de acidificare (producător de acid lactic), în detrimentul concentrației alcoolice. Caracteristica acestei levuri de a contribui la creșterea acidității vinului, elimină necesitatea realizării de corecții de aciditate, reducând astfel costurile de producție (Tufariello și colab., 2021).

Acidul acetic este produs în cantități mici de levuri, în timpul fermentației alcoolice, sau constituie rezultatul metabolismul bacterian, coroborat cu condițiile de vinificație. Compusul menționat poate rezulta și din oxidarea acetaldehidei de către enzima acetaldehid dehidrogenază (Chidi și colab., 2015).

În general, valorile acestui acid sunt cuprinse între 0,1 și 0,3 g/L (Ugliano și Henschke, 2009; Zamora, 2009), când vinul este produs cu levuri din specia *S. cerevisiae* (Zamora, 2009). Cantități mai mari de acid acetic se pot forma atunci când fermentările sunt greoaie sau blocate (Zamora, 2009), nivelul acestui acid putând atinge o concentrație de până la 1 g/L. Cel mai important factor pentru controlul conținutului în acid acetic în timpul fermentației este reprezentat de tulpina levuriană folosită (Ugliano și Henschke, 2009).

Varianta A1, prezintă o valoare a conținutului în acid acetic de 0,20 g/L, intermediară valorilor înregistrate la variantele unde fermentația s-a desfășurat la volume mari, respectiv variantele A4 și A5 de 0,19 g/L și varianta A3 de 0,26 g/L. După unii autori, această variabilitate se datorează variației temperaturii și condițiilor de fermentare (Romano și colab., 2019; Ugliano și Henschke, 2009). De asemenea, valorile diferite ale acidului acetic la variantele fermentate la vase de sticlă de capacități mici (50 L) cu levuri diferite, pot fi explicate prin faptul că, variabilitatea intraspecifică a tulpinilor levuriene este foarte ridicată în cazul speciilor *Saccharomyces* (Ugliano și Henschke, 2009). Variabilitatea în ceea ce privește conținutul în acid acetic înregistrată la probele analizate, poate fi pusă pe seama

existenței în mediul fermentativ a diferitelor sușe de levuri non-*Saccharomyces*, cunoscute pentru capacitățile lor de a produce acest acid în diferite concentrații (Chidi și colab., 2018).

Acidul citric, originar din struguri (Bakker și Clarke, 2012), alături de acidul tartric și malic, contribuie în cea mai mare proporție la aciditatea titrabilă a vinurilor dar și la definirea parametrilor cromatici și a gradului de stabilitate a vinului (Chidi și colab., 2015). În vinurile obținute, acesta, prezintă o concentrație de 0,21 g/L atât la varianta A1, cât și la variantele fermentate la cisternă A4 și A5. Probele fermentate la volume mici, A2 și A3 prezintă o concentrație de 0,23 g/L acid citric. Vinurile fermentate cu aceeași levură înregistrează valori mai mari la volume mici, comparativ cu cele la cisternă. Din punct de vedere chimic, acidul citric este un acid stabil (Țârdea și colab., 2010). Variația cantitativă a acidului citric în vin variază în funcție de condițiile fermentației alcoolice și fermentației malolactice (Ribéreau-Gayon și colab., 2006). Solubilitatea sărurilor acidului citric favorizează trecerea acestuia în must aproape în totalitate, ajungând la valori cuprinse între 0,2 și 0,4 g/L (Cotea, 2009). Concentrațiile acestui compus pot crește până la 1 g/L în cazul recoltelor avariate (Cotea, 2009).

Acidul succinic se caracterizează printr-un gust amar intens, sărat, care provoacă salivarea și accentuează atât aroma cât și caracterul vinos vinurilor (Ribéreau-Gayon și colab., 2006).

Acidul fumaric și cel shikimic au fost găsiți în probele analizate în cantități mai mici decât prevăd normele OIV (5 g/L față de 20 mg/L).

Tabelul 6.3 Table 6.3

Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Aligoté, anul 2015, varianta A1

Mean values and standard deviations of organic acids identified during fermentation from the 2015 Aligoté sample, variant A1

Ziua	Acid tartric (g/L)	Acid malic (g/L)	Acid lactic (g/L)	Acid acetic (g/L)	Acid citric (g/L)	Acid succinic (g/L)
Z1 (a)	5,073 ±0,0198 ^{efg}	1,867 ±0,0171 [*]	0,101 ±0,0010 [*]	0,100 ±0,0010 [*]	0,200 ±0,0005 [*]	0,257 ±0,0014 [*]
Z2 (b)	5,120 ±0,0089 ^{cde}	1,832 ±0,0170 [*]	0,107 ±0,0010 [*]	0,105 ±0,0010 [*]	0,201 ±0,0002 [*]	0,261 ±0,0009 [*]
Z3 (c)	5,146 ±0,0093 ^b	1,735 ±0,0147 [*]	0,135 ±0,0013 [*]	0,124 ±0,0004 ^d	0,202 ±0,0002 ^d	0,264 ±0,0012 [*]
Z4 (d)	5,109 ±0,0036 ^{be}	1,703 ±0,0142 [*]	0,142 ±0,0014 [*]	0,125 ±0,0004 ^{ce}	0,203 ±0,0002 ^{ce}	0,267 ±0,0006 ^e
Z5 (e)	5,089 ±0,0089 ^{abdf}	1,660 ±0,0163 [*]	0,147 ±0,0005 ^f	0,126 ±0,0004 ^d	0,203 ±0,0001 ^d	0,269 ±0,0013 ^{df}
Z6 (f)	5,064 ±0,0017 ^{aeg}	1,621 ±0,0081 [*]	0,148 ±0,0005 ^{eg}	0,129 ±0,0006 ^g	0,204 ±0,0002 ^{gh}	0,271 ±0,0008 ^e
Z7 (g)	5,052 ±0,0111 ^{afh}	1,604 ±0,0064 ^h	0,149 ±0,0002 ^{fh}	0,130 ±0,0003 ^{fh}	0,204 ±0,0001 ^{fh}	0,274 ±0,0012 [*]
Z8 (h)	5,028 ±0,0118 ^{gj}	1,590 ±0,0026 ^g	0,150 ±0,0003 ^{gi}	0,131 ±0,0003 ^{gij}	0,205 ±0,0002 ^{gij}	0,278 ±0,0022 [*]
Z9 (i)	4,998 ±0,0138 ^h	1,571 ±0,0044 [*]	0,150 ±0,0003 ^{ghj}	0,131 ±0,0005 ^{hj}	0,205 ±0,0002 ^{hj}	0,286 ±0,0014 [*]
Z10 (j)	4,941 ±0,0013 [*]	1,556 ±0,0040 [*]	0,152 ±0,0004 ^{ik}	0,132 ±0,0001 ^{hi}	0,206 ±0,0002 ^{ik}	0,290 ±0,0006 ^k
Z11 (k)	4,877 ±0,0280 [*]	1,539 ±0,0049 ^l	0,152 ±0,0003 ^{jl}	0,134 ±0,0007 [*]	0,206 ±0,0002 ^{ilm}	0,292 ±0,0009 ^j
Z12 (l)	4,667 ±0,0257 [*]	1,527 ±0,0049 ^{km}	0,154 ±0,0005 ^{km}	0,138 ±0,0007 [*]	0,206 ±0,0001 ^{km}	0,295 ±0,0010 [*]
Z13 (m)	4,593 ±0,0261 [*]	1,513 ±0,0016 ^{ln}	0,155 ±0,0007 ^l	0,139 ±0,0003 [*]	0,207 ±0,0003 ^{klm}	0,298 ±0,0018 [*]
Z14 (n)	4,458 ±0,0222 [*]	1,502 ±0,0044 ^{mo}	0,157 ±0,0008 [*]	0,141 ±0,0008 [*]	0,207 ±0,0003 ^{mo}	0,302 ±0,0008 [*]
Z15 (o)	4,396 ±0,0222 [*]	1,494 ±0,0033 ^{np}	0,162 ±0,0007 [*]	0,144 ±0,0008 [*]	0,208 ±0,0001 ^{npq}	0,304 ±0,0008 ^p
Z16 (p)	4,230 ±0,0414 [*]	1,482 ±0,0017 ^{oq}	0,164 ±0,0007 ^q	0,146 ±0,0004 [*]	0,208 ±0,0001 ^{oq}	0,306 ±0,0002 ^{oq}
Z17 (q)	4,158 ±0,0206 [*]	1,469 ±0,0062 ^{pr}	0,165 ±0,0006 ^p	0,147 ±0,0007 [*]	0,209 ±0,0001 ^{opr}	0,307 ±0,0005 ^p
Z18 (r)	4,100 ±0,0208 [*]	1,457 ±0,0057 ^{qs}	0,166 ±0,0009 [*]	0,165 ±0,0016 [*]	0,209 ±0,0002 ^q	0,309 ±0,0004 ^s
Z19 (s)	4,010 ±0,0394 [*]	1,448 ±0,0022 ^{rt}	0,172 ±0,0017 [*]	0,178 ±0,0016 [*]	0,210 ±0,0003 ^t	0,310 ±0,0002 ^r
Z20 (t)	3,920 ±0,0322 [*]	1,439 ±0,0049 ^{su}	0,176 ±0,0017 [*]	0,182 ±0,0016 [*]	0,211 ±0,0003 ^s	0,313 ±0,0006 [*]
Z21 (u)	3,857 ±0,0182 [*]	1,432 ±0,0022 ^{tv}	0,180 ±0,0009 [*]	0,190 ±0,0019 [*]	0,212 ±0,0003 [*]	0,315 ±0,0016 [*]
Z22 (v)	3,795 ±0,0256 [*]	1,419 ±0,0028 ^u	0,183 ±0,0009 [*]	0,201 ±0,0020 [*]	0,214 ±0,0016 [*]	0,319 ±0,0027 [*]
M	220	219	221	224	213	225
G	19	20	19	19	16	18

Diferitele litere indică faptul că valorile medii determinate la diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „*” indică faptul că diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

Tabelul 6.4/ Table 6.4

Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Aligoté, anul 2015, varianta A2

Mean values and standard deviations of organic acids identified during fermentation from the 2015 Aligoté sample, variant A2

Ziua	Acid tartric (g/L)	Acid malic (g/L)	Acid lactic (g/L)	Acid acetic (g/L)	Acid citric (g/L)	Acid succinic (g/L)
Z1 (a)	5,073 ±0,0198*	1,867 ±0,0171*	0,101 ±0,0010 ^b	0,100 ±0,0010	0,200 ±0,0005*	0,257 ±0,0014 ^b
Z2 (b)	5,190 ±0,0168*	1,839 ±0,0090*	0,103 ±0,0010 ^a	0,108 ±0,0009	0,204 ±0,0010*	0,260 ±0,0018 ^a
Z3 (c)	5,123 ±0,0505*	1,820 ±0,0071*	0,127 ±0,0005 ^{de}	0,140 ±0,0008 ^{de}	0,209 ±0,0004 ^{de}	0,264 ±0,0019*
Z4 (d)	5,629 ±0,0414*	1,801 ±0,0088*	0,129 ±0,0004 ^{cef}	0,141 ±0,0007 ^{ce}	0,210 ±0,0001 ^{cefg}	0,268 ±0,0013*
Z5 (e)	5,293 ±0,0173*	1,751 ±0,0116*	0,129 ±0,0004 ^{cdfg}	0,143 ±0,0009 ^{cd}	0,211 ±0,0001 ^{cdghij}	0,272 ±0,0014*
Z6 (f)	5,242 ±0,0170*	1,721 ±0,0114*	0,130 ±0,0001 ^{degh}	0,153 ±0,0009 ^g	0,212 ±0,0002 ^{deghijk}	0,277 ±0,0027*
Z7 (g)	4,886 ±0,0473*	1,688 ±0,0083*	0,131 ±0,0005 ^{efhi}	0,155 ±0,0009 ^h	0,212 ±0,0001 ^{defhijkl}	0,284 ±0,0028*
Z8 (h)	4,778 ±0,0470*	1,668 ±0,0030*	0,132 ±0,0005 ^{fghij}	0,158 ±0,0011 ^{gi}	0,212 ±0,0001 ^{efghijklm}	0,288 ±0,0014*
Z9 (i)	4,630 ±0,0457*	1,654 ±0,0010*	0,133 ±0,0004 ^{ghjk}	0,160 ±0,0003 ^{hj}	0,213 ±0,0001 ^{efghijklmn}	0,292 ±0,0014*
Z10 (j)	4,520 ±0,0314*	1,638 ±0,0011 ^k	0,134 ±0,0004 ^{hiklm}	0,162 ±0,0003 ^k	0,213 ±0,0001 ^{efghijklmno}	0,296 ±0,0015 ^k
Z11 (k)	4,476 ±0,0119 ^l	1,629 ±0,0050 ^{il}	0,134 ±0,0002 ^{ijlm}	0,164 ±0,0012 ^j	0,213 ±0,0002 ^{fghijklmnop}	0,297 ±0,0004 ^{il}
Z12 (l)	4,442 ±0,0115 ^{km}	1,621 ±0,0018 ^{kmn}	0,135 ±0,0004 ^{ikmn}	0,174 ±0,0010 ^m	0,214 ±0,0003 ^{ghijklmnop}	0,299 ±0,0006 ^{km}
Z13 (m)	4,402 ±0,0063 ^{ln}	1,617 ±0,0008 ^{ln}	0,136 ±0,0001 ^{jklno}	0,177 ±0,0005 ^{ln}	0,214 ±0,0001 ^{hijklnopq}	0,300 ±0,0004 ^{ln}
Z14 (n)	4,365 ±0,0173 ^m	1,614 ±0,0027 ^{lmo}	0,136 ±0,0005 ^{lmop}	0,179 ±0,0013 ^m	0,215 ±0,0001 ^{ijklmopq}	0,302 ±0,0007 ^{mo}
Z15 (o)	4,313 ±0,0029 ^p	1,606 ±0,0018 ^{npq}	0,137 ±0,0001 ^{mnp}	0,185 ±0,0018*	0,215 ±0,0001 ^{klmnpqr}	0,304 ±0,0001 ^{np}
Z16 (p)	4,274 ±0,0032 ^{oq}	1,601 ±0,0008 ^{oqr}	0,138 ±0,0001 ^{noq}	0,188 ±0,0018*	0,215 ±0,0001 ^{klmnoqrs}	0,305 ±0,0005 ^{oq}
Z17 (q)	4,235 ±0,0069 ^{pr}	1,600 ±0,0003 ^{opr}	0,140 ±0,0001 ^{pr}	0,193 ±0,0012*	0,216 ±0,0003 ^{mnoprs}	0,308 ±0,0008 ^{pr}
Z18 (r)	4,199 ±0,0044 ^{qs}	1,594 ±0,0024 ^{pqst}	0,141 ±0,0003 ^{qs}	0,196 ±0,0012*	0,217 ±0,0001 ^{opqs}	0,309 ±0,0007 ^{qs}
Z19 (s)	4,160 ±0,0008 ^{rt}	1,587 ±0,0013 ^{rtu}	0,143 ±0,0003 ^{rtv}	0,201 ±0,0013*	0,217 ±0,0002 ^{pqr}	0,311 ±0,0008 ^{rt}
Z20 (t)	4,128 ±0,0160 ^s	1,584 ±0,0022 ^{rsu}	0,145 ±0,0006 ^{suv}	0,205 ±0,0013*	0,223 ±0,0022*	0,312 ±0,0007 ^s
Z21 (u)	4,083 ±0,0208*	1,576 ±0,0062 st	0,146 ±0,0007 ^{tv}	0,223 ±0,0022*	0,229 ±0,0012 ^v	0,315 ±0,0009 ^v
Z22 (v)	3,875 ±0,0251*	1,561 ±0,0062*	0,145 ±0,0054 ^{stu}	0,240 ±0,0070*	0,228 ±0,0053 ^u	0,317 ±0,0051 ^u
M	223	215	196	221	170	219
G	20	18	17	18	16	19

Diferitele litere indică faptul că valorile medii determinate la diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „*” indică faptul că diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

Tabelul 6.5/ Table 6.5

Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Aligoté, anul 2015, varianta A3

Mean values and standard deviations of organic acids identified during fermentation from the 2015 Aligoté sample, variant A3

Ziua	Acid tarttric (g/L)	Acid malic (g/L)	Acid lactic (g/L)	Acid acetic (g/L)	Acid citric (g/L)	Acid succinic (g/L)
Z1(a)	5,073 ±0,0198 ^f	1,867 ±0,0171 [*]	0,101 ±0,0010 [*]	0,100 ±0,0010 ^{bc}	0,200 ±0,0005 ^b	0,257 ±0,0014 [*]
Z2(b)	5,241 ±0,0279 ^c	1,847 ±0,0104 [*]	0,134 ±0,0325 [*]	0,101 ±0,0006 ^{ac}	0,200 ±0,0010 ^a	0,272 ±0,0021 [*]
Z3(c)	5,210 ±0,0200 ^{bd}	1,827 ±0,0038 ^d	0,201 ±0,0020 [*]	0,102 ±0,0006 ^{ab}	0,202 ±0,0011 [*]	0,277 ±0,0021 [*]
Z4(d)	5,173 ±0,0040 ^{ce}	1,815 ±0,0071 ^c	0,276 ±0,0027 [*]	0,108 ±0,0011 [*]	0,207 ±0,0017 [*]	0,283 ±0,0028 [*]
Z5(e)	5,142 ±0,0167 ^d	1,798 ±0,0070 [*]	0,307 ±0,0004 ^{efghijkl}	0,158 ±0,0015 [*]	0,209 ±0,0002 ^f	0,299 ±0,0029 [*]
Z6(f)	5,086 ±0,0251 ^a	1,772 ±0,0173 [*]	0,309 ±0,0005 ^{efghijklm}	0,171 ±0,0017 [*]	0,210 ±0,0005 ^{eg}	0,314 ±0,0013 [*]
Z7(g)	5,004 ±0,0487 [*]	1,706 ±0,0167 [*]	0,310 ±0,0002 ^{efghijklm}	0,177 ±0,0017 [*]	0,211 ±0,0002 ^{fh}	0,316 ±0,0006 ^{hi}
Z8(h)	4,899 ±0,0478 [*]	1,608 ±0,0079 [*]	0,312 ±0,0005 ^{efghijklmn}	0,186 ±0,0018 [*]	0,212 ±0,0004 ^{gi}	0,317 ±0,0002 ^{gi}
Z9(i)	4,771 ±0,0237 [*]	1,587 ±0,0041 [*]	0,313 ±0,0003 ^{efghijklmno}	0,193 ±0,0010 [*]	0,213 ±0,0002 ^{hj}	0,318 ±0,0005 ^{ghjk}
Z10(j)	4,706 ±0,0196 ^k	1,567 ±0,0100 [*]	0,314 ±0,0007 ^{efghijklmno}	0,195 ±0,0010 [*]	0,214 ±0,0003 ^{ik}	0,319 ±0,0001 ^{ikl}
Z11(k)	4,663 ±0,0183 ^j	1,540 ±0,0137 [*]	0,316 ±0,0003 ^{efghijlmnop}	0,206 ±0,0003 ^l	0,214 ±0,0001 ^{jl}	0,320 ±0,0001 ^{ijl}
Z12(l)	4,598 ±0,0184 [*]	1,513 ±0,0050 ^m	0,317 ±0,0009 ^{efghijkmnopq}	0,208 ±0,0002 ^{km}	0,215 ±0,0005 ^{km}	0,320 ±0,0003 ^{ikm}
Z13(m)	4,540 ±0,0265 [*]	1,503 ±0,0032 ^{ln}	0,319 ±0,0003 ^{efghijknopqr}	0,210 ±0,0005 ^{ln}	0,216 ±0,0003 ^{ln}	0,322 ±0,0008 ^{lno}
Z14(n)	4,466 ±0,0292 [*]	1,490 ±0,0029 ^{mo}	0,322 ±0,0007 ^{hijklmnopqs}	0,212 ±0,0015 ^m	0,217 ±0,0004 ^{mo}	0,323 ±0,0002 ^{mo}
Z15(o)	4,413 ±0,0214 [*]	1,482 ±0,0041 ^{np}	0,324 ±0,0002 ^{ijklmnpqrst}	0,217 ±0,0003 ^p	0,218 ±0,0004 ^{np}	0,323 ±0,0001 ^{mnp}
Z16(p)	4,353 ±0,0191 [*]	1,474 ±0,0046 ^{oqr}	0,326 ±0,0004 ^{klmnopqrst}	0,219 ±0,0002 ^{oq}	0,218 ±0,0003 ^{oq}	0,325 ±0,0011 ^{oq}
Z17(q)	4,304 ±0,0247 [*]	1,468 ±0,0009 ^{prs}	0,328 ±0,0009 ^{lmnoprstu}	0,221 ±0,0002 ^p	0,219 ±0,0004 ^{pr}	0,326 ±0,0003 ^p
Z18(r)	4,255 ±0,0108 ^s	1,461 ±0,0027 ^{pqrst}	0,330 ±0,0004 ^{mnopqstu}	0,226 ±0,0011 [*]	0,220 ±0,0002 ^{qs}	0,330 ±0,0016 [*]
Z19(s)	4,224 ±0,0193 ^{rt}	1,454 ±0,0006 ^{qrstu}	0,332 ±0,0011 ^{nopqrstu}	0,230 ±0,0011 [*]	0,220 ±0,0006 ^{rt}	0,333 ±0,0009 [*]
Z20(t)	4,182 ±0,0190 ^s	1,449 ±0,0029 ^{rsu}	0,334 ±0,0015 ^{opqrstuv}	0,233 ±0,0022 [*]	0,222 ±0,0002 ^s	0,335 ±0,0012 [*]
Z21(u)	4,048 ±0,0399 [*]	1,441 ±0,0021 ^{stv}	0,339 ±0,0007 ^{qrstv}	0,251 ±0,0025 [*]	0,223 ±0,0007 [*]	0,338 ±0,0006 [*]
Z22(v)	3,969 ±0,0389 [*]	1,434 ±0,0046 ^u	0,343 ±0,0018 ^{tu}	0,257 ±0,0025 [*]	0,226 ±0,0020 [*]	0,340 ±0,0004 [*]
M	224	216	153	223	215	217
G	18	19	15	18	20	18

Diferitele litere indică faptul că valorile medii determinate la diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „*” indică faptul că diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

Tabelul 6.6/ Table 6.6

Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Aligoté, anul 2015, varianta A4

Mean values and standard deviations of organic acids identified during fermentation from the 2015 Aligoté sample, variant A4

Ziua	Acid tartric (g/L)	Acid malic (g/L)	Acid lactic (g/L)	Acid acetic (g/L)	Acid citric (g/L)	Acid succinic (g/L)
Z1 (a)	5,073 ±0,0198 ^d	1,867 ±0,0171 [*]	0,101 ±0,0010 [*]	0,100 ±0,0010 [*]	0,200 ±0,0005 ^b	0,257 ±0,0014 ^b
Z2 (b)	5,216 ±0,0282 [*]	1,819 ±0,0179 [*]	0,104 ±0,0010 [*]	0,103 ±0,0010 [*]	0,200 ±0,0012 ^a	0,257 ±0,0013 ^a
Z3 (c)	5,142 ±0,0131 [*]	1,514 ±0,0086 [*]	0,134 ±0,0013 [*]	0,104 ±0,0006 [*]	0,203 ±0,0006 [*]	0,261 ±0,0009 [*]
Z4 (d)	5,070 ±0,0370 ^a	1,490 ±0,0083 [*]	0,149 ±0,0008 [*]	0,106 ±0,0003 [*]	0,204 ±0,0006 [*]	0,264 ±0,0011 [*]
Z5 (e)	4,900 ±0,0240 [*]	1,393 ±0,0137 [*]	0,151 ±0,0003 ^f	0,107 ±0,0005 [*]	0,206 ±0,0003 [*]	0,267 ±0,0012 [*]
Z6 (f)	4,827 ±0,0241 [*]	1,361 ±0,0067 [*]	0,151 ±0,0005 ^{eg}	0,108 ±0,0006 [*]	0,207 ±0,0007 [*]	0,269 ±0,0011 [*]
Z7 (g)	4,728 ±0,0466 [*]	1,345 ±0,0024 ^h	0,152 ±0,0002 ^h	0,110 ±0,0001 [*]	0,208 ±0,0001 ^{hi}	0,271 ±0,0009 [*]
Z8 (h)	4,570 ±0,0450 [*]	1,335 ±0,0057 ^{gi}	0,153 ±0,0004 ^{gi}	0,111 ±0,0001 ⁱ	0,208 ±0,0001 ^{gi}	0,274 ±0,0007 [*]
Z9 (i)	4,299 ±0,0228 [*]	1,328 ±0,0026 ^{hj}	0,154 ±0,0004 ^{hj}	0,112 ±0,0001 ^h	0,209 ±0,0002 ^{ghj}	0,276 ±0,0011 [*]
Z10 (j)	4,242 ±0,0227 [*]	1,318 ±0,0018 ^{ik}	0,154 ±0,0003 ^{ik}	0,113 ±0,0006 [*]	0,209 ±0,0002 ^{ik}	0,279 ±0,0014 [*]
Z11 (k)	4,157 ±0,0222 [*]	1,315 ±0,0022 ^{il}	0,155 ±0,0005 ^j	0,118 ±0,0003 [*]	0,210 ±0,0003 ^{jlm}	0,286 ±0,0004 [*]
Z12 (l)	4,092 ±0,0201 [*]	1,305 ±0,0024 ^{km}	0,157 ±0,0009 [*]	0,119 ±0,0003 ^m	0,210 ±0,0001 ^{kmm}	0,288 ±0,0007 ^m
Z13 (m)	4,046 ±0,0179 ⁿ	1,295 ±0,0049 ^l	0,159 ±0,0015 [*]	0,120 ±0,0003 ^{ln}	0,210 ±0,0001 ^{klm}	0,290 ±0,0006 ^{ln}
Z14 (n)	4,005 ±0,0145 ^{mo}	1,275 ±0,0049 ^o	0,162 ±0,0010 [*]	0,120 ±0,0002 ^m	0,210 ±0,0002 ^{lmo}	0,292 ±0,0001 ^{mo}
Z15 (o)	3,973 ±0,0075 ⁿ	1,264 ±0,0032 ^{np}	0,164 ±0,0006 [*]	0,122 ±0,0005 [*]	0,211 ±0,0001 ^{np}	0,293 ±0,0006 ^{np}
Z16 (p)	3,924 ±0,0242 [*]	1,257 ±0,0014 ^{oq}	0,166 ±0,0003 [*]	0,123 ±0,0010 [*]	0,211 ±0,0002 ^{oq}	0,294 ±0,0001 ^o
Z17 (q)	3,819 ±0,0193 ^r	1,249 ±0,0024 ^{pr}	0,167 ±0,0003 [*]	0,125 ±0,0005 [*]	0,212 ±0,0003 ^{prs}	0,296 ±0,0007 ^r
Z18 (r)	3,788 ±0,0152 ^{qs}	1,243 ±0,0029 ^{qs}	0,168 ±0,0008 [*]	0,126 ±0,0005 ^s	0,212 ±0,0001 ^{qs}	0,297 ±0,0001 ^q
Z19 (s)	3,761 ±0,0110 ^{rt}	1,234 ±0,0030 ^{rt}	0,170 ±0,0008 [*]	0,127 ±0,0005 ^{rt}	0,212 ±0,0001 ^{qrt}	0,299 ±0,0008 ^t
Z20 (t)	3,727 ±0,0132 ^s	1,228 ±0,0004 ^{su}	0,171 ±0,0005 [*]	0,128 ±0,0003 ^s	0,213 ±0,0001 ^{su}	0,300 ±0,0007 ^s
Z21 (u)	3,583 ±0,0350 [*]	1,218 ±0,0023 ^{tv}	0,173 ±0,0004 [*]	0,130 ±0,0009 [*]	0,213 ±0,0003 ^t	0,303 ±0,0002 [*]
Z22 (v)	3,490 ±0,0337 [*]	1,208 ±0,0063 ^u	0,174 ±0,0009 [*]	0,187 ±0,0018 [*]	0,214 ±0,0005 [*]	0,338 ±0,0033 [*]
M	225	217	225	226	212	224
G	19	20	21	19	17	18

Diferitele litere indică faptul că valorile medii determinate la diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „*” indică faptul că diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

Tabelul 6.7/ Table 6.7

Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Aligoté, anul 2015, varianta A5

Mean values and standard deviations of organic acids identified during fermentation from the 2015 Aligoté sample, variant A5

Ziua	Acid tartric (g/L)	Acid malic (g/L)	Acid lactic (g/L)	Acid acetic (g/L)	Acid citric (g/L)	Acid succinic (g/L)
Z1 (a)	5,073 ±0,0198 ^{ef}	1,867 ±0,0171 [*]	0,101 ±0,0010 [*]	0,100 ±0,0010 ^b	0,200 ±0,0005 [*]	0,257 ±0,0014 [*]
Z2 (b)	5,206 ±0,0272 [*]	1,820 ±0,0030 ^c	0,103 ±0,0010 [*]	0,101 ±0,0010 ^a	0,203 ±0,0010 [*]	0,294 ±0,0027 [*]
Z3 (c)	5,155 ±0,0256 [*]	1,806 ±0,0089 ^b	0,108 ±0,0010 [*]	0,114 ±0,0011 [*]	0,205 ±0,0002 [*]	0,298 ±0,0008 [*]
Z4 (d)	5,106 ±0,0258 ^c	1,789 ±0,0090 [*]	0,118 ±0,0012 [*]	0,119 ±0,0012 [*]	0,205 ±0,0002 [*]	0,301 ±0,0003 ^{efg}
Z5 (e)	5,073 ±0,0020 ^{adf}	1,746 ±0,0169 [*]	0,129 ±0,0006 ^f	0,147 ±0,0010 [*]	0,206 ±0,0003 [*]	0,301 ±0,0001 ^{dfig}
Z6 (f)	5,041 ±0,0240 ^{ae}	1,704 ±0,0167 [*]	0,131 ±0,0003 ^{eg}	0,150 ±0,0011 [*]	0,207 ±0,0003 [*]	0,302 ±0,0004 ^{degh}
Z7 (g)	4,990 ±0,0273 [*]	1,649 ±0,0159 [*]	0,132 ±0,0002 ^{fh}	0,160 ±0,0012 [*]	0,208 ±0,0002 [*]	0,303 ±0,0006 ^{defhij}
Z8 (h)	4,484 ±0,0218 [*]	1,617 ±0,0155 [*]	0,132 ±0,0004 ^{gi}	0,163 ±0,0012 [*]	0,209 ±0,0003 ⁱ	0,304 ±0,0001 ^{fgijk}
Z9 (i)	4,440 ±0,0175 ^j	1,559 ±0,0137 [*]	0,134 ±0,0010 ^h	0,168 ±0,0009 [*]	0,209 ±0,0001 ^{hj}	0,304 ±0,0001 ^{ghjk}
Z10 (j)	4,410 ±0,0110 ⁱ	1,530 ±0,0132 [*]	0,137 ±0,0013 [*]	0,171 ±0,0009 [*]	0,210 ±0,0001 ^{ik}	0,305 ±0,0003 ^{ghkl}
Z11 (k)	4,362 ±0,0225 [*]	1,495 ±0,0147 [*]	0,139 ±0,0006 ^l	0,179 ±0,0012 [*]	0,210 ±0,0001 ^j	0,305 ±0,0006 ^{hijlm}
Z12 (l)	4,235 ±0,0286 [*]	1,474 ±0,0083 [*]	0,140 ±0,0003 ^{km}	0,182 ±0,0012 [*]	0,211 ±0,0004 [*]	0,307 ±0,0001 ^{ikmno}
Z13 (m)	4,186 ±0,0017 ⁿ	1,455 ±0,0083 ⁿ	0,141 ±0,0001 ^{ln}	0,190 ±0,0010 ⁿ	0,211 ±0,0002 ⁿ	0,307 ±0,0001 ^{kln}
Z14 (n)	4,154 ±0,0144 ^{mo}	1,444 ±0,0004 ^{mop}	0,142 ±0,0001 ^{mo}	0,192 ±0,0009 ^{mo}	0,212 ±0,0002 ^{mo}	0,308 ±0,0004 ^{lmo}
Z15 (o)	4,138 ±0,0058 ^{np}	1,433 ±0,0038 ^{npq}	0,143 ±0,0003 ^{np}	0,194 ±0,0007 ⁿ	0,212 ±0,0001 ^{np}	0,309 ±0,0010 ^{lmn}
Z16 (p)	4,113 ±0,0142 ^{oq}	1,429 ±0,0004 ^{noqr}	0,144 ±0,0005 ^o	0,196 ±0,0016 [*]	0,213 ±0,0001 ^o	0,312 ±0,0020 [*]
Z17 (q)	4,098 ±0,0057 ^p	1,419 ±0,0038 ^{oprs}	0,145 ±0,0009 [*]	0,201 ±0,0010 ^v	0,213 ±0,0002 [*]	0,321 ±0,0029 [*]
Z18 (r)	4,058 ±0,0056 [*]	1,415 ±0,0004 ^{pqst}	0,150 ±0,0015 [*]	0,204 ±0,0004 ^v	0,214 ±0,0002 ^s	0,327 ±0,0025 [*]
Z19 (s)	3,805 ±0,0245 [*]	1,410 ±0,0011 ^{qrt}	0,152 ±0,0009 [*]	0,205 ±0,0004 [*]	0,214 ±0,0002 ^{rt}	0,331 ±0,0008 [*]
Z20 (t)	3,760 ±0,0107 [*]	1,401 ±0,0034 ^{rsu}	0,154 ±0,0009 [*]	0,208 ±0,0011 [*]	0,215 ±0,0002 ^s	0,334 ±0,0014 [*]
Z21 (u)	3,715 ±0,0185 [*]	1,387 ±0,0074 ^t	0,157 ±0,0016 [*]	0,216 ±0,0021 [*]	0,217 ±0,0003 [*]	0,338 ±0,0014 ^v
Z22 (v)	3,637 ±0,0352 [*]	1,366 ±0,0071 [*]	0,166 ±0,0008 [*]	0,202 ±0,0020 ^{qr}	0,219 ±0,0005 [*]	0,338 ±0,0033 ^u
M	222	217	222	226	223	205
G	18	19	20	19	19	16

Diferitele litere indică faptul că valorile medii determinate la diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „*” indică faptul că diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

6.2.2. Interpretarea statistică a rezultatelor obținute privind conținutul în acizi organici determinați din vinurile Fetească regală

În tabelele 6.8 – 6.12 sunt prezentate rezultatele aplicării procedurii de comparare multiplă a mediilor obținute în cazul determinării acizilor, la probele prelevate în timpul fermentației alcoolice la vinul din soiul Fetească regală, în vederea stabilirii eventualelor diferențe semnificative din punct de vedere statistic dintre acestea. Asterixul plasat în dreptul unor valori medii ale acizilor indică faptul că aceste perechi de medii prezintă diferențe statistic semnificative față de toate celelalte valori medii, identificându-se un număr cuprins între 94 și 227 de perechi de medii ce prezintă diferențe statistic semnificative calculate pentru o probabilitate de transgresiune testată de $p=0,05$. Diferitele litere plasate ca indice în dreptul unor valori medii ale acizilor, determinați analitic, indică faptul că între acestea nu există diferențe statistic semnificative pentru un interval de încredere de 95%. Metoda statistică pentru diferențierea sau identificarea eventualelor grupuri omogene de medii a fost testul Fisher (LSD least significant difference). În urma aplicării acestei testări a fost identificat un număr cuprins între 8 – 20 grupuri omogene de medii, grupuri în interiorul cărora nu există diferențe statistic semnificative pentru intervalul de încredere de 95%.

Valorile și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în zile diferite de fermentare, din probele obținute din soiul Fetească regală, din anul 2015, sunt prezentate în tabelele 6.8 – 6.12. Varianta F1, este analizată comparativ cu variantele de studiu F2 și F3 la volume mici, respectiv F4 și F5 la cisternă.

Acidul tartric la varianta F1 în zilele diferite de fermentare (tabelul 6.8) a înregistrat valori cuprinse între 3,61 g/L, în ultima zi a fermentației alcoolice și 5,24 g/L, în ziua a treia zi de fermentație. Trendul după a treia zi, este unul de scădere al conținutului în acid tartric.

Variantele analizate, evidențiază cea mai mică valoare a acidului tartric la variantele F4 și F5 având o concentrație de 3,28 g/L. Cea mai mare valoare o întâlnim la varianta F2, înregistrându-se 3,87 g/L. Valorile variantelor F2 și F4 cât și cele ale variantelor F3 și F5 (variante unde a fost utilizată aceeași levură, diferind volumul fermentativ dar și condițiile de fermentare) prezintă concentrații mai scăzute în acid tartric, în vin, în comparație cu variantele unde fermentația a avut loc la cisternă (F4 și F5). Aceste rezultate se corelează cu temperatura mai scăzută din timpul fermentației alcoolice, ce favorizează precipitarea acidului tartric (Odăgeriu, 2006).

Conținutul acidului tartric scade pe parcursul fermentării mustului. La prelucrarea strugurilor, acidul tartric liber trece în totalitate în must, iar tartrații doar parțial. În timpul fermentării mustului, datorită formării alcoolului și respectiv a creșterii concentrației acestuia, solubilitatea tartraților se micșorează treptat, iar surplusul precipită. Precipitarea în timpul fermentației alcoolice este sporită și de

acțiunea sinergică a temperaturii controlate, mai mici, la variantele unde fermentarea a avut loc la cisterne (F4 și F5).

Gradul de suprasaturare a vinului în tartrat acid și tartrat neutru de calciu și potasiu diferă de la un vin la altul în funcție de concentrația de alcool, de temperatură, de pH, de gradul de disociere a acidului tartric și de forța ionică (Odăgeriu, 2006).

Pe parcursul fementației alcoolice valorile acidului malic variază între 1,14 g/L la varianta F4 și 1,21 g/L la variantele F1 și F5. Tendința descendentă a acestui acid din timpul fermentației alcoolice este evidențiată la toate variantele analizate. De-a lungul procesului fermentativ, levurile folosite au capacități diferite de a metaboliza acidul malic, astfel încât concentrațiile finale sunt diferite. Rezultate asemănătoare s-au obținut și în alte cercetări, unde levurile *Saccharomyces* au degradat între 3 și 45% din cantitatea inițială de acid L-malic (Rankine, 1966).

Acidul lactic la varianta F1 înregistrează o concentrație în vin de 0,16 g/L, iar la celelalte variante înregistrează valori cuprinse între 0,15 g/L la varianta F5 și 0,19 g/L la varianta F3. Acestea variază în funcție de temperatura înregistrată în timpul procesului fermentativ. Pe durata fermentației alcoolice, acidul lactic are o tendință crescătoare odată cu obținerea vinului, acest lucru putând fi corelat cu producerea acidului lactic de către levuri (Jackson, 2020).

La varianta F1, acidul acetic are cea mai mică valoare (0,16 g/L) iar cea mai mare valoare o prezintă varianta F3 (0,41 g/L). Concentrațiile mai mici ale acidului acetic la variantele fermentate la cisterne față de variantele fermentate la vase de sticlă F5 respectiv F3 (0,18 – 0,41 g/L) și F4 respectiv F2 (0,23 – 0,36 g/L) pot fi puse pe seama temperaturilor înregistrate în timpul procesului fermentativ. Diferitele studii relevă faptul că variația temperaturii și a condițiilor de fermentare fac parte dintre factorii ce influențează aciditatea volatilă (Romano și colab., 2019). Acidul acetic prezintă o tendință crescătoare pe durata fermentației alcoolice.

În timpul fermentației, levurile din genul *S. cerevisiae* au capacitatea de a produce în mod normal acid acetic în cantități diferite, mai mici de 300 mg/L (Thorngate, 1997), în aceste concentrații, fiind un compus odorant de dorit adăugând complexitate vinului (Jackson, 2020).

Acidul citric are o concentrație de 0,29 g/L, în vin la varianta F1, valoare intermediară variantelor F3 (0,31 g/L) și variantelor fermentate la cisternă F4 și F5 (0,27 g/L). Variantele fermentate la vase de sticlă de capacități mici (50 L) înregistrează cele mai mari creșteri pe durata fermentației alcoolice de la 0,27 g/L în must, la 0,31 g/L în cazul variantei F3.

La toate vinurile realizate, valorile obținute pentru acidul citric sunt în concordanță cu literatura de specialitate, care raportează valori întâlnite în mod normal după prelucrarea strugurilor cuprinse între 0,2 și 0,4 g/L (Cotea și colab., 2009).

Acidul fumaric și acidul shikimic s-au găsit în probele analizate în cantități mai mici decât prevăd normele OIV (5 g/L față de 20 mg/L, respectiv 15 g/L față de 20 mg/L).

În tabelul 6.13 sunt prezentate rezultatele testării statistice ANOVA, a valorilor medii determinate pentru fiecare acid organic studiat, funcție de momentul prelevării din timpul procesului fermentativ (ziua prelevării) și pentru fiecare variantă de vin realizată la soiul Aligoté. Contribuția fiecărui factor a fost analizată eliminând influențele tuturor celorlalți factori. Atât timp cât valoarea probabilității calculate (p-calculat) este mai mica de 0,05, acest factor testat (ziua prelevării probei din procesul fermentativ) are o influență statistică semnificativă asupra conținutului în acizii organici determinați în acest studiu pentru un interval de încredere de 95%.

Rezultatele testării ANOVA a valorilor medii determinate pentru fiecare acid organic studiat, funcție de momentul prelevării din timpul procesului fermentativ (ziua prelevării) și pentru fiecare variantă de vin realizată la soiul Fetească regală sunt prezentate în tabelul 6.14. S-a analizat contribuția fiecărui factor, fiind eliminate influențele tuturor celorlalți factori. Atât timp cât valoarea probabilității calculate (p-calculat) este mai mica de 0,05, acest factor testat (ziua prelevării probei din procesul fermentativ) are o influență statistică semnificativă asupra conținutului în acizii organici determinați în acest studiu pentru un interval de încredere de 95%.

În tabelul 6.15 sunt prezentate rezultatele aplicării procedurii de comparare multiplă a mediilor obținute în cazul determinării acizilor, la variantele analizate din soiul Aligoté, în vederea stabilirii eventualelor diferențe semnificative din punct de vedere statistic dintre acestea. Asterixul plasat în dreptul unor valori medii ale acizilor indică faptul că aceste perechi de medii prezintă diferențe statistic semnificative față de toate celelalte valori medii, identificându-se un număr cuprins între 9 perechi de medii în cazul acidului lactic și 10 de perechi de medii pentru restul acizilor luați în calcul ce prezintă diferențe statistic semnificative calculate pentru o probabilitate de transgresiune testată de $p = 0,05$. Diferitele litere plasate ca indice în dreptul unor valori medii ale acizilor, determinate analitic, indică faptul că între acestea nu există diferență statistică semnificativă pentru un interval de încredere de 95%. Metoda statistică pentru diferențierea sau identificarea eventualelor grupuri omogene de medii a fost testul Fisher (LSD). În urma aplicării acestei testări au fost identificate 4 grupuri omogene de medii în cazul acidului lactic și 5 grupuri omogene pentru ceilalți acizi, grupuri în interiorul cărora nu există diferențe statistic semnificative pentru intervalul de încredere de 95%.

În tabelul 6.16 sunt prezentate rezultatele aplicării procedurii de comparare multiplă a mediilor obținute în cazul determinării acizilor, la variantele analizate din soiul Fetească regală, în vederea stabilirii eventualelor diferențe semnificative din punct de vedere statistic dintre acestea. Asterixul pe care îl găsim plasat în dreptul unor valori medii ale acizilor indică faptul că aceste perechi de medii prezintă

diferențe statistic semnificative față de toate celelalte valori medii. S-au identificat între 8 perechi de medii (în cazul acizilor succinic și malic) și 10 de perechi de medii pentru acizii tartric, lactic, acetic și citric care prezintă diferențe statistic semnificative calculate corespunzătoare unei probabilități de transgresiune testată de $p = 0,05$. Diferitele litere plasate ca indice în dreptul unor valori medii ale acizilor, determinate analitic, indică faptul că între acestea nu există diferență statistică semnificativă pentru un interval de încredere de 95%. Metoda statistică pentru diferențierea sau identificarea eventualelor grupuri omogene de medii a fost testul Fisher (LSD). În urma aplicării acestui test au fost identificate 3 grupuri omogene de medii în cazul acizilor malic și succinic, iar pentru ceilalți acizi câte 5 grupuri omogene în interiorul cărora nu există diferențe statistic semnificative pentru un nivel de încredere de 95%.

În tabelul 6.17 sunt prezentate rezultatele testării ANOVA multifactorial privind influența a doi factori (varianta și ziua prelevării) precum și influența sinergică a acestora asupra valorilor determinate în ceea ce privește conținutul în acizi organici identificați în studiul de față la vinurile obținute din soiul Aligoté. Contribuția fiecărui factor a fost analizată eliminând influențele tuturor celorlalți factori. Întrucât valorile probabilităților calculate sunt mai mici decât valoarea probabilității testate (0.05) se respinge ipoteza de nul cum că varianțele prezentate de valorile determinate de fiecare acid în parte identificat sunt egale. Acest fapt duce la acceptarea ipotezei că factorul testat, respectiv varianta studiată și ziua prelevării precum și sinergia dintre cei doi factori au influență statistică semnificativă asupra conținutului în acizii organici identificați pentru un interval de încredere de 95%.

În urma aplicării testului ANOVA multifactorial, sunt prezentate în tabelul 6.18 influența sinergică a variantei și zilei de prelevare, cât și influența separată a celor doi factori asupra valorilor obținute în ceea ce privește conținutul în acizi organici identificați în studiul de față la vinurile soiului Fetească regală. Eliminând influențele tuturor celorlalți factori, s-a analizat contribuția fiecărui factor în parte. Deoarece valoarea probabilității calculate este mai mică decât valoarea probabilității testată ($p\text{-calculat} = 0 < p = 0,05$), ipoteza de nul se respinge care presupune că varianțele prezentate de valorile determinate la fiecare acid în parte sunt egale. Acesta duce la acceptarea ipotezei care presupune că factorul testat (varianta studiată, ziua prelevării și sinergia dintre cei doi factori), au influență statistică semnificativă asupra conținutului în acizii organici identificați pentru o probabilitate de acoperire de 95%.

De aici reiese concluzia că valorile nu sunt constante vinurilor obținute din același soi de struguri, ele fiind în strânsă corelație cu tehnologia folosită în procesul fermentativ și cu levurile folosite în vinificație.

Tabelul 6.8/ Table 6.8

Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Fetească regală, anul 2015, varianta F1
Mean values and standard deviations of organic acids identified during fermentation from the 2015 Fetească regală sample, variant F1

Ziua	Acid tartric (g/L)	Acid malic (g/L)	Acid lactic (g/L)	Acid acetic (g/L)	Acid citric (g/L)	Acid succinic (g/L)
1	2	3	4	5	6	7
Z1 (a)	5,146 ±0,0248 ^c	1,563 ±0,0014 [*]	0,137±0,0013 [*]	0,103±0,0020 ^{bdefghij}	0,245±0,0012 ^{bdefghijkl}	0,206 ±0,0019 ^b
Z2 (b)	5,009 ±0,0480 [*]	1,553 ±0,0061 ^c	0,140 ±0,0008 ^{cd}	0,106 ±0,0010 ^{acdefghijkl}	0,245 ±0,0008 ^{acdefghijk}	0,209 ±0,0011 ^{ac}
Z3 (c)	5,242 ±0,0255 ^a	1,547 ±0,0004 ^{bd}	0,142 ±0,0008 ^{bde}	0,107 ±0,0001 ^{abdefghijklm}	0,246 ±0,0002 ^{abdefghijkl}	0,212 ±0,0002 ^b
Z4 (d)	4,909 ±0,0474 [*]	1,538 ±0,0060 ^{cef}	0,145 ±0,0007 ^{bcefg}	0,108 ±0,0001 ^{abcefgghijklm}	0,248 ±0,0004 ^{abcefgghijklm}	0,214 ±0,0002 ^c
Z5 (e)	4,753 ±0,0235 [*]	1,532 ±0,0004 ^{df}	0,147 ±0,0007 ^{cdghijklmn}	0,109 ±0,0005 ^{abcdghijklm}	0,249 ±0,0006 ^{abcdghijklm}	0,216 ±0,0004 ^d
Z6 (f)	4,696 ±0,0161 ^g	1,522 ±0,0067 ^{de}	0,149 ±0,0005 ^{deghijklmnopqr}	0,109 ±0,0001 ^{abcdghijklm}	0,251 ±0,0006 ^{abcdghijklm}	0,219 ±0,0011 [*]
Z7 (g)	4,639 ±0,0335 ^f	1,448 ±0,0140 [*]	0,151 ±0,0003 ^{defghijklmnopqrstu}	0,110 ±0,0005 ^{abcdghijklmn}	0,252 ±0,0002 ^{abcdghijklm}	0,227 ±0,0011 ^h
Z8 (h)	4,446 ±0,0219 ⁱ	1,395 ±0,0134 [*]	0,151 ±0,0001 ^{defghijklmnopqrstu}	0,111 ±0,0005 ^{abcdghijklmn}	0,255 ±0,0004 ^{abcdghijklmn}	0,230 ±0,0011 ^{gij}
Z9 (i)	4,387 ±0,0113 ^{hj}	1,360 ±0,0131 [*]	0,151 ±0,0003 ^{efghijklmnopqrstu}	0,113 ±0,0010 ^{abcdghijklmn}	0,256 ±0,0005 ^{abcdghijklmn}	0,234 ±0,0006 ^{hijkl}
Z10 (j)	4,354 ±0,0029 ^{ik}	1,332 ±0,0054 [*]	0,152 ±0,0001 ^{efghijklmnopqrstu}	0,124 ±0,0012 ^{abcdghijklmno}	0,257 ±0,0007 ^{abcdghijklmn}	0,235 ±0,0003 ^{hiklm}
Z11 (k)	4,318 ±0,0147 ^{jl}	1,319 ±0,0052 ^l	0,152 ±0,0001 ^{efghijklmnopqrstu}	0,128 ±0,0012 ^{bcdghijklmno}	0,258 ±0,0001 ^{abcdghijklmn}	0,236 ±0,0001 ^{ijlmn}
Z12 (l)	4,276 ±0,0145 ^{km}	1,306 ±0,0050 ^{km}	0,153 ±0,0001 ^{efghijklmnopqrstu}	0,134 ±0,0013 ^{bcdghijklmno}	0,259 ±0,0001 ^{abcdghijklmno}	0,236 ±0,0002 ^{ijklnmo}
Z13 (m)	4,221 ±0,0416 ^{ln}	1,287 ±0,0071 ^{ln}	0,153 ±0,0001 ^{efghijklmnopqrstu}	0,136 ±0,0010 ^{cdefghijklno}	0,259 ±0,0001 ^{defghijklno}	0,237 ±0,0002 ^{ijklnop}
Z14 (n)	4,138 ±0,0221 ^{mop}	1,274 ±0,0046 ^{mop}	0,153 ±0,0001 ^{efghijklmnopqrstu}	0,138 ±0,0003 ^{ghijklmo}	0,260 ±0,0002 ^{hijklmo}	0,237 ±0,0004 ^{klmnopqr}
Z15 (o)	4,074 ±0,0192 ^{npq}	1,266 ±0,0007 ^{npqr}	0,154 ±0,0001 ^{efghijklmnopqrstu}	0,140 ±0,0007 ^{ijklmnp}	0,261 ±0,0001 ^{lmnp}	0,238 ±0,0001 ^{lmnpqrs}
Z16 (p)	4,044 ±0,0029 ^{noq}	1,258 ±0,0014 ^{noqrs}	0,154 ±0,0001 ^{efghijklmnopqrstu}	0,143 ±0,0007 ^{oq}	0,261 ±0,0001 ^{oqrst}	0,238 ±0,0005 ^{mnoqrs}
Z17 (q)	4,007 ±0,0055 ^{opr}	1,253 ±0,0021 ^{oprst}	0,154 ±0,0001 ^{efghijklmnopqrstu}	0,145 ±0,0005 ^{prstu}	0,262 ±0,0002 ^{prst}	0,239 ±0,0001 ^{noprst}
Z18 (r)	3,967 ±0,0056 ^{qs}	1,246 ±0,0013 ^{opqstu}	0,154 ±0,0003 ^{efghijklmnopqstu}	0,146 ±0,0001 ^{qstu}	0,263 ±0,0002 ^{pqstu}	0,240 ±0,0002 ^{nopqstu}
Z19 (s)	3,746 ±0,0156 ^{rtu}	1,241 ±0,0020 ^{pqrstu}	0,155 ±0,0001 ^{ghijklmnopqrstu}	0,146 ±0,0007 ^{qrstu}	0,264 ±0,0002 ^{pqrstu}	0,240 ±0,0001 ^{opqrstu}
Z20 (t)	3,709 ±0,0154 ^{suv}	1,231 ±0,0018 ^{qrsuv}	0,155 ±0,0002 ^{ghijklmnopqrsuv}	0,147 ±0,0003 ^{qrsuv}	0,265 ±0,0003 ^{pqrstu}	0,241 ±0,0004 ^{qrsu}
Z21 (u)	3,673 ±0,0153 ^{stv}	1,224 ±0,0058 ^{rstv}	0,156 ±0,0003 ^{ghijklmnopqrstv}	0,149 ±0,0001 ^{qrstv}	0,275 ±0,0027 ^{rstv}	0,243 ±0,0006 ^{rst}
Z22 (v)	3,612 ±0,0352 ^{tu}	1,209 ±0,0065 ^{tu}	0,156 ±0,0001 ^{stu}	0,155 ±0,0015 ^{tu}	0,286 ±0,0028 ^u	0,245 ±0,0007 [*]
M	211	204	94	131	133	190
G	17	17	8	9	9	16

Diferitele litere indică faptul că valorile medii determinate la diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „*” indică faptul că diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

Tabelul 6.9/ Table 6.9

Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Fetească regală, anul 2015, varianta F2
Mean values and standard deviations of organic acids identified during fermentation from the 2015 Fetească regală sample, variant F2

Ziua	Acid tartric	Acid malic	Acid lactic	Acid acetic	Acid citric	Acid succinic
Z1 (a)	5,146 ±0,0248 ^b	1,563 ±0,0014 [*]	0,137 ±0,0013 [*]	0,103 ±0,0020 [*]	0,245 ±0,0012 [*]	0,206 ±0,0019 [*]
Z2 (b)	5,135 ±0,0494 ^a	1,501 ±0,0010 ^c	0,139 ±0,0014 [*]	0,107 ±0,0005 ^c	0,249 ±0,0005 ^c	0,209 ±0,0001 [*]
Z3 (c)	5,211 ±0,0244 [*]	1,494 ±0,0024 ^{bd}	0,143 ±0,0014 [*]	0,108 ±0,0009 ^{bd}	0,250 ±0,0006 ^{bd}	0,212 ±0,0012 [*]
Z4 (d)	5,009 ±0,0490 [*]	1,486 ±0,0008 ^{ce}	0,148 ±0,0014 [*]	0,111 ±0,0006 ^{cef}	0,251 ±0,0003 ^{cef}	0,221 ±0,0013 [*]
Z5 (e)	4,791 ±0,0467 [*]	1,478 ±0,0048 ^{df}	0,152 ±0,0015 [*]	0,112 ±0,0001 ^{dfg}	0,252 ±0,0002 ^{dfg}	0,224 ±0,0002 [*]
Z6 (f)	4,593 ±0,0454 [*]	1,470 ±0,0033 ^e	0,156 ±0,0009 [*]	0,113 ±0,0006 ^{degh}	0,253 ±0,0002 ^{degh}	0,226 ±0,0012 [*]
Z7 (g)	4,489 ±0,0444 [*]	1,383 ±0,0135 [*]	0,158 ±0,0004 ^{hijk}	0,114 ±0,0006 ^{eth}	0,254 ±0,0004 ^{efhi}	0,235 ±0,0015 [*]
Z8 (h)	4,418 ±0,0238 [*]	1,331 ±0,0131 [*]	0,158 ±0,0001 ^{gijkl}	0,115 ±0,0006 ^{fgi}	0,254 ±0,0001 ^{fgij}	0,237 ±0,0004 ^{ij}
Z9 (i)	4,360 ±0,0238 [*]	1,293 ±0,0063 [*]	0,159 ±0,0001 ^{ghijkl}	0,117 ±0,0012 ^h	0,255 ±0,0003 ^{ghj}	0,238 ±0,0001 ^{hjk}
Z10 (j)	4,220 ±0,0119 ^k	1,274 ±0,0063 [*]	0,159 ±0,0001 ^{ghiklm}	0,131 ±0,0013 [*]	0,256 ±0,0006 ^{hik}	0,238 ±0,0001 ^{hik}
Z11 (k)	4,188 ±0,0073 ^{ilm}	1,248 ±0,0061 [*]	0,159 ±0,0001 ^{ghijlmn}	0,135 ±0,0007 ^l	0,257 ±0,0003 ^{il}	0,239 ±0,0004 ^{ijlm}
Z12 (l)	4,165 ±0,0057 ^{kln}	1,234 ±0,0026 ^m	0,160 ±0,0003 ^{hijkmnop}	0,137 ±0,0007 ^k	0,258 ±0,0010 ^k	0,240 ±0,0002 ^{kmno}
Z13 (m)	4,147 ±0,0067 ^{klno}	1,226 ±0,0038 ^l	0,160 ±0,0001 ^{jklmnop}	0,147 ±0,0015 [*]	0,262 ±0,0026 [*]	0,240 ±0,0001 ^{klno}
Z14 (n)	4,129 ±0,0031 ^{lmop}	1,213 ±0,0057 ^o	0,160 ±0,0001 ^{klmnopq}	0,156 ±0,0015 [*]	0,278 ±0,0021 [*]	0,240 ±0,0002 ^{lmo}
Z15 (o)	4,109 ±0,0108 ^{mnp}	1,205 ±0,0027 ^{np}	0,160 ±0,0001 ^{lmnopqr}	0,166 ±0,0016 [*]	0,282 ±0,0007 [*]	0,241 ±0,0004 ^{lmnp}
Z16 (p)	4,086 ±0,0079 ^{no}	1,199 ±0,0020 ^{oq}	0,161 ±0,0001 ^{lmnoqrs}	0,218 ±0,0021 [*]	0,285 ±0,0005 [*]	0,242 ±0,0003 ^{oqrs}
Z17 (q)	4,043 ±0,0213 [*]	1,191 ±0,0016 ^{pr}	0,161 ±0,0003 ^{noprstu}	0,276 ±0,0027 [*]	0,287 ±0,0007 ^r	0,242 ±0,0002 ^{prs}
Z18 (r)	3,977 ±0,0102 ^s	1,186 ±0,0019 ^{qs}	0,161 ±0,0001 ^{opqstu}	0,302 ±0,0020 [*]	0,289 ±0,0006 ^q	0,242 ±0,0001 ^{pqs}
Z19 (s)	3,948 ±0,0083 ^{rt}	1,180 ±0,0012 ^{rt}	0,162 ±0,0001 ^{pqrstu}	0,306 ±0,0006 ^t	0,291 ±0,0003 ^t	0,243 ±0,0002 ^{pqr}
Z20 (t)	3,921 ±0,0056 ^{su}	1,176 ±0,0022 ^{su}	0,162 ±0,0001 ^{qrsu}	0,309 ±0,0014 ^s	0,292 ±0,0008 ^s	0,244 ±0,0004 ^u
Z21 (u)	3,899 ±0,0102 ^{tv}	1,168 ±0,0054 ^t	0,162 ±0,0002 ^{qrst}	0,312 ±0,0015 [*]	0,295 ±0,0014 [*]	0,245 ±0,0003 ^t
Z22 (v)	3,867 ±0,0220 ^u	1,157 ±0,0058 [*]	0,164 ±0,0009 [*]	0,362 ±0,0036 [*]	0,300 ±0,0030 [*]	0,249 ±0,0016 [*]
M	216	219	188	219	214	210
G	18	19	16	18	18	15

Diferitele litere indică faptul că valorile medii determinate la diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „*” indică faptul că diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

Tabelul 6.10/ Table 6.10

Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Fetească regală, anul 2015, varianta F3
Mean values and standard deviations of organic acids identified during fermentation from the 2015 Fetească regală sample, variant F3

Ziua	Acid tartric	Acid malic	Acid lactic	Acid acetic	Acid citric	Acid succinic
Z1 (a)	5,146 ±0,0248 ^c	1,563 ±0,0014 [*]	0,137 ±0,0013 [*]	0,103 ±0,0020 [*]	0,245 ±0,0012 ^{ghijk}	0,206 ±0,0019 ^b
Z2 (b)	5,098 ±0,0311 [*]	1,548 ±0,0051 ^c	0,161 ±0,0015 [*]	0,112 ±0,0006 ^c	0,241 ±0,0003 ^c	0,205 ±0,0011 ^a
Z3 (c)	5,184 ±0,0326 ^a	1,541 ±0,0012 ^b	0,163 ±0,0008 [*]	0,113 ±0,0011 ^{bd}	0,242 ±0,0006 ^{bdef}	0,208 ±0,0011 [*]
Z4 (d)	4,940 ±0,0401 [*]	1,529 ±0,0023 ^c	0,165 ±0,0005 [*]	0,116 ±0,0008 ^{cef}	0,243 ±0,0001 ^{cef}	0,211 ±0,0013 [*]
Z5 (e)	4,850 ±0,0388 [*]	1,522 ±0,0052 ^{df}	0,167 ±0,0008 [*]	0,118 ±0,0005 ^{dfig}	0,243 ±0,0001 ^{cdfig}	0,213 ±0,0009 [*]
Z6 (f)	4,717 ±0,0254 [*]	1,512 ±0,0006 ^e	0,168 ±0,0001 ^g	0,119 ±0,0007 ^{degh}	0,243 ±0,0002 ^{cdegh}	0,216 ±0,0011 [*]
Z7 (g)	4,672 ±0,0246 [*]	1,493 ±0,0084 [*]	0,169 ±0,0002 ^{fhij}	0,121 ±0,0007 ^{efhi}	0,244 ±0,0003 ^{aefhij}	0,237 ±0,0011 [*]
Z8 (h)	4,626 ±0,0238 [*]	1,439 ±0,0141 [*]	0,170 ±0,0001 ^{gijk}	0,122 ±0,0005 ^{fgi}	0,245 ±0,0001 ^{afgijk}	0,239 ±0,0002 ⁱ
Z9 (i)	4,361 ±0,0246 [*]	1,399 ±0,0083 [*]	0,170 ±0,0002 ^{ghjkl}	0,123 ±0,0006 ^{gh}	0,245 ±0,0001 ^{aghjk}	0,240 ±0,0004 ^{hjk}
Z10 (j)	4,291 ±0,0247 [*]	1,376 ±0,0080 [*]	0,170 ±0,0001 ^{ghiklm}	0,130 ±0,0012 [*]	0,245 ±0,0002 ^{aghik}	0,241 ±0,0003 ^{iklm}
Z11 (k)	4,121 ±0,0212 [*]	1,309 ±0,0126 [*]	0,171 ±0,0003 ^{hijlmn}	0,141 ±0,0009 ⁱ	0,246 ±0,0007 ^{ahijlm}	0,241 ±0,0001 ^{ijlmn}
Z12 (l)	4,058 ±0,0203 [*]	1,279 ±0,0089 [*]	0,171 ±0,0001 ^{ijk mno}	0,143 ±0,0001 ^{km}	0,247 ±0,0002 ^{km}	0,241 ±0,0001 ^{ikmn}
Z13 (m)	3,871 ±0,0269 [*]	1,258 ±0,0071 [*]	0,171 ±0,0001 ^{ijklnop}	0,145 ±0,0008 ^l	0,248 ±0,0002 ^{kl}	0,242 ±0,0001 ^{ijklno}
Z14 (n)	3,829 ±0,0152 ^o	1,237 ±0,0096 [*]	0,172 ±0,0002 ^{klmnopq}	0,156 ±0,0015 [*]	0,250 ±0,0005 [*]	0,242 ±0,0002 ^{klmnopq}
Z15 (o)	3,800 ±0,0177 ^{np}	1,218 ±0,0074 [*]	0,172 ±0,0001 ^{lmnopqr}	0,180 ±0,0017 [*]	0,259 ±0,0026 [*]	0,243 ±0,0002 ^{mnpqr}
Z16 (p)	3,763 ±0,0175 ^o	1,205 ±0,0035 ^q	0,172 ±0,0002 ^{mnoqr}	0,260 ±0,0025 [*]	0,295 ±0,0029 [*]	0,243 ±0,0001 ^{noqr}
Z17 (q)	3,705 ±0,0189 [*]	1,197 ±0,0033 ^{pr}	0,173 ±0,0001 ^{noprst}	0,314 ±0,0031 [*]	0,299 ±0,0012 [*]	0,244 ±0,0001 ^{noprst}
Z18 (r)	3,661 ±0,0144 ^s	1,188 ±0,0025 ^{qs}	0,173 ±0,0001 ^{opqst}	0,335 ±0,0022 [*]	0,302 ±0,0010 [*]	0,245 ±0,0004 ^{opqst}
Z19 (s)	3,636 ±0,0156 ^r	1,181 ±0,0032 ^{rt}	0,174 ±0,0001 ^{qrst}	0,340 ±0,0022 [*]	0,304 ±0,0011 [*]	0,245 ±0,0003 ^{qrst}
Z20 (t)	3,594 ±0,0178 ^u	1,172 ±0,0013 ^{su}	0,174 ±0,0002 ^{qrstu}	0,349 ±0,0034 [*]	0,306 ±0,0006 [*]	0,246 ±0,0002 ^{rsu}
Z21 (u)	3,566 ±0,0144 ⁱ	1,163 ±0,0038 ⁱ	0,175 ±0,0008 ⁱ	0,395 ±0,0038 [*]	0,309 ±0,0009 [*]	0,247 ±0,0009 ⁱ
Z22 (v)	3,517 ±0,0171 [*]	1,150 ±0,0057 [*]	0,193 ±0,0019 [*]	0,410 ±0,0040 [*]	0,313 ±0,0015 [*]	0,253 ±0,0025 [*]
M	226	223	194	218	204	203
G	18	19	18	19	16	17

Diferitele litere indică faptul că valorile medii determinate la diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „*” indică faptul că diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

Tabelul 6.11/ Table 6.11

Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Fetească regală, anul 2015, varianta F4
Mean values and standard deviations of organic acids identified during fermentation from the 2015 Fetească regală sample, variant F4

Ziua	Acid tartric	Acid malic	Acid lactic	Acid acetic	Acid citric	Acid succinic
Z1 (a)	5,146 ±0,0248 ^c	1,563 ±0,0014 [*]	0,137 ±0,0013 [*]	0,103 ±0,0020 [*]	0,245 ±0,0012 [*]	0,206 ±0,0019 [*]
Z2 (b)	5,012 ±0,0485 [*]	1,530 ±0,0151 [*]	0,139 ±0,0013 [*]	0,121 ±0,0012 [*]	0,248 ±0,0016 [*]	0,210 ±0,0008 [*]
Z3 (c)	5,175 ±0,0507 ^a	1,499 ±0,0132 [*]	0,143 ±0,0014 [*]	0,137 ±0,0006 ^d	0,251 ±0,0010 ^d	0,212 ±0,0007 [*]
Z4 (d)	4,793 ±0,0236 [*]	1,471 ±0,0129 [*]	0,146 ±0,0007 [*]	0,138 ±0,0006 ^{ce}	0,252 ±0,0001 ^{cef}	0,215 ±0,0012 [*]
Z5 (e)	4,721 ±0,0232 [*]	1,446 ±0,0073 [*]	0,147 ±0,0006 [*]	0,139 ±0,0003 ^{df}	0,252 ±0,0003 ^{df}	0,218 ±0,0012 [*]
Z6 (f)	4,562 ±0,0442 [*]	1,432 ±0,0065 [*]	0,149 ±0,0008 [*]	0,140 ±0,0005 ^{eg}	0,253 ±0,0002 ^{degh}	0,226 ±0,0006 [*]
Z7 (g)	4,432 ±0,0432 [*]	1,417 ±0,0069 [*]	0,152 ±0,0001 ^h	0,142 ±0,0007 ^f	0,254 ±0,0001 ^{fhij}	0,228 ±0,0004 ^h
Z8 (h)	4,287 ±0,0267 [*]	1,398 ±0,0133 [*]	0,152 ±0,0006 ^{gij}	0,145 ±0,0007 [*]	0,254 ±0,0001 ^{fgijk}	0,229 ±0,0005 ^{gi}
Z9 (i)	4,215 ±0,0269 [*]	1,354 ±0,0133 [*]	0,153 ±0,0001 ^{hjk}	0,147 ±0,0007 [*]	0,254 ±0,0001 ^{ghjk}	0,230 ±0,0004 ^{hi}
Z10 (j)	4,039 ±0,0318 [*]	1,318 ±0,0129 [*]	0,154 ±0,0002 ^{hik}	0,151 ±0,0008 [*]	0,255 ±0,0001 ^{ghikl}	0,232 ±0,0006 ⁱ
Z11 (k)	3,966 ±0,0305 [*]	1,255 ±0,0108 [*]	0,154 ±0,0003 ^{ijlmn}	0,154 ±0,0008 [*]	0,255 ±0,0001 ^{hijlmn}	0,233 ±0,0005 ^l
Z12 (l)	3,908 ±0,0210 ^m	1,239 ±0,0055 [*]	0,155 ±0,0001 ^{kmn}	0,158 ±0,0015 [*]	0,256 ±0,0003 ^{ikmno}	0,234 ±0,0001 ^{km}
Z13 (m)	3,862 ±0,0075 ^{ln}	1,224 ±0,0064 [*]	0,155 ±0,0001 ^{klm}	0,165 ±0,0001 ⁿ	0,257 ±0,0001 ^{klmop}	0,235 ±0,0007 ^{lmop}
Z14 (n)	3,817 ±0,0195 ^m	1,194 ±0,0074 ^o	0,156 ±0,0002 ^{klmop}	0,166 ±0,0001 ^{mo}	0,257 ±0,0001 ^{lmnopq}	0,235 ±0,0001 ^{mop}
Z15 (o)	3,747 ±0,0181 [*]	1,183 ±0,0046 ^{npq}	0,156 ±0,0002 ^{np}	0,168 ±0,0001 ⁿ	0,257 ±0,0001 ^{lmnopq}	0,236 ±0,0001 ^{mnp}
Z16 (p)	3,693 ±0,0183 [*]	1,177 ±0,0007 ^{opqr}	0,157 ±0,0001 ^{noq}	0,177 ±0,0009 [*]	0,257 ±0,0001 ^{mnoq}	0,236 ±0,0002 ^{mno}
Z17 (q)	3,621 ±0,0184 [*]	1,170 ±0,0024 ^{opqrst}	0,157 ±0,0004 ^{pr}	0,179 ±0,0009 [*]	0,258 ±0,0001 ^{nopr}	0,238 ±0,0001 ^{rs}
Z18 (r)	3,566 ±0,0179 [*]	1,166 ±0,0014 ^{pqrst}	0,158 ±0,0001 ^{qs}	0,182 ±0,0018 [*]	0,259 ±0,0003 ^{qrst}	0,238 ±0,0001 ^{qs}
Z19 (s)	3,496 ±0,0340 [*]	1,163 ±0,0019 ^{qrstu}	0,159 ±0,0003 ^{rt}	0,194 ±0,0014 [*]	0,259 ±0,0003 ^{rt}	0,238 ±0,0001 ^{qrt}
Z20 (t)	3,405 ±0,0170 ^u	1,157 ±0,0020 ^{qrsu}	0,160 ±0,0002 ^s	0,198 ±0,0015 [*]	0,260 ±0,0002 ^{rs}	0,240 ±0,0008 ^{su}
Z21 (u)	3,357 ±0,0170 ^t	1,151 ±0,0019 ^{stuv}	0,161 ±0,0007 [*]	0,217 ±0,0021 [*]	0,261 ±0,0011 [*]	0,240 ±0,0002 ^t
Z22 (v)	3,278 ±0,0324 [*]	1,143 ±0,0028 ^u	0,164 ±0,0016 [*]	0,227 ±0,0022 [*]	0,269 ±0,0026 [*]	0,271 ±0,0027 [*]
M	227	217	212	225	197	215
G	19	19	17	20	16	16

Diferitele litere indică faptul că valorile medii determinate la diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „*” indică faptul că diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

Tabelul 6.12/ Table 6.12

Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Fetească regală, anul 2015, varianta F5
Mean values and standard deviations of organic acids identified during fermentation from the 2015 Fetească regală sample, variant F5

Ziua	Acid tartric (g/L)	Acid malic (g/L)	Acid lactic (g/L)	Acid acetic (g/L)	Acid citric (g/L)	Acid succinic (g/L)
Z1 (a)	5,146 ±0,0248*	1,563 ±0,0014*	0,137 ±0,0013*	0,103 ±0,0020*	0,245 ±0,0012 ^{ijklm}	0,206 ±0,0019 ^b
Z2 (b)	4,893 ±0,0483*	1,548 ±0,0028 ^c	0,140 ±0,0010*	0,108 ±0,0011*	0,239 ±0,0007 ^c	0,206 ±0,0011 ^a
Z3 (c)	5,204 ±0,0336*	1,543 ±0,0023 ^b	0,142 ±0,0004*	0,117 ±0,0009 ^d	0,241 ±0,0001 ^{bd}	0,209 ±0,0011*
Z4 (d)	4,822 ±0,0261 ^e	1,532 ±0,0028 ^e	0,143 ±0,0001 ^e	0,118 ±0,0003 ^{ce}	0,241 ±0,0002 ^{ce}	0,213 ±0,0012*
Z5 (e)	4,775 ±0,0251 ^{df}	1,528 ±0,0022 ^d	0,143 ±0,0004 ^{df}	0,119 ±0,0004 ^{df}	0,242 ±0,0004 ^{dfgh}	0,216 ±0,0009*
Z6 (f)	4,728 ±0,0263 ^e	1,515 ±0,0009*	0,144 ±0,0003 ^{egh}	0,120 ±0,0004 ^e	0,243 ±0,0001 ^{egh}	0,218 ±0,0011*
Z7 (g)	4,601 ±0,0451*	1,485 ±0,0144*	0,144 ±0,0001 ^{fh}	0,127 ±0,0007 ^h	0,243 ±0,0001 ^{efh}	0,226 ±0,0009 ^h
Z8 (h)	4,500 ±0,0344*	1,439 ±0,0141*	0,145 ±0,0003 ^{gi}	0,128 ±0,0003 ^{gi}	0,243 ±0,0004 ^{efgi}	0,227 ±0,0002 ^g
Z9 (i)	4,427 ±0,0218*	1,352 ±0,0130*	0,145 ±0,0002 ^{hjk}	0,130 ±0,0007 ^h	0,245 ±0,0004 ^{ahjkl}	0,229 ±0,0002 ^j
Z10 (j)	4,355 ±0,0322*	1,325 ±0,0070*	0,146 ±0,0001 ^{ikl}	0,132 ±0,0013*	0,245 ±0,0001 ^{aikl}	0,230 ±0,0001 ^{ik}
Z11 (k)	4,249 ±0,0407*	1,311 ±0,0041*	0,146 ±0,0001 ^{ijl}	0,136 ±0,0013*	0,245 ±0,0002 ^{aijlm}	0,231 ±0,0009 ^{jl}
Z12 (l)	4,069 ±0,0213*	1,298 ±0,0048*	0,146 ±0,0002 ^{ikm}	0,143 ±0,0014*	0,246 ±0,0001 ^{aijkm}	0,232 ±0,0001 ^k
Z13 (m)	4,015 ±0,0213*	1,286 ±0,0048*	0,147 ±0,0002 ^{ln}	0,155 ±0,0010*	0,247 ±0,0006 ^{aklno}	0,233 ±0,0013*
Z14 (n)	3,742 ±0,0361*	1,270 ±0,0028 ^o	0,147 ±0,0002 ^{mo}	0,158 ±0,0010*	0,247 ±0,0001 ^{mo}	0,236 ±0,0003 ^o
Z15 (o)	3,693 ±0,0190 ^p	1,265 ±0,0033 ^{np}	0,148 ±0,0001 ^{np}	0,162 ±0,0016*	0,248 ±0,0004 ^{mnp}	0,238 ±0,0003 ^{np}
Z16 (p)	3,658 ±0,0190 ^{oq}	1,255 ±0,0020 ^o	0,148 ±0,0002 ^{oq}	0,165 ±0,0006 ^q	0,249 ±0,0006 ^o	0,238 ±0,0004 ^{oq}
Z17 (q)	3,622 ±0,0186 ^p	1,245 ±0,0011 ^r	0,148 ±0,0002 ^{pr}	0,166 ±0,0001 ^{pr}	0,251 ±0,0004*	0,239 ±0,0003 ^{pr}
Z18 (r)	3,519 ±0,0258*	1,240 ±0,0012 ^{qs}	0,149 ±0,0003 ^{qs}	0,167 ±0,0005 ^{qs}	0,254 ±0,0013*	0,240 ±0,0003 ^{qs}
Z19 (s)	3,460 ±0,0200*	1,233 ±0,0034 ^{rt}	0,149 ±0,0003 ^r	0,168 ±0,0003 ^{rt}	0,256 ±0,0006*	0,241 ±0,0003 ^{rt}
Z20 (t)	3,403 ±0,0282*	1,226 ±0,0020 ^{su}	0,150 ±0,0003*	0,169 ±0,0006 ^s	0,258 ±0,0003*	0,242 ±0,0001 ^{su}
Z21 (u)	3,328 ±0,0163*	1,218 ±0,0028 ^{tv}	0,151 ±0,0003*	0,172 ±0,0017*	0,261 ±0,0013*	0,242 ±0,0003 ^t
Z22 (v)	3,278 ±0,0166*	1,210 ±0,0056 ^u	0,152 ±0,0003*	0,181 ±0,0017*	0,272 ±0,0027*	0,245 ±0,0014*
M	227	222	213	222	204	219
G	20	18	19	19	15	18

Diferitele litere indică faptul că valorile medii determinate la diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „*” indică faptul că diferitele momente de prelevare (ziua prelevării) au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

Tabelul 6.13/ Table 6.13

Rezultatele testului statistic ANOVA aplicat valorilor medii ale acizilor organici, identificați în vinul obținut din soiul Aligoté la toate variantele realizate în acest studiu

The results of the ANOVA statistical test applied to the average values of organic acids, identified in the wine obtained from the Aligoté variety in all variants performed in this study

Acid	A1		A2		A3		A4		A5	
	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.
Acid tartaric	1483,63	0	989,97	0	689,97	0	1387,67	0	2032,08	0
Acid malic	655,57	0	584,91	0	1009,84	0	1738,77	0	749,49	0
Acid lactic	1504,92	0	253,81	0	256,2	0	2006,33	0	1161,22	0
Acid acetic	2081,92	0	960,98	0	3973,04	0	2055,75	0	2817,55	0
Acid citric	236,96	0	77,62	0	277,21	0	287,55	0	568,51	0
Acid succinic	785,19	0	359,96	0	885,69	0	893,15	0	447,27	0

Toate F-Ratio se bazează pe eroarea medie pătratică reziduală

Tabelul 6.14/ Table 6.14

Rezultatele testului statistic ANOVA aplicat valorilor medii ale acizilor organici, identificați în vinul obținut din soiul Fetească regală la toate variantele realizate în acest studiu

The results of the ANOVA statistical test applied to the average values of organic acids, identified in the wine obtained from the Fetească regală variety in all variants performed in this study

Acid	F1		F2		F3		F4		F5	
	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.
Acid tartaric	198,21	0	834,88	0	1720,46	0	1235,32	0	1397,61	0
Acid malic	268,72	0	1829,13	0	1557,83	0	883,25	0	1418,74	0
Acid lactic	7,87	0	330,92	0	575,46	0	289,39	0	223,12	0
Acid acetic	18,53	0	9893,74	0	9012,64	0	1975,39	0	1543,58	0
Acid citric	18,43	0	807,37	0	2108,32	0	117,54	0	287,63	0
Acid succinic	167,7	0	712,39	0	853,52	0	691,73	0	642,71	0

Toate F-Ratio se bazează pe eroarea medie pătratică reziduală

Tabelul 6.15/ Table 6.15

Valorile medii ale acizilor organici din probele de Aligoté, anul 2015

The mean values of organic acids in the Aligoté samples, year 2015

Varianta	Acid tartric (g/L)	Acid malic (g/L)	Acid lactic (g/L)	Acid acetic (g/L)	Acid citric (g/L)	Acid succinic (g/L)
A1 (a)	4,622±0,0030 ^x	1,566±0,0010 ^x	0,153±0,0004 ^d	0,143±0,0002 ^x	0,206±0,0001 ^x	0,290±0,0002 ^x
A2 (b)	4,605±0,0030 ^x	1,665±0,0010 ^x	0,133±0,0004 ^x	0,170±0,0002 ^x	0,214±0,0001 ^x	0,292±0,0002 ^x
A3 (c)	4,651±0,0030 ^x	1,596±0,0010 ^x	0,296±0,0004 ^x	0,190±0,0002 ^x	0,214±0,0001 ^x	0,314±0,0002 ^x
A4 (d)	4,292±0,0030 ^x	1,357±0,0010 ^x	0,154±0,0004 ^a	0,119±0,0002 ^x	0,209±0,0001 ^x	0,284±0,0002 ^x
A5 (e)	4,420±0,0030 ^x	1,555±0,0010 ^x	0,136±0,0004 ^x	0,171±0,0002 ^x	0,210±0,0001 ^x	0,309±0,0002 ^x
M	10	10	9	10	10	10
G	5	5	4	5	5	5

Diferitele litere indică faptul că variantele nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „^{*}” indică faptul că variantele au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

Tabelul 6.16/ Table 6.16

Valorile medii ale acizilor organici din probele de Fetească regală, anul 2015

The mean values of organic acids from the Fetească regală samples, 2015

Varianta	Acid tartric (g/L)	Acid malic (g/L)	Acid lactic (g/L)	Acid acetic (g/L)	Acid citric (g/L)	Acid succinic (g/L)
F1 (a)	4,335±0,0033 ^x	1,359±0,0008 ^e	0,151±0,0001 ^x	0,128±0,0002 ^x	0,258±0,0001 ^x	0,231±0,0001 ^d
F2 (b)	4,357±0,0033 ^x	1,303±0,0008 ^d	0,156±0,0001 ^x	0,180±0,0002 ^x	0,268±0,0001 ^x	0,234±0,0001 ^c
F3 (c)	4,228±0,0033 ^x	1,340±0,0008 ^x	0,170±0,0001 ^x	0,197±0,0002 ^x	0,264±0,0001 ^x	0,234±0,0001 ^b
F4 (d)	4,095±0,0033 ^x	1,302±0,0008 ^b	0,153±0,0001 ^x	0,161±0,0002 ^x	0,256±0,0001 ^x	0,231±0,0001 ^a
F5 (e)	4,159±0,0033 ^x	1,359±0,0008 ^a	0,146±0,0001 ^x	0,143±0,0002 ^x	0,248±0,0001 ^x	0,229±0,0001 ^x
M	10	8	10	10	10	8
G	5	3	5	5	5	3

Diferitele litere indică faptul că variantele nu au o influență statistică semnificativă; simbolul „^{*}” indică faptul că variantele au o influență statistică semnificativă, M – perechi de medii diferite statistic semnificativ, G – grupuri statistic omogene de medii

Tabelul 6.17/ Table 6.17

Rezultatele testului statistic aplicat variantelor, de tip multifactor ANOVA (ziua de prelevare, varianta și influența sinergică dintre cei doi factori) la vinurile obținute din soiul Aligoté, în ceea ce privește conținutul de acizi organici

Results of the statistical test applied to the variants, of the ANOVA multifactor type (date of sampling, variant and synergistic influence between the two factors) for wines obtained from the Aligoté variety, in terms of organic acid content

PRINCIPALELE VARIABLE	Acid tartric		Acid malic		Acid lactic		Acid acetic		Acid citric		Acid succinic	
	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.
A: VARIANTA	2722,2	0	12405,7	0	29326,5	0	31628,8	0	1346,1	0	5867,5	0
B: ZIUA PRELEVARI	5834,3	0	4147,9	0	954	0	8703,2	0	733	0	2762,7	0
INTERACȚIUNEA A B	76,3	0	105	0	144,3	0	480,8	0	20,9	0	71,1	0

Tabelul 6.18/ Table 6.18

Rezultatele testului statistic aplicat variantelor, de tip multifactor ANOVA (ziua de prelevare, varianta și influența sinergică dintre cei doi factori) la vinurile obținute din soiul Fetească regală, în ceea ce privește conținutul de acizi organici

Results of the statistical test applied to the variants, of the ANOVA multifactor type (date of sampling, variant and synergistic influence between the two factors) for wines obtained from the Fetească regală variety, in terms of organic acid content

PRINCIPALELE VARIABLE	Acid tartric		Acid malic		Acid lactic		Acid acetic		Acid citric		Acid succinic	
	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.	F-Ratio	p-calc.
A: VARIANTA	1162,7	0	1212,5	0	13934,3	0	27610,3	0	4290,1	0	480,3	0
B: ZIUA PRELEVARI	6070,3	0	6347	0	1589,5	0	21562,4	0	2875,6	0	3546	0
INTERACȚIUNEA A B	54,3	0	26,3	0	74,5	0	2950,2	0	365,3	0	52	0

6.3. Identificarea compușilor volatili în diferitele faze ale procesului fermentativ

6.3.1. Identificarea compușilor volatili în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté

Vinurile au o aromă mult mai complexă decât strugurii (Țârdea și colab., 2010). Aromă provenită din struguri are o contribuție importantă la profilul senzorial și caracteristicile vinului. Schimbările care au loc în metabolismul specific dezvoltării strugurilor pot furniza informații predictive ale legăturii dintre aromele primare, de struguri și amprenta ce se va regăsi în vinuri (Yuan și Qian, 2016). Pentru soiurile de struguri considerați neutri, Yuan și Qian (2016) în studiile lor, au conchis că, compușii volatili liberi la soiul Pinot noir sunt prezenți în general la niveluri foarte scăzute, cu excepția compușilor cu șase atomi de carbon (C6), care nu au o contribuție deosebită la „aroma varietală” pentru majoritatea vinurilor. Majoritatea compușilor asociați cu aroma varietală sunt prezenți ca precursori inodori în struguri.

Concentrațiile lor variază de la mai puțin de 0,1 mg/L până la 300 mg/L, iar pragurile de percepție olfactivă ale compușilor variază de la 50 pg la 100 mg/L (Grainger și Tattersall, 2016).

Musturile soiurilor de struguri neutre sunt, în esență, dominate de un miros erbaceu și este puțin probabil să se distingă reciproc. Genovese și colab. (2013) în studiul lor, au evidențiat faptul că din punct de vedere cantitativ și calitativ, pielea strugurilor conține compuși volatili liberi și legați (nevolatili) mai mulți decât mezocarpul (pulpa).

La soiurile de struguri pentru obținerea vinurilor albe, compușii volatili suferă modificări în timpul maturării ce diferă de la un soi la altul, ceea ce face dificilă o determinare a maturității pe baza conținutului în compuși volatili (González-Barreiro și colab., 2013). Vinurile obținute din struguri, cu un grad de maturitate mai scăzut, au concentrații mai mari în esteri și acizi grași și mai scăzute în terpeni și derivați benzenici comparativ cu strugurii supramaturați (González-Barreiro și colab., 2013).

Aromele sunt sensibile schimbărilor de natură fizică și chimică, datorate oxigenului, căldurii, pH-ului și enzimelor. Observăm adesea oxidarea (ex. limonen la oxid de limonen), hidroliza esterilor (de exemplu, butiratul de etil la acid butiric), trans-esterificarea (de exemplu, triacetinul la acetat de benzil în alcool benzilic), acetalizarea aldehydelor (ex: hexanal la dietilacetal hexanal în băuturile alcoolice) (Grab și colab., 1996).

În studiul de față, în urma determinărilor prin GC, s-a identificat un număr variabil de compuși volatili în funcție de soi, etapa prelevării probelor și de variantele luate în studiu. Astfel, la soiul Aligoté s-a identificat un număr de 90 de compuși volatili, din care 14 acizi, 22 alcooli, 40 esteri, 4 aldehide, 6 cetone și 4 terpeni. Din cei 90 de compuși volatili, cei mai mulți au fost identificați la varianta A1 (81). Acest

lucru poate fi pus pe seama diferitelor levuri din flora spontană, care în funcție de specie, se caracterizează prin diferite activități enzimatiche importante (β -glucozidaza, lipaza, pectinaza, proteaza, glucanaza, xilanaza, amilaza, sulfitreductaza, β -liaza) capabile să contribuie la îmbunătățirea calității senzoriale a vinului (Tufariello și colab., 2021). O parte din compușii volatili provin direct din materia primă, iar o parte din ei se formează în urma reacțiilor biochimice din timpul fermentației alcoolice.

6.3.1.1. Identificarea acizilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté

Acizii organici joacă un rol semnificativ în percepția calității vinului, deoarece prezența lor are un impact direct asupra acidității percepute și totale a vinurilor. Într-adevăr, cel mai proeminent și ușor perceput echilibru senzorial în vin este cel dintre aciditate și zaharuri. Complexitatea în această privință, apare deoarece mai mulți acizi organici se găsesc în vinuri, iar fiecare acid contribuie diferit la aciditatea totală a vinului, având proprietăți senzoriale specifice și unice.

În timpul fermentației alcoolice a mustului se formează o serie de acizi volatili ce participă la aroma vinurilor (Musteață și Furtuna, 2012). Ei sunt implicați în reacții care duc la formarea esterilor. Aceștia sunt adesea importanți pentru parfumul proaspăt, de fructe al vinurilor tinere. De asemenea, prezintă importanță și în timpul învechirii vinului (Jackson, 2020).

În cele trei stadii, numărul de acizi identificați variază de la must la vin, numărul cel mai mare fiind înregistrat în timpul fermentației alcoolice.

În mustul din soiul Aligoté s-au determinat prin analiza GC șase acizi volatili dintr-un total de 14 acizi identificați în probele preluate în timpul fermentației alcoolice (tabelul 6.19). Aceștia sunt: acidul acetic, acidul benzoic, acidul decanoic, acidul dodecanoic, acidul octanoic și acidul hexanoic.

Acidul acetic este cel mai important component al acidității volatile, fiind principalul acid care participă la formarea esterilor acetat reponsabili de caracterul fructat al vinurilor tinere (Jackson, 2020). Cu toate că concentrația sa este reglementată prin lege, pentru vinurile care doresc a face parte din categoria „high-level” nu se pune problema acestor praguri pe de o parte din cauza mirosului caracteristic, înțepător, iar pe altă parte atingerea unor niveluri ridicate, presupune prezența unor bacterii. Cu cât cantitatea de acid acetic este mai mare, cu atât vinul este direct asociat cu o stare de sănătate slabă și indirect cu o calitate scăzută (excepție făcând vinurile de tip oxidativ, ex.: Madera, Porto, Malaga).

Prezența acidului acetic în must se poate pune pe seama proceselor biochimice nedorite apărute din momentul recoltării până în momentul prelevării probelor (Nechita, 2010). Conținutul în acid acetic crește în timpul fermentației

alcoolice, fiind întâlnit la toate variantele luate în studiu, începând cu stadiu de must și până la vin.

Acidul benzoic se întâlnește începând cu faza de must, și pe toată durata fermentației alcoolice, întâlnindu-se și la vin la toate variantele analizate. Este cel mai simplu acid aromatic (Cotea și colab., 2009), prezența sa putând fi explicată prin existența în cerurile de pe suprafața pielii strugurilor (Colibaba, 2010) sau/și cumulată cu macerația prefermentativă efectuată. El apare, de obicei, ca urmare a proceselor biochimice desfășurate în mod natural în plante, cel mai probabil fiind sintetizat pornind de la fenilalanină (Moroșanu, 2019).

Acidul decanoic, acidul dodecanoic, acidul octanoic și acidul hexanoic au fost identificați începând de la faza de must până la vin la toate variantele vinului Aligoté luate în studiu. Existența lor încă din faza de must se poate pune pe seama procesului de macerare de scurtă durată, la care mustul a fost supus, aceasta permițând trecerea acestor acizi de pe cuticula ceroasă de pe pielele boabelor de struguri în must (Țârdea și colab., 2010).

Acidul octanoic sau caprilic este găsit în must, în timpul fermentației alcoolice și în vin la toate probele soiului Aligoté analizate este caracterizat de arome neplăcute ceroase, râncede, de brânză pe care le poate imprima vinului (Moroșanu, 2019), acesta fiind găsit în struguri și de alți cercetători (Fan și colab., 2010). Împreună cu alți factori de stres, cum ar fi etanolul, temperatura ridicată și deficiența de azot, determină o reducere a pH-ului intracelular asociată cu capacitatea redusă enzimatică și membranară a levurilor (Jackson, 2020).

Acidul hexanoic, găsit în toate variantele și în toate cele trei faze, este un precursor de bază pentru formarea alcoolilor superiori de tip C6 și a esterilor specifici, influențând în special formarea buchetului de învechire a vinului. Fiind un acid volatil, acesta participă la aciditatea volatilă, aportul său fiind nesemnificativ. Prezența sa în struguri a mai fost semnalată și de Fan și colab. în anul 2010.

Acidul 9-decenoic a apărut în timpul fermentației alcoolice la toate variantele experimentale obținute din soiului Aligoté, acesta regăsindu-se și în vin doar la variantele care au fermentat la volume mici, inclusiv la martor (A1, A2 și A3) tabelul 6.19. Studii anterioare confirmă corelația acestui acid cu tipul de levură utilizat (Drtilová și colab., 2020), dar și cu tehnologia folosită în procesul fermentativ.

Acidul butanoic sau butiric se formează în timpul fermentației alcoolice. Prin descompunerea glicerolului de bacteriile din vin, conținutul acestui acid se mărește (Țârdea și colab., 2010). Este prezent în toate variantele în timpul fermentației, el regăsindu-se la toate vinurile din soiul Aligoté, excepție făcând varianta A1. Absența sa în varianta A1 poate fi corelată cu lipsa folosirii levurilor *S. cerevisiae*, care determină producerea unor niveluri mai ridicate de acizi grași decât levurile *non - Saccharomyces*.

Acidul heptanoic este un acid gras volatil, a cărui prezență a fost semnalată în timpul fermentației alcoolice la toate variantele soiului Aligoté, acesta fiind găsit în vin la varianta A2, care a fermentat la volume reduse cu levuri din genul *Saccharomyces*, cunoscându-se capacitatea acestora de a produce cantități mai mari de acizi grași.

Acidul izobutiric este un produs al fermentației alcoolice ce se caracterizează prin nuanțe neplăcute, râncede, de brânză. A fost identificat în must la toate variantele, iar la vin s-a regăsit la varianta A1 și varianta A4.

Prezența acidului izovaleric este privită ca un defect, deoarece, de obicei în cantități mari imprimă arome de transpirație, care sunt datorate prezenței levurilor din genul *Bretanomyces*.

Acidul izovaleric are un miros puternic de brânză sau transpirat, dar esterii săi volatili au mirosuri plăcute și sunt folosiți pe scară largă în parfumerie. Un exces de acid izovaleric în vin este, în general, văzut ca un defect, dar în cantități mici poate avea și miros picant plăcut. Acest acid este produs în vin de levuri ca produs secundar metabolic al proteinelor (Licker și colab., 1998).

Acizii grași cu catenă scurtă ramificată (izovaleric, izobutiric) se găsesc sub formă de urme. Acești acizi volatili produși sunt influențați de mai mulți factori fiziologici (starea de nutriție, disponibilitatea oxigenului, temperatura) (Waterhouse și colab., 2016).

În general aportul olfactiv al acizilor este dat de caracteristicile râncede și mirosurile neplăcute de brânză, excepție făcând acidul tetradecanoic (miristic) care prezintă miros de fructe (nucă de cocos). Acidul tetradecanoic prezintă importanță în formarea esterului tetradecanoat de etil care impresionează prin aromele sale florale dulci. Acesta este prezent în timpul fermentației alcoolice la toate variantele, iar în vin, îl găsim la varianta A1 și varianta A2, fermentate la vase de sticlă de 50 L.

Acidul nonanoic este singurul acid asociat cu miros caracteristic de caprine. În ceea ce privește aroma vinului, acesta este mai puțin interesant (Nechita, 2010). Este prezent în timpul fermentației alcoolice la toate variantele studiate, urmând a fi găsit în vin numai la varianta A1.

Acidul oleic este un factor important de creștere și supraviețuire pentru levuri, fiind un constituenț al pruinei. Fiind un acid gras nesaturat, cu catenă lungă, este relaționat funcțional cu familia sterolilor, motiv pentru care este considerat activator de fermentație îndeosebi în condiții anaerobe. Este un acid antrenabil cu vapori.

Tabelul 6.19/ Table 6.19

Identificarea acizilor volatili în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Aligoté, recolta anului 2015
 Identification of volatile acids in the different phases of the fermentation process for the variants obtained from the Aligoté variety, 2015 harvest

Nr	Clasa	Nume	Descriptor de aroma*	A1			A2			A3			A4			A5			Surse Bibliografice
				M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	
1	ACIZI ORGANICI	Acid 9-decenoic	Verde, ceros, gras		x	x		x	x		x	x		x			x		[2] [3] [11]
2		Acid acetic	Oțet, înțepător	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[2] [8] [9]
3		Acid benzoic	Balsamic	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[2] [6] [7]
4		Acid butanoic	Brânză, dulce, lactic,		x			x	x		x	x		x	x		x	x	[4] [7] [10]
5		Acid decanoic	A cru, gras, fermentare, cașcaval	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [7] [10]
6		Acid dodecanoic	Metal, gras, nucă de cocos, ulei de dafin	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[2] [4] [10]
7		Acid heptanoic	Miros gras, aromă fructuoasă, brânză, ceros, fermentat, fructe, ananas		x			x	x		x			x			x		[4] [7] [9]
8		Acid izobutiric	Înțepător, ranced		x	x		x			x			x	x		x		[7] [4] [10]
9		Acid izovaleric	Miros Neplăcut, înțepător, de transpirație, branză acră		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[1] [7] [10]
10		Acid miristic	Ceros, gras, cremos, brânzos, nucă de cocos, ananas		x	x		x	x					x			x		[2] [4] [6]
11		Acid nonanoic	Miros de nucă, ceros, murdar, brânzos		x	x			x					x			x		[3] [4] [7]
12		Acid octanoic	Miros gras, aromă de brânză sărată, ranced, vegetal	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [7] [10]
13		Acid oleic	Ceros, uleios		x	x		x			x			x					[2] [5] [6]
14		Acid hexanoic	Miros dulceag, brânză	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[1] [7] [10]
TOTAL				6	14	12	6	13	12	6	12	9	6	14	9	6	13	8	

M=must; F=fermentație; V=vin; A1, A2, A3, A4, A5=variantele luate în studiu; x=indică faptul că respectivul compus a fost identificat; 1=Colibaba, 2010; 2=Cotea și colab., 2009; 3=Drîlovă și colab., 2020; 4=Furtuna, 2015; 5=Manzanares, 2011; 6=Moroșanu, 2019; 7=Nechita, 2010; 8=Rapp, 1988; 9=Vararu, 2016; 10=Waterhouse și colab, 2016; 11=Yannai, 2013;

*www.thegoodscentscompany.com

6.3.1.2. *Identificarea alcoolilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté*

Termenul „alcoolii superiori” se referă la alcoolii care posedă mai mult de doi atomi de carbon și a căror greutate moleculară și punct de fierbere este mai mare decât cel al etanolului. Aceștia pot apărea în strugurii sănătoși, dar rareori în cantități semnificative, excepție făcând hexanolii.

În vin au fost identificați 39 de alcoolii (plus alcoolul etilic) de Montedoro și Bertuccioli în 1986 (Bakker și Clarke 2012), în timp ce în probele analizate, la soiul Aligoté s-au determinat un număr de 22 de alcoolii (tabelul 6.20). Dintre aceștia șase alcoolii au fost identificați în must, restul rezultând în urma procesului fermentativ.

Cei mai puțini alcoolii superiori în vin au fost înregistrați la varianta A5, variantă care a fost fermentată cu levuri selecționate la volume mari. Cei mai mulți alcoolii s-au identificat la varianta A3, variantă fermentată la vase de sticlă de 50 L cu aceeași levură folosită la varianta mai sus menționată. Acest lucru poate fi pus pe seama tehnologiei folosite în procesul fermentativ, numărul acestora fiind influențat de volumul și temperatura de fermentare.

Cei mai mulți alcoolii din vin apar ca subproduse de fermentație a levurilor (Jackson, 2020), prin degradarea enzimatică a unor aminoacizi (Musteață și Furtuna, 2012). Formarea în timpul fermentației alcoolice a alcoolilor superiori are loc prin metabolizarea monozaharurilor de către levuri, prin decarboxilarea și dezaminarea simultană a acizilor aminici (Țârdea și colab., 2010). Sinteza lor este paralelă și strâns legată de producția de etanol.

Alcoolii superiori adesea reprezintă aproximativ 50 % din compușii volatili ai aromelor din vin (excepție făcând etanolul), concentrația putând crește dacă vinul este degradat de bacterii sau levuri (Bakker și Clarke 2012).

Alcoolii superiori sunt în mod normal sub limita de detecție, dar sunt precursorii unor esteri, care au un impact senzorial mare (Zamora, 2009).

De remarcat este și prezența în variantele experimentale studiate a alcoolilor grași, precum: 1-octanolul, 2-octanolul, 3-octanolul, 1-tetradecanolul, 1-hexadecanolul, 1-decanolul, 1-dodecanolul a căror prezență în vinuri se datorează cel mai probabil faptului că aceștia se regăsesc și în compoziția cerurilor de pe pielea strugurilor.

2-feniletanolul ocupă un loc aparte, făcând parte din categoria alcoolilor superiori cu potențial semnificativ din struguri, care poate fi întâlnit și la finalul fermentației alcoolice, fiind cel mai important alcool superior (Jackson, 2020). Gunata și colab. (1985) în studiile sale au găsit o concentrație mai mare 2-feniletanolul în pielea strugurilor decât în pulpa acestora.

Tabelul 6.20/ Table 6.20

Identificarea alcoolilor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Aligoté, recolta anului 2015
 Identification of alcohols in the different phases of the fermentation process for the variants obtained from the Aligoté variety, 2015 harvest

Nr	Clasa	Nume	Descriptor de aroma*	A1			A2			A3			A4			A5			Surse Bibliografice
				M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	ALCOOLI	1-decanol	Citrice, fructat, portocala, ceros, floral, dulce, curat		x			x			x			x			x	x	[2] [9] [15]
2		1-dodecanol	Floral, pământos, ceros, miere, cocos		x	x		x	x		x	x		x	x		x		[2] [9] [15]
3		1-heptanol	Verde, frunze, fructat cu nuanțe, de mere și banane		x	x		x	x		x	x					x		[2] [7] [9]
4		1-hexadecanol	Ceros, curat, floral		x			x			x			x					[4] [8] [11]
5		1-octanol	Citrice, ceros, verde, aromă florală cu nuanțe de nucă de cocos dulce și gras		x			x			x	x		x			x	x	[1] [7] [9]
6		1-propanol	Fructat / miros alcoolic, alcoolic, fructe coapte		x			x	x		x			x			x		[1] [5] [9]
7		1-tetradecanol	Fructat, ceros		x	x		x	x		x	x		x	x		x		[6] [8] [11]
8		1-undecanol	Floral, citric, proaspăt, ceros, trandafir	x			x	x		x	x		x			x	x		[2] [4] [10]
9		2,3-butandiol	Fructe, frișcă, unt	x	x		x	x	x	x	x		x	x		x	x		[5] [9] [12]
10		2,6-dimetil-heptan-4-ol	Levură fermentată	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			[8] [10] [15]
11		2-butanol	Fructe în alcool, caise					x			x			x			x		[2] [5] [9]
12		2-feniletanol	Dulce, floral, proaspăt, cu parfum ușor de trandafiri, miere, liliac	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[2] [5] [13]
13		2-hexenol	Verde, frunze		x			x			x						x		[9] [13] [15]
14		2-metil-butan-1-ol	Pământ umed, eterat- fructat, fuzel		x	x		x	x		x	x		x	x		x		[9] [10] [13]

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
15	ALCOOLI	2-nonanol	Ceros, verde, cremos, portocală, brânză cu ușoară nuanța de fructe		x			x									x		[2] [9] [14]	
16		2-octanol	Verde, iute, proaspăt, picant, aromă de banană crudă		x														[1] [2] [10]	
17		3-hexenol	Ierbaceu, verde, proaspăt	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x		[2] [9] [13]	
18		3-metil-2-hexanol	-								x							x		[3]
19		3-metil-butan-1-ol	Fructat-vinos, fructe, măr, pară, banane, uleiuri de fuzel		x	x		x	x		x	x		x	x			x	x	[5] [9] [13]
20		3-metil-pentan-1-ol	Înțepător, coniac și vin, cacao		x	x		x			x	x		x	x			x	x	[2] [9] [10]
21		2-metil-1-propanol	Eterat / fructat, alcoolic, vinos, lac de unghii		x	x		x	x		x	x		x	x			x	x	[9] [12] [13]
22		Hexan-1-ol	Verde, fructe, coajă de măr, uleios	x	x		x	x		x	x		x	x	x	x	x	x		[2] [9] [12]
TOTAL				6	19	10	6	20	10	6	20	11	6	16	10	6	19	6		

M=must; F=fermentație; V=vin; A1, A2, A3, A4, A5=variantele luate în studiu; x=indică faptul că respectivul compus a fost identificat; 1=Colibaba, 2010; 2=Cotea și colab., 2009; 3=Dall'Asta C și colab., 2011; 4=Drtilová și colab., 2020; 5=Furtuna, 2015; 6=Manzanares, 2011; 7=Bonino și colab., 2003; 8=Moroșanu, 2019; 9=Nechita, 2010; 10=Rapp, 1988; 11=Tarțian, 2019; 12=Vararu, 2016; 13=Waterhouse și colab., 2016; 14=Berrino și colab., 1988; 15=Yannai, 2013; *www.thegoodscentscompany.com

Fang și Qian (2012) în studiile lor, care s-au desfășurat pe o durată de trei ani, au găsit concentrații mai mici de 2-feniletanol în struguri, în stadiile incipiente de formare, urmând ca acesta să crească constant până spre momentul recoltării strugurilor. În fiecare an, valorile acestui compus din struguri, au fost diferite în momentele de prelevare.

2-feniletanolul se formează prin dezaminarea și decarboxilarea fenilalaninei, participând la formarea buchetului de învechire a vinului (Țârdea și colab., 2010).

Acest alcool a fost identificat la toate variantele luate în studiu în toate etapele analizate, fiind unul dintre alcoolii superiori produși în concentrația cea mai mare în timpul fermentației (Aranda și colab., 2011). Studii anterioare confirmă corelația clară a alcoolului 2-feniletanol cu levura folosită la fermentația alcoolică (Drtilová și colab., 2020; Benítez și colab., 2019). Levurile din specia *S. cerevisiae* varietatea *uvarum* au o capacitate de a produce cantități mai mari de 2-feniletanol (Țârdea și colab., 2010).

Cantitățile diferite de 2-feniletanol pot fi găsite în vin în funcție de levura folosită (Cotea și colab., 2009; Furtuna, 2015), în concentrațiile cele mai mari formându-se la vinurile obținute prin fermentație alcoolică spontană, dintre care se remarcă levurile din genul *S. bayanus* (Cordente și colab., 2012).

Acesta participă la buchetul de învechire al vinului (Țârdea și colab., 2010). Acest alcool aromatic conferă caracteristici odorante asemănătoare trandafirului, tipică vinurilor din soiul Traminer roz din biotipul Gewürztraminer (Tarțian, 2019). Oxidarea 2-feniletanolului duce la transformarea aromei de trandafir în cea de zambilă, iar oxidarea ulterioară duce la formarea esterilor cu aromă fină de miere (Furtuna, 2015).

Cantitatea de alcoolii de tip C6 depinde de gradul de maturitate a resturilor vegetale, condițiile de contact al recoltei cu oxigenul din aer și, bineînțeles, gradul de inactivare a enzimelor de către SO₂ adăugat în recoltă (Cotea și colab., 2009), gradul de presare și zdrobire, dar și de momentul adăugării de SO₂.

Dacă administrarea SO₂ se face prematur, nivelul de hexanol scade, însă crește conținutul hexenolilor (Furtuna, 2015).

Indiferent dacă presarea se face la strugurii zdrobiți sau nezdrobiți, aceasta îmbogățește considerabil mustul în compuși de tip C6. Precursorii acestor compuși prezintă un caracter erbaceu, fiind localizați în părțile solide ale strugurilor, creșterea conținutului fiind în corelație cu gradul de presare. Raportul de creștere a acestor compuși dintre prima și respectiv ultima fracție de presare este de 1/10 (acest lucru ne indică cât de important este evitarea agresiilor mecanice ale strugurilor) (Musteață și Furtuna, 2012).

Alcoolul *n*-hexilic sau 1-hexanol, alcoolul 2-hexilic sau 2-hexanol, 3-metil-pentanolul și 4-metil-pentanolul, toți cei patru hexanoli din vin amintiți, ca și hexenolii *cis*-3-hexenol, *trans*-4-hexenol și *trans*-3-hexenol, sunt produși de tip C6

ce apar în stadiul prefermentativ (Cotea și colab., 2009). Rezultate asemănătoare au obținut și Yuan și Qian (2015), care au studiat strugurii de Pinot noir pe o durată de doi ani, în două fenofaze ale dezvoltării strugurilor. Ei au găsit compuși: 1-hexanol, (Z)-3-hexenol, și (E)-2-hexenol, pentru ambii ani, în concentrații mai mari atunci când strugurii au fost recoltați cu 3 săptămâni înainte de recoltare față de momentul final al recoltării. Alcoolii de tip C6 pot fi produși pe durata zdrobirii strugurilor și a presării mustuielii (Yuan și Qian 2015). Waterhouse și colab. (2016) în studiile lor semnalează o corelație între compuși C6 și aromele „verzi” sau „de frunze”, indicând o relație care rezultă din faptul că mai puțini compuși C6 se formează în timpul zdrobirii strugurilor care au o maturitatea crescută. Activitatea enzimatică a strugurilor depinde și de stadiul de maturitate al acestora (Tarțian, 2019), explicând astfel relația dintre maturitatea strugurilor și conținutul în compuși de tip C6.

Lipidele din resturile vegetale (frunze, ciorchini, lăstari și boabe incomplet maturizate) sunt hidrolizate, iar unii dintre acizii grași rezultați sunt oxidați de către lipooxigenaze la aldehide C6, care la rândul lor sunt reduse de alcooldehidrogenaze la alcoolii corespunzători (Cotea și colab., 2009).

Câțiva alcoolii de tip C6 sunt formați enzimatic de struguri după deteriorări mecanice, în timpul zdrobirii. Acești compuși sunt în mare măsură absenți din boabele de struguri intacte (sau alte țesuturi vegetale), dar sunt în schimb formați prin oxidarea enzimatică a acizilor grași polinesaturați. Deoarece au în mod obișnuit arome „erbage” și „iarbă verde”, aceștia sunt denumiți și compuși volatili din frunze verzi (green leaf volatiles – GLV) (Waterhouse și colab., 2016).

Formarea compușilor C6 (alcoolii și aldehide) pare a fi un răspuns omniprezent al plantelor la stres mecanic, eventual pentru semnalizarea inter – sau intraplantă pentru a duce la o creștere a compușilor anti erbivori cum ar fi taninurile (Waterhouse și colab., 2016). Plantele produc GLV-uri după deteriorări și stres biotic sau abiotic. Compuși volatili din frunze verzi, nu numai că sunt principala sursă de substanțe volatile din fructe și legume, dar au și funcții fiziologice importante dintre care amintim: au semnale critice care ajută plantele să recunoască și să concureze cu alte organisme, conferă rezistență la bacterii patogene și insecte (Yang și colab., 2015).

Hexanolul este cunoscut și ca „alcool de frunze” și are o aromă ierboasă (Nechita, 2010), fiind prezent în must la probele de Aligoté studiate. În timpul fermentației alcoolice compusul hexan-1-ol a fost identificat în toate probele, în timp ce în vin acesta a fost determinat doar la varianta A4 (fermentată la cisternă cu levuri selecționate). Scăderea conținutului în hexanol ca urmare a fermentației a fost evidențiată și de Nechita (2010). El participă la formarea aromelor primare în vin, iar faptul că este un alcool volatil (Țârdea și colab., 2010) ar putea explica faptul că se regăsește în vin doar la varianta A4.

1-hexanolul se formează, nefermentativ, din acizi grași (Cotea și colab., 2009), fiind un produs de oxidare a lipidelor sub acțiunea lipoxigenazei (Nechita 2010) în struguri și/sau din aerarea mustului (González-Barreiro și colab., 2013). Conținutul acestuia scade cu aproximativ 60 % pe măsura întârzierii momentului de recoltare, probabil datorită activității enzimactice. De asemenea, vinurile albe produse din struguri înainte de a ajunge la maturitate prezintă note erbacee mai intense decât cele obținute din struguri copti (González-Barreiro și colab., 2013). La vinurile care rezultă din musturile nedeburbate, hexanolul poate fi cel mai important alcool superior formându-se în cantități mari de 0,7 mg/L (Țârdea și colab., 2010).

2-hexenolul a fost identificat doar în timpul fermentației alcoolice la toate variantele, excepție făcând varianta A4.

Produs din categoria C6, care se găsește în mod normal în stadiul prefermentativ (Cotea și colab., 2009), 3-hexenolul, numit și „alcool de frunze”, a fost identificat în must și în timpul fermentației alcoolice la toate variantele analizate, în timp ce în vin acesta a fost găsit la varianta A1, A3 și A4.

1-hexanolul și *cis*-3-hexenolul, sunt compuși de tip C6 primari, care persistă la concentrații în jurul sau peste pragurile lor senzoriale după fermentație, influența lor asupra profilului senzorial la vinuri neutre adaugă note ce variază de la „pământ reavăn” la „piper verde” (Waterhouse și colab., 2016).

Alcoolul 1-undecilic sau 1-undecanol din must s-a regăsit în timpul fermentației alcoolice la variantele A2, A3 și A5, acesta nefiind găsit în vin la nici o variantă studiată.

Alcoolul 1-decilic sau 1-decanol are o aromă florală, de portocală. Este un alcool prezent în timpul fermentației alcoolice la toate variantele analizate, fiind găsit în vin doar la varianta A5. Acest alcool gras rezultă cel mai probabil în urma procesului fermentativ având ca sursă probabilă cerurile prezente pe suprafața pielii boabelor de struguri (Moroșanu, 2019).

Alcoolul 1-dodecilic sau 1-dodecanol, este denumit și alcool laurilic, este un alcool superior, gras, aroma de ceară fiindu-i caracteristică. Este prezent în timpul fermentației alcoolice la toate variantele analizate, iar la vin este regăsit în toate variantele cu excepția variantei A5, în schimb la aceasta găsindu-se alcoolul 1-decanol. Producția de dodecanol este specifică fiecărei levuri (Manzanarés și colab., 2011).

1-heptanol este numit și alcool oenantic, are șapte atomi de carbon, are miros caracteristic cu nuanțe verzi, mere și banane. Este un alcool superior pe care îl găsim în timpul procesului fermentativ la toate variantele cu excepția variantei A4, acesta nemaigăsindu-se în vin nici la varianta A5. Acest alcool se formează în timpul fermentației alcoolice, fiind dependent de levuri și condițiile de mediu.

Alcoolul 1-hexadecanol la variantele soiului Aligoté a fost găsit doar pe durata procesului fermentativ la toate variantele cu excepția variantei A5. Studii

anterioare confirmă corelația clară a alcoolului 1-hexadecanol cu tipul de levură folosită (Drtilová și colab., 2020).

1-octanolul este un alcool superior, primar cu opt atomi de carbon, ce conferă arome ceroase, verzi, florale cu nuanțe de nucă de cocos.

Prezența sa în must nu a fost confirmată, el formându-se în urma procesului fermentativ (Moroșanu, 2019) și se întâlnește în această etapă la toate variantele luate în studiu. În vin se regăsește doar la variantele A3 și A5, fiind probabil o caracteristică a levurii.

2-octanolul (alcool caprilic) este un alcool superior, secundar, ce are opt atomi de carbon. Este caracterizat prin arome verzi, proaspete, picante. Este prezent doar la varianta A1 în timpul fermentației alcoolice, acest lucru putând fi pus pe seama capacității levurilor apiculate de a forma unii compuși cum ar fi alcoolii superiori (Krammer și colab., 1998).

1-propanol sau alcoolul propilic este un alcool superior, primar cu trei atomi de carbon. Asupra aromei vinurilor nu are o influență semnificativă, această afirmație fiind făcută pentru o soluție model, nefiind luați în calcul nici ceilalți constituenți ai vinului, nici sinergismul dintre acești compuși (Moroșanu, 2019). Concentrația de propanol care se formează depinde de levuri (Benítez și colab., 2019; Ugliano și Henschke, 2009) și conținutul mustului în săruri de amoniu (Ugliano și Henschke, 2009; Colibaba, 2010).

În vin apare datorită fermentației levuriene prin transformarea treoninei (Nechita, 2010). Se poate forma de asemenea și plecând de la glucide, în cursul fermentației heterolactice (Cotea și colab., 2009). În vin s-a decelat propil octanoat, care este esterul său, ambii fiind întâlniți la toate variantele pe timpul fermentației alcoolice. În vin, alcoolul 1-propanol, este prezent doar la varianta A2, concentrația de propanol formată fiind în corelație cu levura folosită (Colibaba, 2010).

Cel mai important diol din vin este 2,3-butandiol, numit și mezo-butilenglicol, butilenglicol sau 2,3-dihidroxibutan. Este un produs secundar al fermentației alcoolice, putându-se forma și în timpul fermentației malolactice. Are o aromă „subtilă dulce-amăruie”, neavând impact senzorial semnificativ asupra vinului (Jackson, 2020). Contribuie la extractului vinului. Prezența acestuia sugerează o posibilă pătrundere a oxigenului în mediul vinului (Cotea și colab., 2009).

Este stabil, având rol important împreună cu acetatul de metil, carbinolul și diacetilul în menținerea balanței de oxido-reducere (Moroșanu, 2019). Prezența în must a alcoolului 2,3-butandiol denotă fermentația acestuia. El este prezent în timpul fermentației alcoolice la toate musturile, regăsindu-se în vin doar la varianta A2.

Concentrația de tetradecanol produsă în timpul fermentației alcoolice este specifică fiecărei levuri (Manzanares și colab., 2011), fiind întâlnit la toate variantele în timpul fermentației alcoolice. În vin, cu excepția variantei A5, se regăsește în toate

variantele. Esterul său, tetradecanoatul de etil este prezent la varianta A5 în faza fermentativă și în vin, astfel explicându-se astfel dispariția lui din must, din timpul procesului fermentativ.

Alcoolul sec-butilic sau 2-butanolul este un alcool superior, aciclic, secundar, saturat, ce are arome de caise, de fructe în alcool. Se găsește doar pe parcursul fermentației alcoolice, la toate variantele analizate la soiul Aligoté, în afară de varianta A1. Faptul ca acest alcool este întâlnit doar la variantele fermentate cu levuri selecționate, poate duce la concluzia că fiecare levură poate forma cantități specifice de 2-butanol. Rezultate similare au fost obținute și de Furtuna (2015). El poate fi format de către bacteriile lactice (*Lactobacillus brevis*) din 2,3-butandiol (Cotea și colab., 2009).

2-metil-1-butanol (alcool amilic activ) și 3-metil-1-butanol (alcool izoamilic) sunt izomerii alcoolului 2-etil-1-hexanolul. Cuvântul „amil” provine din cuvântul latinesc „*amilum*”, ce înseamnă amidon, acești alcooli fiind cunoscuți și ca alcooli de fermentație.

2-metilbutanol sau alcoolul 2-metil-1-butilic este numit frecvent alcool amilic optic activ sau, mai precis, alcool D-amilic. Este un alcool superior, aciclic, primar, saturat, cu cinci atomi de carbon, care provine din izoleucină (Cotea și colab., 2009). Acesta, apare în timpul fermentației alcoolice la toate variantele luate în studiu, iar în vin se găsește de asemenea la toate variantele analizate, excepție făcând varianta A5. Alcoolul izoamilic ca și alcoolul amilic activ se găsește la toate variantele în timpul fermentației alcoolice, fiind de asemenea regăsit și în vin la toate probele analizate.

Izobutanolul, alcoolul izobutilic sau 3-metil-butanol se formează în timpul fermentației alcoolice prin degradarea enzimatică a valinei (Țârdea și colab., 2010). Conținutul său în vin atinge praguri de 200 mg/L, ceea ce corespunde unor concentrații cuprinse între 4 și 15% din totalul alcoolilor superiori (Musteață și Furtuna, 2012). Se formează în timpul fermentației alcoolice, acesta regăsindu-se în vin, la toate variantele soiului Aligoté luat în studiu.

2-nonanolul apare numai pe durata fermentației alcoolice, doar la varianta A1 și variantele A2 și A5. Drtilová și colab. (2020) în studiile făcute cu culturi pure de *S. cerevisiae* ne arată faptul că cantitatea de 2-nonanol depinde de levura utilizată la fermentarea mustului.

6.3.1.3. Identificarea aldehidelor și cetonelor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté

O fracție aromatică volatilă foarte importantă a băuturilor alcoolice este compusă din compuși carbonilici, care conțin aldehide și cetone. Aceștia sunt compuși cheie în reacția biochimică atunci când levura produce alcooli de fuzel din

aminoacizi și zaharuri ce se formează în celulele de levuri și apoi sunt transferați în mediu (Capece și Romano, 2019).

Aldehidele sunt compuși din struguri, precursori ai aromelor din vin (Grainger și Tattersall, 2016). În general, aldehidele volatile au arome neplăcute, iar cu cât numărul lor de atomi de carbon crește, cu atât devin mai neplăcute (Huige, 1993).

Aldehidele pot influența negativ aroma de fermentație, întrucât, ele contribuie la reducerea prospețimii și fructuozității vinului. În general vinurile tinere conțin cantități mici de aldehide deoarece acestea sunt transformate în alcooli datorită activității reducătoare a levurilor (Țârdea și colab., 2010).

Aldehidele și cetonele pot reprezenta fie metaboliți de fermentație - produse de levuri (Ugliano și Henschke, 2009), fie produse de oxidare, iar în multe situații, sursa este dificil de determinat (Waterhouse și colab, 2016).

Cu toate acestea, odată ce un vin este stabil din punct de vedere microbiologic, aldehidele sau cetonele suplimentare provin din căi de oxidare nonenzimatică, în general din oxidarea alcoolului analog, dar și din căi mai puțin directe, cum ar fi reacția aminoacizilor cu α -dicarbonilii. De asemenea, aldehidele derivate din struguri sunt detectabile în must după zdrobire, în special aldehidele cu șase atomi de carbon formate prin oxidarea enzimatică a lipidelor din struguri. Cu toate acestea, acești compuși sunt reduși la alcoolii lor corespunzători în timpul vinificării (Waterhouse și colab, 2016).

Alcoolii superiori pot fi ușor oxidați în aldehide, iar datorită concentrațiilor lor relativ ridicate, oxidarea lor putând produce aldehide peste pragul de detecție (Waterhouse și colab, 2016).

Aldehidele sunt deosebit de reactive față de proteine, fiind mai puternic legate de proteine decât alcoolii. Proteinele provoacă adesea o scădere a volatilității compușilor de aromă. În general, compușii volatili sunt reținuți de proteine prin interacțiuni hidrofobe reversibile, adsorbție sau absorbție și prin diferite legături chimice (Charles și colab., 1996).

În must nu s-au identificat aldehide la nici o variantă, întărind afirmația prin care aldehidele sunt compuși chimici care se formează în timpul fermentației alcoolice (Bertrand, 1981). Cantitățile relativ mici dintr-un vin arată importanța lor minimă în aroma varietală (Moroșanu, 2019), totuși aldehidele și cetonele volatile au adesea praguri senzoriale de 100 chiar de 10000 ori mai mici decât alcoolii lor corespunzători. Din acest motiv oxidarea ușoară a produselor (de exemplu maturare ușoară la baric) poate afecta aroma vinului.

O serie de aldehide se formează în vin (Țârdea și colab., 2010), acestea fiind produse de levuri în urma fermentației alcoolice. Singura variantă la care s-au întâlnit toate aldehidele este varianta A1, unde fermentația a avut loc cu levuri din flora

spontană. La această variantă s-au identificat toate cele patru aldehide menționate în tabelul 6.21.

Singura aldehydă prezentă în vin a fost benzaldehida, detectată la vinurile unde fermentația a avut loc la volume mici fermentate cu levuri selecționate (A2 și A3). Prezența aldehydelor în vin doar în două variante poate fi pusă pe seama transformării lor în alcoolii corespunzători de către enzima alcool dehidrogenază. Această reacție nu este doar o simplă reducere a aldehydelor, ci poate implica mai mulți reactanți și pași de reacție (Grab și colab., 1996).

Nonanalul și decanalul fac parte din categoria aldehydelor cu lanț mediu (C8÷C10), găsindu-se în multe alimente. Ele conferă vinului arome cu nuanțe de citrice. Datorită nivelurilor scăzute ce se găsesc de obicei în vin, se crede că acestea au foarte rar un impact asupra atributelor senzoriale. Chiar și în absența lor, vinurile pot prezenta în continuare nuanțe similare citricelor (Waterhouse și colab, 2016).

Nonanalul sau aldehyda pelargonică a fost prezentă în toate variantele luate în studiu, doar în timpul fermentației alcoolice. Prezența acestei aldehyde a mai fost semnalată în alte vinuri conferind note verzi, metalice (Bakker și Clarke, 2012).

Decanalul este unul dintre cei mai activi compuși ce contribuie la formarea aromei de portocală, găsindu-se în mod natural în citrice. Se întâlnește în unele vinuri (Cotea și colab., 2009), uneori întâlnindu-se în vin după învechire în butoaie de lemn de 225 L din lemn de stejar (baricuri), mirosul de această dată amintind de rumeguș sau scândură (Flamini și Traldi, 2010), dând o caracteristică senzorială negativă aromei de vin.

Tabelul 6.21/ Table 6.21

Identificarea aldehydelor și cetonelor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Aligoté, recolta anului 2015
 Identification of aldehydes and ketones in the different phases of the fermentation process
 for the variants obtained from the Aligoté variety, 2015 harvest

Nr	Clasa	Nume	Descriptor de aroma*	A1			A2			A3			A4			A5			Surse Bibliografice
				M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	
1	ALDEHIDE	Aldehidă miristică	Aldehidic, ceros, lactate, cu nuanțe de pară		x								x					[3] [7] [10]	
2		Benzaldehidă	Aromă de migdale, fistic, dulce, amar, uleios, cireșe, nucă		x			x	x		x	x		x			x	[4] [6] [8]	
3		Decanal	Săpun, asemănător cu coaja de la citrice, ceros, gras, citrice		x			x			x								[4] [8] [11]
4		Nonanal	Miros metalic de săpun, gras, citric, verde, ceros, citric		x			x			x			x			x		[8] [10] [11]
1	CETONE	2,6-dimetil-4-heptanone	Fructat, ananas		x	x		x	x		x	x		x	x				[5] [12]
2		3-hidroxi-2-pentanone	Smântănos, ierbos, trufe		x			x			x			x			x		[1] [2]
3		Acetofenonă	Floral, dulce, migdale		x									x			x		[3] [8] [9]
4		Acetoină	Cremos, miros gras, untos, smântână		x			x			x			x			x		[4] [8] [11]
5		Benzofenonă	Balsam, trandafir, metalic		x			x			x			x			x		[9] [10] [13]
6		Metil-heptil-cetonă	Miros floral/verde, aromă de iarbă verde		x						x						x		[3] [8] [13]
TOTAL				0	10	1	0	7	2	0	8	2	0	8	1	0	7	0	

M=must; F=fermentație; V=vin; A1, A2, A3, A4, A5=variantele luate în studiu; x=indică faptul că respectivul compus a fost identificat; 1=Burdock, 2010; 2=Charles și colab., 2000; 3=Cotea și colab., 2009; 4=Furtuna, 2015; 5=Liu și colab., 2016; 6=Bonino și colab., 2003; 7=Moroșanu, 2019; 8=Nechita, 2010; 9=Rapp, 1988; 10=Vararu, 2016; 11=Waterhouse și colab, 2016; *www.thegoodscentscompany.com

O întâlnim doar în timpul fermentației alcoolice la volume mici, la variantele A1, A2 și A3, variante fermentate la vase de sticlă de capacități mici A1.

În timpul fermentării, aldehydele octanal, decanal și dodecanal sunt reduse la alcoolii corespunzători octanol, decanol și dodecanol. Aceasta conduce la un profil de aromă dezechilibrat, reacția nefiind doar o simplă reducere a aldehydelor, aceasta implicând o serie de reacții (Grab și colab., 1996).

Benzaldehida cunoscută și sub numele de aldehida benzoică este cea mai simplă aldehydă aromatică, fiind caracterizată printr-o aromă specifică de migdale amare. Prezența sa în vin, uneori, poate fi considerată ca și un defect. Este caracteristică unor struguri cum ar fi Gamay (Bakker și Clarke, 2012).

Poate apărea în vinuri ca precursor al alcoolului benzilic (oxidarea acestuia pe o perioadă mai îndelungată de timp a vinului cu aerul, în prezența enzimelor (Țârdea și colab., 2010).

Benzaldehida se formează în timpul fermentației alcoolice (Țârdea și colab., 2010), fiind identificată pe parcursul fermentației alcoolice la toate probele de Aligoté luate în studiu. Este singura aldehydă care se regăsește în vin, fiind identificată la variantele fermentate la vase de sticlă de capacități mici (50 L) cu levuri selecționate (A2 și A3), fără control termic.

Nonanalul se formează din oxidarea alcoolilor (Țârdea și colab., 2010).

Tetradecanalul sau aldehida miristică este un compus aciclic saturat, în stare pură se prezintă sub forma unor cristale mari lamelare, fiind întâlnită doar în timpul fermentației alcoolice numai la varianta A1 și varianta A4.

Prezența aldehydelor în vin într-un număr așa mic poate fi explicat datorită reactivității ridicate față de proteine (Charles și colab., 1996), care sunt îndepărtate simultan cu sulfitația și bentonizarea vinului.

Cetonele sunt compuși organici (Cotea și colab., 2009) ce se formează în timpul fermentației alcoolice (Furtuna, 2015; Moroșanu, 2019), prin oxidarea alcoolilor (Vararu, 2016). Cu toate acestea, unele sunt prezente în struguri în mod natural, de unde ajung în vinuri (Moroșanu, 2019).

Cetonele fac parte din grupa hidroxicetonelor, fiind identificate pe tot ciclul obținerii vinurilor la toate variantele din cadrul soiului Aligoté (tabelul 6.21), dintre acestea numai 2,6-dimetil-4-heptanone a fost identificată în vin la variantele A1, A2, A3 și A4. Prezența în vin doar a unei cetone poate fi pusă pe seama reducerii cetonelor la alcooli (Cotea și colab., 2009).

Cea mai importantă cetonă este acetoina denumită și acetil metil carbinol sau 3-hidroxiutan-2-ona. Are un iz ce se aseamănă celui ce poate fi perceput în lapte. Conține o grupă alcool secundară și se formează în timpul fermentațiilor alcoolice pe cale enzimatică, ca produs secundar (Cotea și colab., 2009).

În cadrul fermentației alcoolice, levurile din genul *Saccharomyces* produc cantități mici, în timp ce levurile apiculate (*Kloeckera*, *Hanseniaspora*) cât și

Zygosaccharomyces sunt mai productive. Bacteriile lactice formează acetoina plecând de la acidul citric, prin intermediul acidului piruvic (Cotea și colab., 2009).

Aceasta se formează prin condensarea a două molecule de acetaldehidă. Această reacție este catalizată de enzime din grupa carboligazelor, formându-se în concentrații mari de acetoina levogiră, având în medie valori cuprinse între 8 și 10 mg/L. Acetoina se transformă la rândul ei ușor în diacetil, un compus foarte volatil ce are gust și miros de acid acetic (Furtuna, 2015). Această reacție are loc prin oxidare, iar prin reducere se obține 2,3-butilenglicolul (Țârdea și colab., 2010; Ugliano și Henschke, 2009).

Acetoina o întâlnim la toate variantele analizate doar pe parcursul fermentației alcoolice, urmând ca aceasta să nu mai fie prezentă în vin, probabil din cauza ușurinței cu care se transformă în diacetil – prin oxidare cedând doi ioni H^+ și doi electroni (Cotea și colab., 2009), un compus foarte volatil, cu gust și miros de acid acetic (Furtuna, 2015) sau a fost redusă la 2,3-butandiol (Benítez și colab., 2019), ultima reacție putând fi reversibilă (Zamora, 2009).

Acetofenona sau metil-fenil-cetona, este una dintre cele mai simple cetone aromatice asimetrice, fiind caracterizată de o aromă plăcută și fructată. Este puțin solubilă în apă, dar solubilă în etanol, fiind antrenabilă cu vapori (Cotea și colab., 2009). În cercetări anterioare, acetofenona a mai fost identificată în boabele soiului Fetească albă, fiind prezentă în mod normal în ciclul biochimic de degradare a etilbenzenului (anaerob) (Nechita, 2010). Este posibil ca prezența sa să fie datorată condițiilor de păstrare a probelor (Nechita, 2010).

2-nonanonă sau metil-*n*-heptil-cetona, este o cetonă saturată asimetrică. În stare pură, se prezintă ca un lichid, insolubil în apă dar solubil în etanol. Prezența sa a fost semnalată doar în timpul fermentației alcoolice, numai la variantele A1, A3 și A5. Acest lucru poate fi pus pe seama capacității levurilor de a produce concentrații diferite de cetone ca metaboliți ai fermentației alcoolice.

Prezența compusului 2-nonanonă este atribuită oxidării acizilor grași (Costa și colab., 2018).

Yang și colab. (2015) au găsit concentrații diferite de 2,6-dimetil-4-heptanone în piețița strugurilor de Cabernet Sauvignon la diferite etape de dezvoltare. În cazul vinului obținut din soiul Aligoté, acesta a fost găsit în toate variantele cu excepția variantei A5 în timpul fermentației alcoolice și în vin.

3-hidroxi-2-pentanona a fost identificată pentru prima dată în sosul de soia. Prezența acestei cetone a mai fost identificată în vin și de Charles și colab. (2000). Ea contribuie în principal la aroma de oțet de vin, fiind produs în principal pe durata fermentației acetice. La soiul Aligoté a fost întâlnită numai în timpul fermentației alcoolice la toate variantele analizate.

Tabelul 6.22/ Table 6.22

Identificarea esterilor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Aligoté, recolta anului 2015
 Identification of esters in the different phases of the fermentation process for the variants obtained from the Aligoté variety, 2015 harvest

Nr	Clasa	Nume	Descriptor de aroma*	A1			A2			A3			A4			A5			Surse Bibliografice
				M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	ESTERI	Pentadecanoat de 3-metilbutil	Ceros, fructe, banane		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[11] [12] [17]
2		Laurat de izopentil	Vinos, gras, fructe supracoaapte		x			x			x			x			x	x	[1] [12] [18]
3		Hexanoat de 2-feniletil	Fructat, dulce, miere, floral, ceros cu nuanțe lemnoase, de transpirație		x	x		x			x	x					x	x	[1] [12]
4		Acetat de 2-feniletil	Fructe, trandafir, dulce, miere, tropical		x	x		x	x		x	x		x			x		[10] [15] [16]
5		Octanoat de 3-metilbutil	Fructat, ananas, dulce, verde, nucă de cocos		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[4] [10] [12]
6		Acetat de cis-3-hexenil	Verde, fructat cu aromă de mere pere și pepene galben, proaspăt, dulce		x			x			x			x				x	[1] [4] [11]
7		Succinat de dietil	Estompat, miros plăcut, Fructe, mere coapte, ylang		x			x			x						x		[2] [10] [15]
8		2-hexenoat de etil	Fructat, verde, dulce														x		[8] [11] [18]
9		9-decenoat de etil	Fructe cu frișcă		x	x		x	x		x	x		x			x		[4] [5] [12]
10		Benzoat de etil	Floral, medicinal, fructat, dulce, cireșe, struguri		x			x						x	x		x	x	[4] [10] [12]
11		Decanoat de etil	Uleios, fructe, floral, mere dulci, ananas	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [10] [18]
12		Dodecanoat de etil	Uleios/fructe/floral	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [10] [18]
13		Heptanoat de etil	Fructat, caisă, ananas, banane, căpșuni					x						x			x		[10] [12] [15]
14		Hexadecanoat de etil	Ceros, fructos, cremos și lăptos, cu o nuanță balsamică	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[6] [10] [12]
15		Hexanoat de etil	Fructe, ananas, banane, mere verzi		x			x			x			x			x	x	[10] [15] [16]

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
16	ESTERI	Lactat de etil	Untos, cremos, lactic		x			x			x	x		x	x		x	x	[6] [10] [16]
17		Linoleat de etil	Fructat., uleios, gras		x			x			x			x			x		[4] [7] [13]
18		Linoleolat de etil	—														x		[13]
19		Nonanoat de etil	Fructe/uleios/nucă, geranium		x	x		x	x		x			x	x		x	x	[2] [10] [12]
20		Octadecanoat de etil	Ceros		x	x		x	x		x	x		x			x	x	[1] [4] [10]
21		Octanoat de etil	Dulce, ceros, fructe, piersică, măr copt, ananas, pară, caise, coniac		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[4] [12] [16]
22		Oleat de etil	Acid, gras, ceros, lăptos, onctuos		x														[9] [12] [13]
23		Pentadecanoat de etil	Miere, dulce		x			x	x		x			x	x		x		[4] [9] [14]
24		Tetradecanoat de etil	Floral, ceros, dulce		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[9] [10] [12]
25		Undecanoat de etil	Ceros, gras cu nuanțe ușor onctuoase, coniac și nucă de cocos			x		x	x					x	x		x		[4] [10] [12]
26		Butirat de feniletil	Fructe, floral, verde cu nuanțe, tropicale		x	x													[1] [15] [17]
27		Octanoat de feniletil	fructat, dulce, ceros, cacao		x	x		x			x	x		x	x		x	x	[4] [12] [18]
28		Acetat de heptil	Fructat, verde, proaspăt, rom, ceros, gras, citric, aldehydic		x			x						x					[4] [12] [18]
29		Hexanoat de izopentil	Fructat, dulce, ananas, banana, măr		x	x		x			x			x	x		x	x	[1] [12] [18]
30		Acetat de hexil	Fructat/(măr), Verde, fructat, dulce, gras, proaspat, mere, pere		x			x			x			x					[10] [15] [16]
31		Octanoat de hexil	Fructat, verde, ceros,		x									x					[4] [5] [12]
32		Octanoat de izobutil	Fructat, verde		x			x	x					x			x	x	[12] [17]
33		Acetat de izoamil	Dulce, fructe, banana, solvent		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[2] [10] [12]
34		Decanoat de izobutil	Ulei, dulce, coniac, caise, fermentat		x			x			x			x			x	x	[12] [17]
35		Decanoat de metil	Fructat (Portocale)		x			x			x			x			x	x	[4] [10] [12]

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
36	ESTERI	Dodecanoat de metil	Ceros, cremoasă, nucleu de cocos, nuanțe de ciuperci		x									x					[4] [12] [18]
37		Linoleat de metil	Uleios, grad, lemnos		x			x			x			x					[1] [3]
38		Octanoat de metil	Asemănătoare cu cea de coacăze, flori		x			x			x			x			x	x	[4] [6] [12]
39		Acetat de n-octil	Verde, mineral, ciuperci, ierbos		x	x		x			x			x			x	x	[4] [12] [15]
40		Octanoat de propil	Coniac, cacao, cocos, gin		x			x			x			x			x	x	[4] [9] [12]
TOTAL				3	36	18	3	34	15	3	29	14	3	34	15	3	32	24	

M=must; F=fermentație; V=vin; A1, A2, A3, A4, A5=variantele luate în studiu; x=indică faptul că respectivul compus a fost identificat; 1=Burdock, 2010; 2=Colibaba, 2010; 3=Costa și colab., 2018; 4=Cotea și colab., 2009; 5=Drtilová și colab., 2020; 6=Furtuna, 2015; 7=Korenika și colab., 2020; 8=Liu și colab., 2016; 9=Moroșanu, 2019; 10=Nechita, 2010; 11=Nicolli și colab., 2015; 12=Rapp, 1988; 13=Scutărășu și colab., 2019; 14=Țarțian, 2019; 15=Vararu, 2016; 16=Waterhouse și colab., 2016; 17=Berrino și colab., 1988; 18=Yannai, 2013; *www.thegoodscentcompany.com

6.3.1.4. Identificarea esterilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté

Esterii sunt cei mai abundenți compuși aromatici găsiți în vin, fiind identificați până în prezent aproximativ 160 de esteri (Romano și colab., 2019, Jackson, 2020). Sunt principalii contribuabili la buchetul vinurilor tinere (Morakul și colab., 2010), fiind deosebit de importanți deoarece prezența acestor compuși determină aroma fructată a vinului (Claus, 2017).

În general, concentrația de esteri în vin este deasupra pragului de percepție (Manzanares și colab., 2011). Cu toate acestea, esterii obișnuiți pot apărea la sau peste pragul lor senzorial. Influența lor tinde să fie relativ de scurtă durată în timp ce se descompun în timpul învechirii în componentele lor constitutive, acizi și alcooli (Jackson, 2009).

Dintre compușii volatili detectați, esterii au ponderea cea mai mare – aproximativ 38% (Bakker și Clarke, 2012). Esterii etilici sunt metaboliți secundari produși de *S. cerevisiae* și de multe alte ciuperci. Rolul lor fiziologic natural nu este cunoscut, dar în fermentațiile alcoolice, ei joacă un rol cheie ca și compuși aromatici (Saerens și colab., 2006).

Cea mai numeroasă grupă de compuși identificați este cea a esterilor cu un număr de 40 de esteri (tabelul 6.22), întrucât, se formează în timpul fermentației alcoolice, malolactice, acetice, dar și ulterior pe durata păstrării și învechirii vinului (Țârdea și colab., 2010). Ei provin direct din struguri (identificându-se 3 esteri în must), precum și din activitatea levurilor în timpul fermentației alcoolice – 37 de esteri (Claus, 2017).

Ținând cont de faptul că în vin alcoolul preponderent este etanolul iar acidul cel mai reactiv este acidul acetic, cei mai importanți esteri pentru aroma vinurilor sunt esterii acizilor grași și acetatii alcoolilor superiori.

În varianta A1 au fost identificat cel mai mare număr de esteri – 36, acest lucru datorându-se fermentației spontane, unde varietatea levurilor este mai mare spre deosebire de variantele unde fermentarea s-a desfășurat doar cu ajutorul speciei *S. cerevisiae* (Manzanares și colab., 2011; Tufariello și colab., 2021).

În ceea ce privește producția esterilor, în vin există două grupe de esteri: esteri etilici și esteri acetati, ambii fiind responsabili de notele fructate ale vinurilor. Biosinteza acestor esteri urmează două moduri:

- Esterificare biologică care se realizează în timpul fermentațiilor (alcoolice, malolactice, acetice), având loc prin reacții enzimatică (Țârdea și colab., 2010) implicând diferite enzime (Tufariello și colab., 2021);

- Esterificare chimică ce are loc pe perioada de păstrare a vinului, prin reacții chimice (Țârdea și colab., 2010), aici formarea lor este directă, fără enzime, fiind o reacție de echilibru între un alcool și un acid (Tufariello și colab., 2021).

Esterii acetati în cazul fermentației alcoolice sunt sintetizați din alcool și acetyl-CoA de către enzima alcool-acetyltransferază, datorită activității levurilor *S. cerevisiae* (Furtuna, 2015).

Rata de formare a esterilor în timpul fermentației depinde de doi factori primari:

- (1) concentrația substraturilor, acil-CoA și alcool;
- (2) activitatea enzimelor implicate în sinteză și hidroliză (aciltransferase și esteraze) (Cordente și colab., 2012).

Esterii sunt formați intracelular și fiind solubili în lipide, esterii etilici pot difuza prin membrană în mediul de fermentare (Claus, 2017).

Esterii volatili sunt compuși importanți ai aromei vinurilor. Esterii acetati sunt de o importanță deosebită, dar esterii etilici ai acizilor grași cu catenă liniară cu un număr egal de atomi de carbon, cum ar fi hexanoatul, octanoatul sau decanoatul de etil, sunt, de asemenea, considerate atribute pozitive ale aromei din vinurile tinere, ce contribuie cu note florale și fructate (Linsenmeier și colab., 2010).

Esterii majoritari ai etanolului sunt cei formați cu alcoolii superiori, cum ar fi alcoolii izoamil și izobutil. Acești esteri de greutate moleculară inferioară sunt adesea denumiți esteri „fructați” din cauza senzațiilor de fructe. De exemplu, acetatul de izoamil (acetat de 3-metilbutil) are un miros asemănător cu banane și acetatul de benzil cu un aspect asemănător mărului. Ei joacă un rol semnificativ în buchetul vinurilor tinere, în special la vinurile albe (Jackson, 2009).

Aroma proaspătă, fructată la vinurile tinere, se datorează unui amestec de esteri generați în timpul fermentației (Manzanares și colab., 2011).

În vin, esterificarea și hidroliza esterilor sunt reacții de echilibru catalizate de acizi. Profilul esterilor este influențat și de enzimele cu activitate esterazică din levuri. Concentrații ridicate de esteri etilici ai acizilor grași cu lanț drept și acetati se formează în timpul fermentării datorită metabolismului lipidic al levurilor.

Cei mai mulți esteri formați în timpul fermentației alcoolice îi găsim la varianta A1, acolo unde levurile non-*Saccharomyces* produc o gamă mai largă de compuși de aromă volatili decât *S. cerevisiae*, acest lucru datorându-se faptului că fiecare specie levuriană codifică concentrații diferite de enzime extracelulare, acestea având efecte distincte asupra profilului de aromă al unui vin (Borren și Tian, 2020).

Hexanoatul de etil, octanoatul de etil și decanoatul de etil sunt cei mai importanți esteri etilici din vin și joacă un rol-cheie în notele de fructe de vinuri (Lambropoulos și Roussis, 2007).

Decanoatul de etil este de obicei prezent în vinuri la niveluri mai mici comparativ cu octanoatul sau hexanoat de etil, acest lucru poate fi explicat prin faptul că decanoatul de etil este esterul cel mai dificil de transportat din celula de levură în

mediu, în timp ce hexanoatul și octanoatul de etil, sunt transportați mai ușor din celula de levură (Vianna și Ebeler, 2001).

Esterii decanoat, dodecanoat și hexadecanoat de etil au fost identificați la toate variantele și în toate etapele formării vinului la soiul Aligoté.

Decanoatul de etil sau capratul de etil conferă la concentrațiile optime aroma florală și dulce vinului (Drtilová și colab., 2020), putând avea și note odorante uleioase. Producerea lui este favorizată de fermentarea la temperaturi mai ridicate cuprinse între 15÷20 °C. Concentrații mai mari se obțin în cazul macerației carbonice decât în cazul vinificării clasice (Jackson, 2020). Tarțian (2019), în studiile sale, a obținut valori diferite ale acestui ester în funcție de tehnologia folosită cât și de biotipul soiului. Nivelurile ridicate de decanoat de etil poate servi ca indicator de macerație carbonică (Jackson, 2020), de asemenea, el poate servi drept marker la vinurile spumante tinere (<9 luni.) (Charpentier, 2010). Vinurile produse cu *S. cerevisiae* în condiții anaerobe, au concentrații mai mari de decanoat de etil comparativ cu vinurile obținute prin diferite condiții de aerare (Canonico și colab., 2019).

Palmitatul de etil (hexadecanoatul de etil) are un miros de ceară specific, cu note cremoase, fructate, balsamice.

Vinuri produse cu *S. cerevisiae* în condiții anaerobe, au avut concentrații mai mari de octanoat de etil comparativ cu vinurile obținute prin diferite condiții de aerare (Canonico și colab., 2019).

Octadecanoatul de etil sau stearatul de etil se găsește în concentrații mari în coriandru, având note odorante ceroase. Concentrațiile din vin, diferă în funcție de tehnologia de vinificare cât și de biotipul soiului de strugure (Tarțian, 2019).

Pentadecanoatul de etil prezintă note odorante dulci, de miere de albine. Concentrațiile obținute în vin diferă de la o tehnologie de vinificare la alta, cât și de biotipul soiului de strugure (Tarțian, 2019).

Esterul acetat de izoamil poate servi drept marker la vinurile spumante tinere (<9 luni.) (Charpentier, 2010). Concentrații de acetat de izoamil au fost mai mari în fermentații inoculate simultan (4957 μg/L) decât în cele inoculate secvențial (3834 μg/L), mult mai mari decât în fermentațiile pure de *S. cerevisiae* (1828 μg/L) sau cu *T. delbrueckii* (64 μg/L). Aceste rezultate sugerează că îmbunătățirea producției în acest ester, în timpul inoculării mixte, se datorează levurii *S. cerevisiae* ca răspuns la prezența *T. delbrueckii* (Renault și colab., 2015).

Acetatul de 2-feniletil s-a întâlnit pe parcursul fermentației alcoolice la toate variantele, urmând ca acesta să se regăsească în vin la variantele fermentate la vase de sticlă de 50 L (A1, A2 și A3). Concentrații relativ ridicate în acest ester sunt produse și prin acțiunea levurilor *S. bayanus*, acesta sporește notele florale și de trandafir (Cordente și colab., 2012).

El poate servi drept marker la vinurile spumante tinere (<9 luni.) (Charpentier, 2010).

Acetatul de hexil poate servi drept marker la vinurile spumante tinere (<9 luni) (Charpentier, 2010).

Lactatul de etil, cu un miros fin și plăcut, apare în cursul fermentației malolactice și chiar, în concentrații mici, în timpul fermentației alcoolice, fiind apreciat ca un susținător al aromelor fructate, subtile, altminteri efemere. Concentrațiile mai mari modifică negativ însușirile olfactive și apar preponderent în vinurile afectate de înăcrirea lactică. Lactatul de etil are ca descriptori de aromă note ca untos, cremos.

Se formează mai ales pe cale biochimică. Este volatil, având astfel o influență mai mare asupra mirosului. Acetatul izoamilic se formează prin esterificare biologică, în timpul fermentației alcoolice. În perioada de învechire dispare treptat din vin (Țârdea și colab., 2010).

Succinatul de dietil își are originea prin esterificare chimică, mai puțin biologică, concentrația sa în vin crește în perioada de învechire (Țârdea și colab., 2010).

Există două explicații pentru formarea și diminuarea concentrației esterilor: levurile conțin enzime implicate simultan în formarea și degradarea esterilor, în mod alternativ, unii esterii, în special esterii cu lanț lung, ar putea fi adsorbiți pe pereții celulei (Charpentier, 2010). Temperaturile scăzute, fac parte dintre factorii care favorizează acumularea esterilor etilici în vin (Musteață și Furtuna, 2012).

Tabelul 6.23/ Table 6.23

Identificarea terpenelor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Aligoté, recolta anului 2015
 Identification of terpenes in the different phases of the fermentation process for the variants obtained from the Aligoté variety, 2015 harvest

Nr	Clasa	Nume	Descriptor de aroma*	A1			A2			A3			A4			A5			Surse Bibliografice
				M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	
1	TERPENE	Acetat de citronelil	Floral, lămâie, lemn de trandafir, fructe tropicale, pară și mere, verde, gras		x			x			x			x	x		x		[1] [3] [4]
2		Linalool	Floral, miros trandafiri, portocale, afine, slab citrice, terpenic, ceros		x			x	x		x			x	x		x		[2] [4] [5]
3		Hotrienol	Dulce, tropical, fenicul, ghimbir, iute					x						x					[2] [4] [5]
4		α-terpineol	Ierbos, floral, liliac, lemnos și rășinos cu nuanțe de lime și lămâie					x						x					[2] [4] [5]
TOTAL				0	2	0	0	4	1	0	2	0	0	4	2	0	2	0	

M=must; F=fermentație; V=vin; A1, A2, A3, A4, A5=variantele luate în studiu; x=indică faptul că respectivul compus a fost identificat; 1=Bonino și colab., 2003; 2=Nechita, 2010; 3=Pardo, 2015; 4=Rapp, 1988; 5=Waterhouse și colab, 2016; *www.thegoodscentscompany.com

6.3.1.5 Identificarea terpenelor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Aligoté

La mustul din soiul Aligoté nu s-a determinat nici o terpenă, făcând parte din categoria soiurilor nearomate. În schimb în timpul fermentației alcoolice s-a găsit un număr de patru terpen (tabelul 6.23), identificate la variantele A2 și A4. Aceste două variante au fost fermentate cu aceeași levură, aceasta având o capacitate mai bună de a elibera terpen în timpul fermentației alcoolice (Bell și Henschke, 2005; King și Dickinson, 2000).

La varianta A1 și variantele A3 și A5, în vin, cum era de așteptat, nu s-a identificat niciun compus din această grupă.

Cele mai abundente terpen produse de către toate levurile de vin *S. cerevisiae* testate sunt linaloolul și α -terpineolul (Bell și Henschke, 2005; King și Dickinson, 2000).

Studii recente sugerează că levurile pot produce monoterpen care ar putea contribui la aroma din vinuri (Bell și Henschke, 2005; Carrau și colab., 2005).

În timpul fermentației alcoolice au fost identificate un număr de 4 terpen, față de cele 50 de monoterpen raportate de Mateo și Jimenez (2000) ca fiind prezente în vin.

Terpenele sunt compuși importanți de aromă pentru mulți struguri aromați, (Yuan și Qian, 2015).

Pentru unele soiuri (de exemplu, Muscat), alcoolii monoterpeni sunt compuși de impact la aroma vinului, în timp ce pentru alte soiuri (de exemplu, Riesling) sunt importante pentru aroma vinurilor tinere (Linsenmeier și colab., 2010).

Terpenele volatile își au originea din strugurii aromați și din fermentația alcoolică (Țârdea și colab., 2010), creșterea compușilor terpenici datorându-se hidrolizei enzimatică a glicozizilor terpenici (Musteață și Furtuna, 2012).

În studiul lor, Carrau și colab. (2005) au constatat că microaerația comparativ cu condițiile anaerobice favorizează acumularea de terpen în timpul fermentației alcoolice. Ulterior, au înregistrat o creștere cu aproximativ 30% a concentrației de terpen analizate înainte și după fermentație, linaloolul și α -terpineolul fiind terpenele produse în concentrația cea mai mare de către toate levurile *S. cerevisiae* testate (linaloolul prezentând valori aproape de pragul de percepție al acestui compus - 5 $\mu\text{g/L}$).

În timpul fermentației alcoolice geraniolul este transformat de către levuri în linalool, iar nerolul este ciclizat și trecut apoi în α -terpineol (Țârdea și colab., 2010).

Unele levuri non-*Saccharomyces* cum ar fi *H. uvarum* au o activitate β -glucozidazică mai mare decât *S. cerevisiae*. Ferreira și colab. au constatat că în mustul de Muscat, *H. uvarum* a reușit să elibereze concentrații mai mari de linalool,

geraniol, nerol, α -terpineol, o-cimene și citronelol, îmbunătățind astfel caracterul varietal al vinului (Tufariello și colab., 2021).

Acumularea linaloolului este influențată și de conținutul de azot, producția lui fiind favorizată de concentrații mai mari din acest nutrient.

Unii autori au raportat o producție semnificativă de linalool în vinul Muscat datorită activității enzimatică a lui *T. delbrueckii*, această levură având o activitate β -glucozidază mai mare decât *S. cerevisiae*. Această activitate enzimatică permite *T. delbrueckii* să îmbunătățească profilul senzorial, eliberând terpene de la precursori inodori sau influențând producția de alcooli (Tufariello și colab., 2021).

6.3.1.6. Identificarea compușilor volatili la vinuri după terminarea fermentației alcoolice la vinurile obținute din soiul Aligoté

Ponderea cea mai mare a acidului decanoic s-a înregistrat la variantele fermentate la cisternă (A4 și A5) decât variantele fermentate cu aceeași levură la vase de sticlă de 50 L, varianta A1 înregistrând cea mai mică valoare.

Acidul dodecanoic, ca și acidul decanoic prezintă ponderi mai mici la vinuri la variantele fermentate la dimensiuni mici (A2 și A3) decât la variantele fermentate la volume mari (A4 și A5). La acest acid, varianta A1, are o valoare intermediară variantelor analizate.

La ambii acizi s-a constatat o creștere a concentrației în prima parte a fermentației alcoolice, urmată de o diminuare spre finalul fermentației alcoolice. Rezultate similare au fost obținute și de Molina și colab. (2007).

Alcoolul izobutilic se găsește în ponderi mai mari la variantele fermentate la vase de sticlă de capacități mici (50 L) – A2 și A3 decât la variantele fermentate la cisternă (A4 și A5), iar cea mai mică urmând a fi găsită la varianta A1.

În ceea ce privește alcoolul izoamilic, situația este opusă alcoolului prezentat anterior. Ponderi mai mici sunt înregistrate la variantele A2 și A3 față de A4, respectiv A5. La acesta varianta A1 are o valoare intermediară probelor fermentate la cisternă față de cele la vase de sticlă de capacități mici (50 L).

Alcoolii se formează preponderent în prima jumătate a procesul de fermentație alcoolică, menținându-se în concentrații ridicate spre finalul acesteia (Molina și colab., 2007).

Esterii decanoat de etil și dodecanoat de etil au înregistrat cele mai ponderi la varianta A5. Variantele fermentate la vase de sticlă la capacități mici (50 L) prezintă ponderi mai mici comparativ cu variantele fermentate la cisternă. Aceste diferențe pot fi explicate prin faptul că temperaturile mai ridicate favorizează evaporarea compușilor volatili în concentrații mai mari în timpul fermentației alcoolice (Sablayrolles, 2019).

Esterii ating valoarea maximă în timpul fermentației alcoolice, în prima jumătate, rezultate similare fiind obținute de Molina și colab. (2007) și Jackson

(2020). După această fază, scăderea conținutului în esteri, poate fi pusă pe seama degajării CO₂, care duce la evaporarea compușilor volatili. Acest proces este influențat atât de forma și mărimea vaselor de fermentare, cât și de temperatura din timpul fermentației alcoolice (Jackson, 2020).

6.3.2. Identificarea compușilor volatili în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală

6.3.2.1. Identificarea acizilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală

Spre deosebire de soiul Aligoté, la vinul obținut din soiul Fetească regală, în timpul fermentației alcoolice s-au determinat 14 acizi volatili (tabelul 6.24) la toate variantele. În must numărul acizilor volatili a fost mai mare (8) față de soiul prezentat anterior (6).

În vin cei mai mulți acizi volatili în număr de nouă au fost determinați la varianta F3. La polul opus se situează varianta F5, variantă cu cinci acizi volatili, fiind fermentată cu aceeași levură ca varianta precedentă (F3).

Pe de o parte acest fapt poate fi pus pe seama faptului că în timpul procesului de fermentație alcoolică se înregistrează o concentrație și o producție diferită în funcție de levura utilizată (Chidi și colab., 2015), iar pe de altă parte acest fapt poate fi atribuit modului de formare al esterilor (Tufariello și colab., 2021).

Acizii care imprimă note aromatice de miere și ceară de albine sunt acizii: octanoic, decanoic și caproic (Țârdea și colab., 2010). Acestea sunt specifice soiului Fetească regală, acești acizi au fost determinați la toate variantele analizate în toate etapele de vinificare (de la must la vin).

În afară de acizii menționați mai sus, doar acidul acetic a mai fost găsit în toate etapele analizate pentru fiecare variantă studiată, prezența sa încă din etapa de must se datorează proceselor biochimice (Nechita, 2010).

Acidul 9-decenoic la soiul Fetească regală este prezent în toate variantele și toate etapele analizate cu excepția variantelor A4 și A5 unde acesta nu s-a mai regăsit în vin. Disparația acestui acid poate fi atribuită formării esterului său etil 9-decenoat.

Acizii identificați, miristic, heptanoic și butanoic sunt determinați doar în timpul fermentației alcoolice la toate variantele analizate, urmând ca aceștia să fie transformați în esterii corespunzători în timpul procesului menționat.

Acidul izobutiric ce prezintă o aromă rancedă și înțepătoare s-a format în timpul fermentației alcoolice la toate variantele. În vin acest acid a fost prezent doar la varianta A3, variantă fermentată la vase de sticlă de capacități mici (50 L) cu levuri selecționate, aceasta poate fi corelată cu levura utilizată (Chidi și colab., 2015).

6.3.2.2. *Identificarea alcoolilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală*

La soiul Fetească regală au fost identificați 22 de alcooli (tabelul 6.25) de la faza de must până la vin la toate variantele analizate, un număr similar cu cel determinat la soiul Aligoté.

Cei mai mulți alcooli pe durata fermentației alcoolice s-au determinat la varianta F3, varianta fermentată la volume mici cu levuri selecționate, iar cei mai puțini au fost identificați la variantele F1 și F4.

La variantele unde fermentația a avut loc la cisterne numărul alcoolilor din timpul fermentației alcoolice a fost mai mic pentru ambele levuri folosite (F2 cu 20 alcooli respectiv F4 cu 19 alcooli și F3 cu 21 de alcooli respectiv F5 cu 20 de alcooli).

De exemplu alcoolul 2-butanol este determinat doar la variantele F3 și F5, corelându-se cu levura, care favorizează producerea acestui alcool (Jackson, 2020).

1-heptanolul a fost identificat în timpul fermentației alcoolice la toate variantele analizate, urmând ca în vin să fie găsit doar la variantele unde fermentația a avut loc la volume mici.

Alcoolul 3-metil-2-hexanol a fost identificat doar în timpul fermentației alcoolice numai la varianta F1 și variantele fermentate la volume mici (F2 și F3)

3-metil-pentan-1-ol cunoscut apare în timpul fermentației alcoolice, fiind găsit și în vin la toate variantele analizate.

Hexanolul prezent din faza de must și în timpul fermentației alcoolice la toate variantele analizate, s-a regăsit în vin doar la varianta F3. Esterul său, etil hexanoat, a fost determinat în vin, la toate variantele studiate.

6.3.2.3 Identificarea aldehydelor și cetonelor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală

Ca și la soiul Aligoté, s-au identificat aceleași patru aldehyde (tabelul 6.26) dintr-un total de 25 de aldehyde, care au fost raportate de Montedoro și Bertuccioli (Nechita 2010).

Din aldehyde, în timpul fermentației alcoolice apar alcooli primari, iar din cetone rezultă alcooli secundari sub acțiunea enzimei alcooldehidrogenaza (Cotea și colab., 2009).

Aldehydele sunt produse ale metabolismului levurian, în timpul fermentației alcoolice din zaharuri, acizi grași și aminoacizi (Kłosowski și colab., 2017), producția de aldehyde în timpul procesului de fermentare, este o caracteristică individuală a fiecărei levuri. Kłosowski și colab. (2017) au constatat că există o asocierie între randamentul fermentației și concentrația de aldehyde. Acest lucru este în corelație cu scăderea numărului de aldehyde din timpul fermentației alcoolice doar la benzaldehidă.

Benzaldehida formată la toate variantele studiate în timpul fermentației alcoolice (Țârdea și colab., 2010), spre deosebire de vinul Aligoté, la vinul obținut din soiul Fetească regală, este prezentă și în vin la toate probele analizate.

Nonanalul denumită și alhida pelargonică își poate avea originea din oxidarea alcoolilor (Țârdea și colab., 2010), fiind întâlnită doar în timpul fermentației la varianta A1 și variantele la care fermentarea a avut loc la volume mai mari (A4 și A5).

În cazul cetonelor, la Fetească regală întâlnim doar trei (tabelul 6.26) din cele șase cetone din probele analizate din soiul Aligoté.

Acetoina o întâlnim doar în primele două faze: de must și cea a fermentației alcoolice la toate variantele analizate.

2,6-dimetil-4-heptanone, cetona cu aromă fructată, de ananas s-a întâlnit doar în timpul fermentației alcoolice la toate variantele analizate.

Prezența cetonelor, în cea mare parte, în timpul fermentației alcoolice, se datorează formării lor în timpul procesului fermentativ (Moroșanu 2019) urmat de reducerea lor la alcooli (Cotea și colab., 2009).

6.3.2.4. Identificarea esterilor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală

La Fetească regală, clasa esterilor a înregistrat cel mai mare număr de compuși odoranți (39) (tabelul 6.27). Dintre aceștia 35 au fost determinați la varianta F1, iar cei mai puțini (32) au fost găsiți la varianta F3 și F4.

Obținerea unui număr cât mai mare de esteri la varianta F1 se datorează faptului că aici fermentația a avut loc cu levuri indigene, (Cotea și colab., 2009). Fiecare levură contribuie la profilul aromatic al vinului cu proprietăți distinctive (Tufariello și colab.,

2021), astfel că fermentările mixte, simultane și/sau secvențiale determină obținerea unor vinuri mai complexe. Dintre levurile non-*Scaccharomyces*, care au un impact pozitiv asupra producției de esteri, amintim: *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia kluyveri*, *Hanseniaspora spp*, *T. delbrueckii* (Tufariello și colab., 2021).

Fermentările inoculate cu o singură levură din genul *S. cerevisiae* conduc la obținerea unor vinuri cu o complexitate specifică, în comparație cu vinurile unde fermentația a avut loc spontan (Wen-Ke și colab., 2019).

În must, la soiul Fetească regală, au fost determinați 14 esteri, apariția lor fiind favorizată de macerația prefermentativă, care a ajutat la extracția aromelor din pielea strugurilor (Tudose Sandu-Ville, 2012). Această operație vine în sprijinul oenologului pentru crearea unui vin de un anumit nivel de calitate ce ajută punerea în valoare a creativității. Studiile anterioare confirmă faptul că tratamentele prefermentative au influență asupra scheletului senzorial al vinului (Moroșanu, 2019).

Fermentația alcoolică este principalul proces prin care are loc dezvoltarea compușilor aromatici activi din vin, din care esterii sunt componente senzoriale semnificative, constituind principalii compuși care formează buchetul de fermentație (Furtuna, 2015).

Scăderea numărului esterilor din faza fermentației alcoolice la vin poate fi atribuită și unor operațiuni tehnologice precum priturile, transvazările și filtrările prin pierderile de esteri volatili soldată cu circa 10% mai puține arome în vin (Musteață și Furtuna, 2012).

6.3.2.5. Identificarea terpenelor cu caracter volatil în diferitele faze ale procesului fermentativ la vinurile obținute din soiul Fetească regală

Din cele patru terpene care au fost determinate la Fetească regală (tabelul 6.28), trei (linalool, hotrienol și α -terpineol) au mai fost raportate ca fiind compuși terpenici majoritari pentru vinul obținut din acest soi din recolta anului 2015. Tratamentele prefermentative influențează variația acestor compuși (Moroșanu, 2019).

Tabelul 6.24/ Table 6.24

Identificarea acizilor volatili în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Fetească regală, recolta anului 2015
 Identification of volatile acids in the different phases of the fermentation process for the variants obtained from the Fetească regală variety, 2015 harvest

Nr	Clasa	Nume	Descriptor de aroma*	F1			F2			F3			F4			F5			Surse Bibliografice
				M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	
1	ACIZI ORGANICI	Acid 9-decenoic	Verde, ceros, gras	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		[2] [3] [11]	
2		Acid acetic	Oțet, înțepător	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[2] [8] [9]	
3		Acid benzoic	Balsamic	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	[2] [6] [7]	
4		Acid butanoic	Brânză, dulce, lactic,		x			x			x			x			x	[4] [7] [10]	
5		Acid decanoic	Acru, gras, fermentare, cașcaval	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [7] [10]	
6		Acid dodecanoic	Metal, gras, nucleu de cocos, ulei de dafin	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x		x	x	[2] [4] [10]	
7		Acid heptanoic	Miros gras, aromă fructuoasă, brânză, ceros, fermentat, fructe, ananas					x			x			x			x	[4] [7] [9]	
8		Acid izobutiric	Înțepător, rănced		x			x			x	x		x			x	[4] [7] [10]	
9		Acid izovaleric	Neplăcut, înțepător, de transpirație, brânză acră	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[1] [7] [10]	
10		Acid miristic	Ceros, gras, cremos, brânzos, nucleu de cocos, ananas					x			x			x			x	[2] [4] [6]	
11		Acid nonanoic	Miros de nucleu, ceros, murdar, brânzos		x			x			x			x	x		x	[3] [4] [7]	
12		Acid octanoic	Miros gras, aromă de brânză sărată, rănced, vegetal	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [7] [10]	
13		Acid oleic	Ceros, uleios		x			x	x		x			x	x		x	[2] [5] [6]	
14		Acid hexanoic	Miros dulceag, brânză	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[1] [7] [10]	
TOTAL				8	14	8	8	14	7	8	14	9	8	14	8	8	14	5	

M=must; F=fermentație; V=vin; A1, A2, A3, A4, A5=variantele luate în studiu; x=indică faptul că respectivul compus a fost identificat; 1=Colibaba, 2010; 2=Cotea și colab., 2009; 3=Drîlău și colab., 2020; 4=Furtuna, 2015; 5=Manzanares, 2011; 6=Moroșanu, 2019; 7=Nechita, 2010; 8=Rapp, 1988; 9=Vararu, 2016; 10=Waterhouse și colab, 2016; 11=Yannai, 2013;

*www.thegoodscentscompany.com

Tabelul 6.25/ Table 6.25

Identificarea alcoolilor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Fetească regală, recolta anului 2015
 Identification of alcohols in the different phases of the fermentation process
 for the variants obtained from the Fetească regală variety, 2015 harvest

Nr	Clasa	Nume	Descriptor de aroma*	F1			F2			F3			F4			F5			Surse Bibliografice
				M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	ALCOOLI	1-decanol	Citrice, fructat, portocala, ceros, floral, dulce, curat		x			x			x	x		x	x		x		[2] [9] [15]
2		1-dodecanol	Floral, pământos, ceros, miere, cocos	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x		x	x		[2] [9] [15]
3		1-heptanol	Verde, frunze, fructat cu nuanțe, de mere și banane		x	x		x	x		x	x		x			x		[2] [7] [9]
4		1-hexadecanol	Ceros, curat, floral		x			x			x			x			x		[4] [8] [11]
5		1-octanol	Citrice, ceros, verde, aromă florală cu nuanțe de nucă de cocos dulce și gras	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[1] [7] [9]
6		1-propanol	Fructat / miros alcoolic, alcoolic, fructe coapte		x	x		x	x		x			x			x	x	[1] [5] [9]
7		1-tetradecanol	Fructat, ceros		x			x			x			x			x	x	[6] [8] [11]
8		1-undecanol	Floral, citric, proaspăt, ceros, trandafir		x			x	x		x			x			x		[2] [4] [10]
9		2,3-butandiol	Fructe, frișcă, unt		x			x			x	x		x			x	x	[5] [9] [12]
10		2,6-dimetil-heptan-4-ol	Levură fermentată	x	x		x	x		x	x		x	x		x	x		[8] [10] [15]
11		2-butanol	Fructe în alcool, caise						x		x	x					x		[2] [5] [9]
12		2-feniletanol	Dulce, floral, proaspăt, cu parfum ușor de trandafiri, miere, liliac	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[2] [5] [13]
13		2-hexenol	Verde, frunze		x			x						x			x		[9] [13] [15]
14		2-metil-butan-1-ol	Pământos-mustos, eterat-fructat, fuzel		x			x			x	x		x			x		[9] [10] [13]

1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
15	2-nonanol	Ceros, verde, cremos, portocală, brânză cu ușoară nuanță de fructe								x			x					[2] [9] [14]
16	2-octanol	Verde, iute, proaspăt, picant, aromă de banană crudă					x			x						x		[1] [2] [10]
17	3-hexenol	Ierbaceu, verde, proaspăt	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x		x	x	x	[2] [9] [13]
18	3-metil-2-hexanol	-		x			x			x								[3]
19	3-metil-butan-1-ol	Fructat-vinos, fructe, măr, pară, banane, uleiuri de fuzel	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[5] [9] [13]
20	3-metil-pentan-1-ol	Înțepător, coniac și vin, cacao		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[2] [9] [10]
21	2-metil-1-propanol	Eterat / fructat, alcoolic, vinos, lac de unghii		x	x		x			x			x	x		x	x	[9] [12] [13]
22	Hexan-1-ol	Verde, fructe, coajă de măr, uleios	x	x		x	x		x	x	x	x	x		x	x		[2] [9] [12]
TOTAL			7	19	9	7	20	9	7	21	11	7	19	6	7	20	9	

M=must; F=fermentație; V=vin; A1, A2, A3, A4, A5=variantele luate în studiu; x=indică faptul că respectivul compus a fost identificat; 1=Colibaba, 2010; 2=Cotea și colab., 2009; 3=Dall'Asta C și colab., 2011; 4=Drtilová și colab., 2020; 5=Furtuna, 2015; 6=Manzanares, 2011; 7=Bonino și colab., 2003; 8=Moroșanu, 2019; 9=Nechita, 2010; 10=Rapp, 1988; 11=Tașian, 2019; 12=Vararu, 2016; 13=Waterhouse și colab, 2016; 14=Berrino și colab., 1988; 15=Yannai, 2013; *www.thegoodscentscompany.com

Tabelul 6.26/ Table 6.26

Identificarea aldehydelor și cetonelor în diferitele faze ale procesului fermentativ
la variantele obținute din soiul Fetească regală, recolta anului 2015
Identification of aldehydes and ketones in the different phases of the fermentation process
for the variants obtained from the Fetească regală variety, 2015 harvest

Nr	Clasa	Nume	Descriptor de aroma*	F1			F2			F3			F4			F5			Surse Bibliografice	
				M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V		
1	ALDEHIDA	Aldehidă miristică (tetradecanal)	Aldehidic, ceros, lactate, cu nuanțe de pară		x			x			x			x			x		[1] [5] [8]	
2		Benzaldehidă	Aromă de migdale amare (sâmburi de cireșe), fistic, dulce, amar, uleios, migdale, cireșe, nucleu, fructe,		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[2] [4] [6]	
3		Decanal	Săpun, asemănător cu coaja de la citrice, ceros, gras, citrice		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x		[2] [6] [9]
4		Nonanal	Miros metalic de săpun, gras, citric, verde, ceros, citric			x									x			x		[6] [8] [9]
1	CETONE	2,6-dimetil-4-heptanone	Fructat, ananas			x			x				x				x		[3] [10]	
2		Acetofenonă	Floral, dulce, migdale						x		x								[1] [6] [7]	
3		Acetoină	Cremos, miros gras, untos, smântână		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x		[2] [6] [9]
TOTAL				2	6	1	2	5	2	2	6	1	2	6	1	2	6	1		

M=must; F=fermentație; V=vin; A1, A2, A3, A4, A5=variantele luate în studiu; x=indică faptul că respectivul compus a fost identificat; 1=Cotea și colab., 2009; 2=Furtuna, 2015; 3=Liu și colab., 2016; 4=Bonino și colab., 2003; 5=Moroșanu, 2019; 6=Nechita, 2010; 7=Rapp, 1988; 8=Vararu, 2016; 9=Waterhouse și colab, 2016; 10=Yang și colab., 2015; *www.thegoodscentscompany.com

Tabelul 6.27/ Table 6.27

Identificarea esterilor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Fetească regală, recolta anului 2015
 Identification of esters in the different phases of the fermentation process for the variants obtained from the Fetească regală variety, 2015 harvest

Nr	Clasa	Nume	Descriptor de aroma*	F1			F2			F3			F4			F5			Surse Bibliografice
				M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	ESTERI	Pentadecanoat de 3-metilbutil	Ceros, fructe, banane	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[12] [13] [18]
2		Laurat de izopentil	Vinos, gras, fructe supracapte		x				x			x		x	x		x	x	[1] [13] [19]
3		Hexanoat de 2-feniletil	Fructat, dulce, miere, floral, ceros cu nuanțe lemnoase, de transpirație		x						x						x		[1] [13]
4		Acetat de 2-feniletil	Fructe, trandafir, dulce, miere, tropical		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[11] [16] [17]
5		Octanoat de 3-metilbutil	Fructat, ananas, dulce, verde, nucă de cocos	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [11] [13]
6		Acetat de cis-3-hexenil	Verde, fructat cu aromă de mere pere și pepene galben, proaspăt, dulce								x						x		[1] [4] [12]
7		Succinat de dietil	Estompat, miros plăcut, fructe, mere coapte, ylang		x	x		x			x			x			x		[2] [11] [16]
8		2-hexenoat de etil	Fructat, verde, dulce		x	x		x			x			x	x			x	[8] [9] [12]
9		9-decenoat de etil	Fructe cu frișcă	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [5] [13]
10		Benzoat de etil	Floral, medicinal, fructat, dulce, cireșe, struguri		x			x			x	x		x	x		x	x	[4] [11] [13]
11		Decanoat de etil	Uleios, fructe, floral, mere dulci, ananas	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [11] [19]
12		Dodecanoat de etil	Uleios/fructe/floral	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [11] [19]
13		Heptanoat de etil	Fructat, caisă, ananas, banane, căpșuni		x							x		x			x		[11] [13] [16]

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
14	ESTERI	Hexadecanoat de etil	Ceros, fructos, cremos și lăptos, cu o nuanță balsamică	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[6] [11] [13]
15		Hexanoat de etil	Fructe, ananas, banane, mere verzi	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[11] [16] [17]
16		Lactat de etil	Untos, cremos, lactic	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	[6] [11] [17]
17		Linoleat de etil	Fructat., uleios, gras		x			x	x		x			x	x		x	x	[4] [7] [14]
18		Linoleolat de etil	—		x			x	x		x			x			x		[14]
19		Nonanoat de etil	Fructe/uleios/nucă, geranium		x	x		x	x		x			x	x		x	x	[2] [11] [13]
20		Octadecanoat de etil	Ceros	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	[1] [4] [11]
21		Octanoat de etil	Dulce, ceros, fructe, piersică, măr copt, ananas, pară, caise, coniac	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [13] [17]
22		Oleat de etil	Acid, gras, ceros, lăptos, onctuos		x	x		x				x					x	x	[10] [13] [14]
23		Pentadecanoat de etil	Miere, dulce	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[4] [10] [15]
24		Tetradecanoat de etil	Floral, ceros, dulce	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[10] [11] [13]
25		Undecanoat de etil	Ceros, gras cu nuanțe ușor onctuoase, coniac și nucă de cocos		x	x		x	x		x			x	x		x		[4] [11] [13]
26		Octanoat de feniletil	Fructat, dulce, ceros, cacao								x								[4] [13] [19]
27		Acetat de heptil	Fructat, verde, proaspăt, rom, ceros, gras, citric, aldehydic	x	x	x	x	x		x	x	x	x				x		[4] [13] [19]
28		Hexanoat de izopentil	Fructat, dulce, ananas, banana, măr		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[1] [13] [19]
29		Acetat de hexil	Fructat /(măr), Verde, fructat, dulce, gras, proaspat, mere, pere		x			x											[11] [16] [17]
30		Octanoat de hexil	Fructat, verde, ceros,		x	x		x											[4] [5] [13]
31		Octanoat de izobutil	Fructat, verde		x	x		x	x		x	x		x	x		x		[13] [18]

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
32	ESTERI	Acetat de izoamil	Dulce, fructe, banana, solvent	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[2] [11] [13]
33		Decanoat de izobutil	Ulei, dulce, coniac, caise, fermentat		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[13] [18]
34		Decanoat de metil	Fructat (Portocale)		x	x		x	x		x			x			x		[4] [11] [13]
35		Dodecanoat de metil	Ceros, cremoasă, nucă de cocos, nuanțe de ciuperci											x					[4] [13] [19]
36		Linoleat de metil	Uleios, lemnos		x	x		x			x			x			x		[1] [3]
37		Octanoat de metil	Asemănătoare cu cea de coacăze, flori		x	x		x	x		x	x		x	x		x	x	[4] [6] [13]
38		Acetat de n-octil	Verde, mineral, ciuperci, ierbos		x			x						x			x	x	[4] [13] [16]
39		Octanoat de propil	Coniac, cacao, cocos, gin					x	x		x	x		x	x		x	x	[4] [10] [13]
TOTAL				14	35	27	14	33	25	14	32	22	14	32	25	14	33	25	

M=must; F=fermentație; V=vin; A1, A2, A3, A4, A5=variantele luate în studiu; x=indică faptul că respectivul compus a fost identificat; 1=Burdock, 2010; 2=Colibaba, 2010; 3=Costa și colab., 2018; 4=Cotea și colab., 2009; 5=Drtilová și colab., 2020; 6=Furtuna, 2015; 7=Korenika și colab., 2020; 8=Liu și colab., 2016; 9=Bonino și colab., 2003; 10=Moroșanu, 2019; 11=Nechita, 2010; 12=Nicolli și colab., 2015; 13=Rapp, 1988; 14=Scutărășu și colab., 2019; 15=Tașian, 2019; 16=Vararu, 2016; 17=Waterhouse și colab., 2016; 18=Berrino și colab., 1988; 19=Yannai, 2013; *www.thegoodscentscompany.com

Tabelul 6.28/ Table 6.28

Identificarea terpenelor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Fetească regală, recolta anului 2015
 Identification of terpens in the different phases of the fermentation process for the variants
 obtained from the Fetească regală variety, 2015 harvest

Nr	Clasa	Nume	Descriptor de aroma*	F1			F2			F3			F4			F5			Surse Bibliografice
				M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	M	F	V	
1	TERPENE	Acetat de citronelil	Floral, lămâie, lemn de trandafir, fructe tropicale, pară și mere, verde, gras						x		x	x		x	x		x		[1] [3] [4]
2		Linalool	Floral, miros trandafiri, portocale, afine, slab citrice, terpenic, ceros	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	[2] [4] [5]
3		Hotrienol	Dulce, tropical, fenicul, ghimbir, iute							x			x				x	x	[2] [4] [5]
4		α-terpineol	Ierbos, floral, liliac, lemnos și rășinos cu nuanțe de lime și lămâie														x		[2] [4] [5]
TOTAL				1	1	1	1	1	2	1	3	2	1	3	2	1	4	2	

M=must; F=fermentație; V=vin; A1, A2, A3, A4, A5=variantele luate în studiu; x=indică faptul că respectivul compus a fost identificat; 1=Bonino și colab., 2003; 2=Nechita, 2010; 3=Pardo, 2015; 4=Rapp, 1988; 5=Waterhouse și colab, 2016; *www.thegoodscentcompany.com

6.3.2.6. *Identificarea compușilor volatili după terminarea fermentației alcoolice la vinurile obținute din soiul Fetească regală*

Acidul octanoic și acidul decanoic prezintă cea mai mare valoare la varianta F1. Aromele generate de acești acizi sunt cele de miere și ceară de albine (Țârdea și colab., 2010), arome caracteristice soiului Fetească regală. În cazul variantelor fermentate cu levuri selecționate, acidul octanoic are o pondere mai mare la variantele fermentate la cisterne (F4 și F5) comparativ cu variantele fermentate la vase de sticlă de capacități mici de 50 L (F2 și F3). Aceiași constatare este valabilă și pentru acidul decanoic.

Formarea acestor acizi are loc în prima jumătate a fermentației alcoolice, după care aceștia înregistrează o diminuare spre finalul procesului fermentativ, informații similare sunt descrise de Lukić și colab. (2017) și Molina și colab. (2007).

2-feniletanolul prezintă ponderi diferite de la o variantă la alta, valoarea cea mai mare fiind întâlnită la varianta F2 iar cea mai mică la varianta F3 (ambele variante fermentate cu levuri selecționate la vase de sticlă de 50 L).

Alcoolul izoamilic are ponderea cea mai mare la varianta A1. Acesta a înregistrat ponderi mai mari la variantele fermentate la cisternă (F4 și F5) comparativ cu probele care au fermentat la vase de sticlă de 50 L (F2 și F3).

Aceștia se formează pe toată durata procesului fermentativ, rezultate similare fiind descrise de Lukić și colab. (2017) și Molina și colab. (2007).

Acetatul de izoamil, unul dintre cei mai importanți esteri acetici ai alcoolilor superiori din vin (Aranda și colab., 2011), cunoscut pentru aroma sa de banane și fructe, a avut ponderea cea mai mare la varianta F5 iar cea mai mică la varianta F1. Levura folosită la variantele F3 și F5 a condus la obținerea unor ponderi mai mari comparativ cu variantele F2 și F4. De asemenea, influență asupra concentrației de acetat de izoamil o are și volumul fermentației corelat cu temperatura la care s-a desfășurat fermentația alcoolică (Jackson, 2020). La analiza senzorială, aroma de fructe coapte a fost resimțită cel mai puternic la variantele F5 și F3, acest lucru fiind în concordanță cu ponderile obținute în urma determinării prin GC.

Esterul octanoat de etil a înregistrat de asemeni ponderi diferite în funcție de levura folosită. Astfel varianta F5 (cu cea mai mare pondere) a înregistrat valori mai mari decât varianta F4, precum și F3 față de F2. Diferențele dintre variantele fermentate la cisterne și cele fermentate la vase de sticlă de 50 L pot fi puse pe seama temperaturii, studii anterioare demonstrând influența temperaturii asupra producției de esteri (Jackson, 2020).

Cei doi esteri se formează preponderent în prima jumătate a fermentației alcoolice fenomen descris și de Lukić și colab. (2017).

6.4. Analiza senzorială a vinurilor experimentale obținute din soiurile Fetească regală și Aligoté luate în studiu

Caracteristicile senzoriale ale băuturilor prezintă un rol major în poziționarea produselor pe piață în relație cu cele ale diferiților competitori în elaborarea strategiilor de preț și publicitate, în consolidarea relațiilor cu clienții și asigurarea unor produse de calitate constantă.

Unele proprietăți senzoriale rămân dificil de măsurat prin abordări analitice, ele trebuind evaluate prin analize senzoriale (Marullo și Dubourdieu, 2010).

6.4.1. Analiza senzorială a probelor de Aligoté

Aceste vinuri s-au evidențiat printr-un grad ridicat al parametrului mineralitate (Figurile 6.1÷6.5), constituind o caracteristică specifică acestui soi.

Varianta martor se remarcă prin onctuozitate, textură, persistență, cât și o senzație pronunțată de dulce. Gustul fenolic a fost apreciat ca fiind predominant la varianta martor, o caracteristică de nedorit la vinurile albe.

Variantele A3 și A5 au fost apreciate cu cele mai mici note în ceea ce privește aroma vegetală și de miere.

Varianta A4 se remarcă prin mineralitate pronunțată, note intense de fructe verzi, fân cosit, dar și gust condimentat, vegetal și o aciditate ridicată.

Varianta A2 s-a evidențiat prin cele mai intense note de miere, flori de câmp și fructe uscate.

6.4.2. Analiza senzorială a probelor de Fetească regală

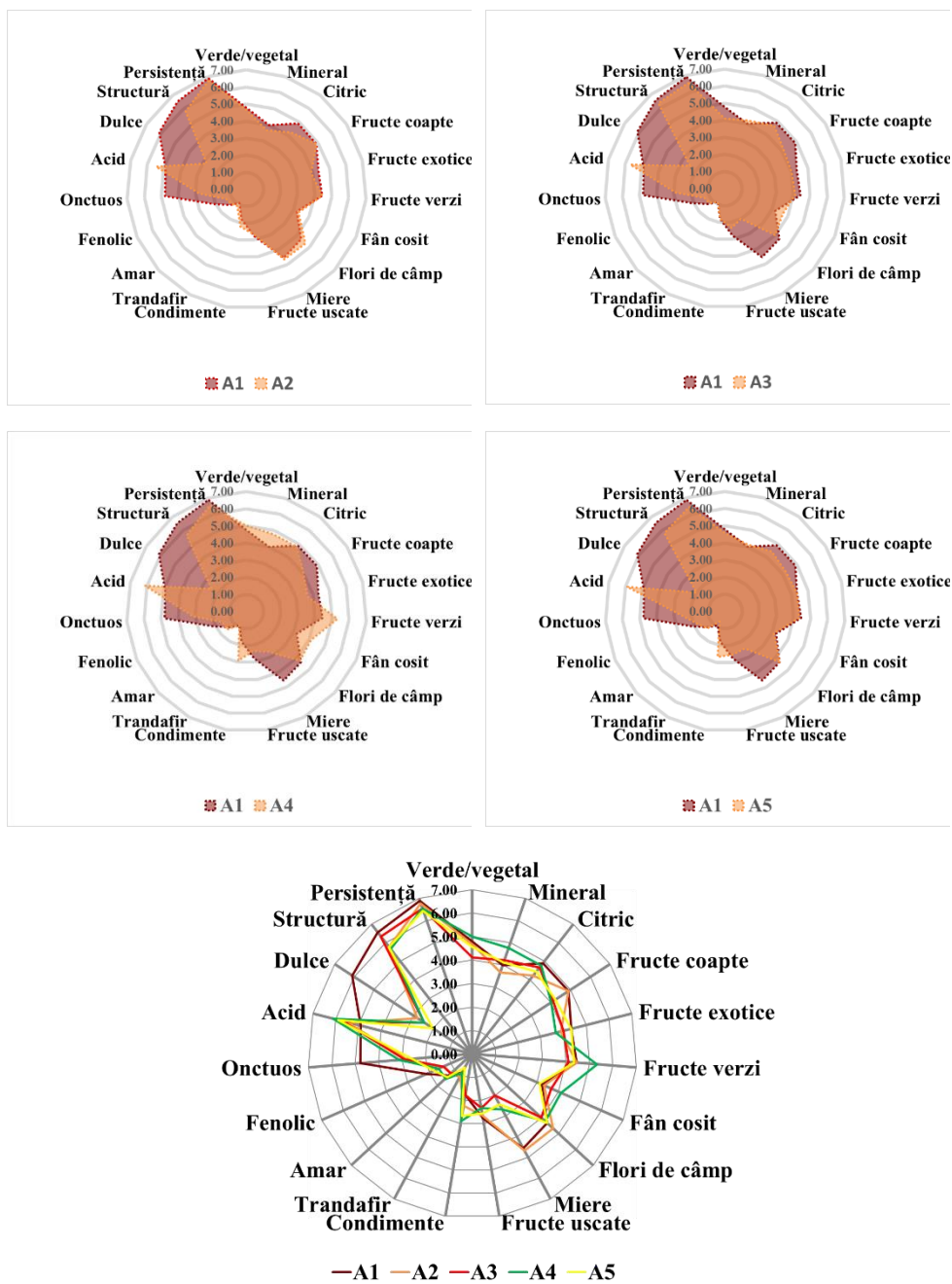
Rezultatele apecierii senzoriale a vinurilor Fetească regală realizate sunt reprezentate grafic în Figurile 6.6÷6.10.

Varianta martor, la care fermentația s-a desfășurat sub acțiunea levurilor din flora spontană, s-a caracterizat prin cea mai puternică senzație de dulce, aceasta fiind în corelație cu nivelul zaharurilor nereducătoare din vin.

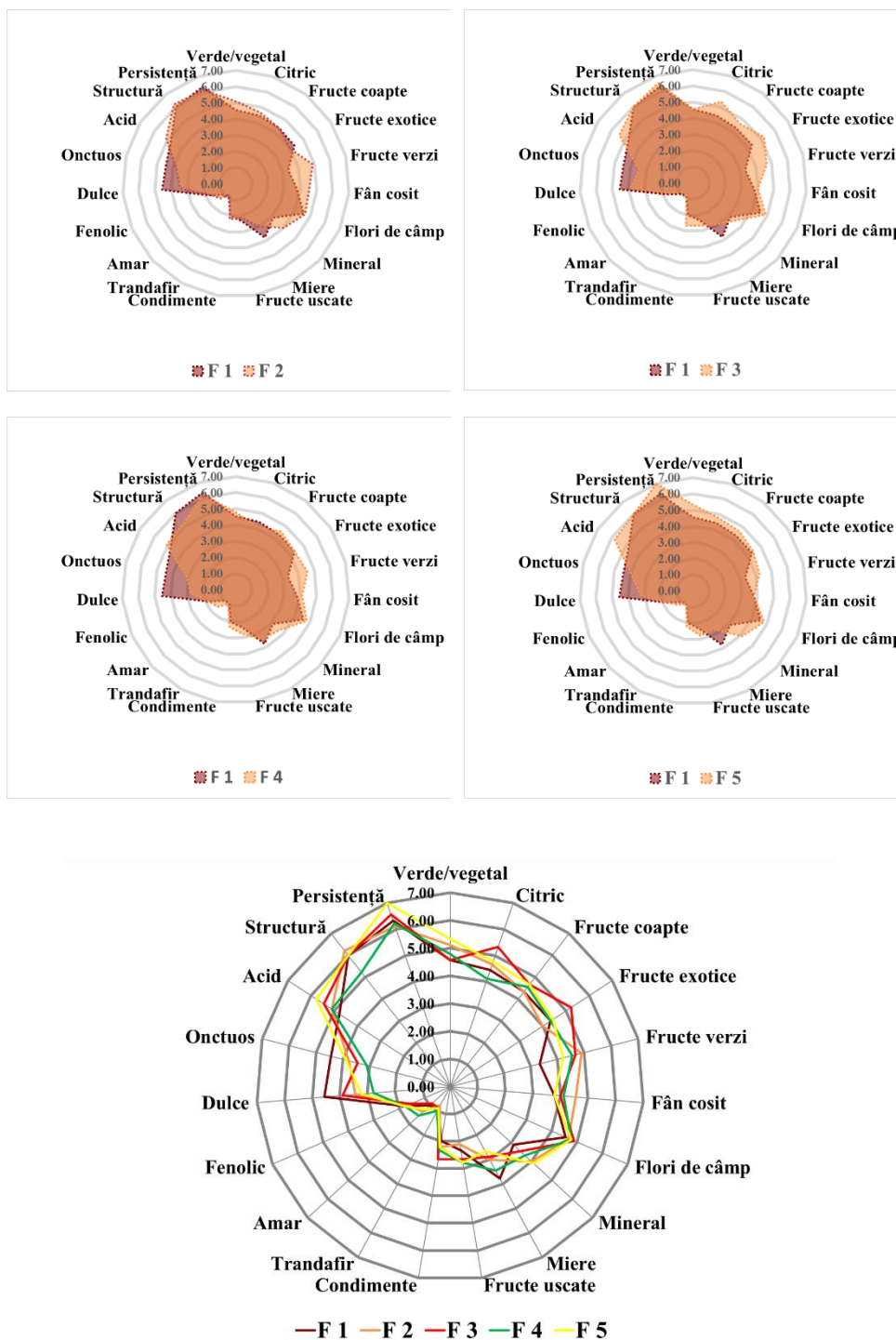
Nota de miere, caracteristică acestui soi, a fost apreciată în special în cazul probei F1, pe când aroma de citrice a fost remarcată ca având cea mai mare intensitate la varianta F5. Aceasta din urmă a prezentat o bună persistență, un grad ridicat al mineralității, dar și aromă intensă de fructe coapte.

Varianta F3 s-a caracterizat prin note ridicate în ceea ce privește aroma de citrice, fructe exotice, flori de câmp și condimente.

Proba F2 a arătat o bună textură, cu note intense de fructe verzi și fân cosit.



Figurile 6.1÷6.5 Grafice degustare comparativă Aligoté
 Figures 6.1÷6.5 Comparative tasting charts Aligoté



Figurile 6.6÷6.10 Grafice degustare comparativă Fetească regală
 Figures 6.6÷6.10 Comparative tasting charts Fetească regală

CAPITOLUL VII – CONCLUZII

Supervizarea tehnologică (controlul temperaturii, utilizarea diferitelor tipuri de produse oenologice etc.) s-a dovedit a avea o influență asupra parametrilor fizico-chimici.

Rezultatele obținute, în ceea ce privește conținutul în acizi organici, au relevat faptul că levurile folosite prezintă o specificitate genetică, coroborată cu diferențele imprimate de activitatea enzimelor implicate în glicoliză și reacții REDOX din ciclul Krebs.

Acizii octanoic, decanoic și hexanoic sunt principalii acizi cu caracter volatil ce se regăsesc atât în vinurile de Fetească regală cât și în probele de Aligoté.

Din punctul de vedere al conținutului în alcooli, principalii alcooli determinați din toate probele sunt alcoolii 2-feniletanol și alcoolul izoamilic.

Controlul temperaturii, efectuat la variantele fermentate în cisterne de oțel-inox, a generat vinuri cu un conținut mai ridicat în alcooli cu caracter volatil, fenomen datorat pierderilor mai mici înregistrate în procesul fermentativ.

Studiul de față a demonstrat faptul că levurile selecționate utilizate nu au aceeași capacitate de sinteză a alcoolilor superiori ca cele din microflora spontană, folosite la realizarea probelor martor.

Esterul acidului octanoic este principalul ester pe care-l găsim în probele de Aligoté, urmat de esterul acidului decanoic. La probele de Fetească regală, esterul acidului decanoic are ponderea cea mai mare.

Numărul cel mai mare al compușilor volatili este identificat în timpul fermentației alcoolice la toate variantele analizate (84 la vinurile obținute din soiul Aligoté și 80 la vinurile obținute din soiul Fetească regală), spre deosebire de compușii decelați la sfârșitul procesului fermentativ (51 de compuși volatili) din ambele soiuri analizate.

Gama largă de compuși aromatici identificați la vinurile obținute se datorează combinațiilor dintre aromele primare și cele secundare, respectiv influenței sinergice dintre levuri, momentul recoltării probelor pentru analiză dar și a tehnologiei folosite în procesul fermentativ.

Structura compușilor volatili, determinați prin gaz-cromatografie, a prezentat variații datorate soiului, variantei tehnologice realizate, momentului prelevării probei și prezintă caracteristici speciale în funcție de clasa din care fac parte. Aceiași factori sus enunțați, influențează acești compuși volatili până la nivel de clasă.

Utilizarea diferitelor sușe de levuri în corelație cu folosirea anumitor scheme tehnologice s-a dovedit a avea o influență semnificativă în ceea ce privește conținutul în acizii organici cuantumizați cât și asupra structurii compușilor cu caracter volatil.

Datele obținute, evidențiază faptul că, levurile folosite nu generează un răspuns în ceea ce privește conținutul în acizi organici și compuși volatili, ce poate fi încadrat într-un comportament de tip fenotip încorporat.

La toate variantele experimentale obținute, acizii organici determinați prin lichid cromatografie (acizii tartric, malic, lactic, acetic, citric și succinic), au prezentat diferențe statistice semnificative pentru o probabilitate de transgresiune de 95%, în urma testării statistice a influenței tuturor factorilor analizați (ziua de fermentație, levura folosită și influența sinergică a celor doi factori).

Analiza senzorială a probelor de Aligoté a dezvăluit predominanța nuanțelor minerale și vegetale, a fructelor verzi cât și note de fân cosit, în special la varianta A4, vinul fiind mai apropiat de așteptările consumatorului privind caracteristicile senzoriale prezentate de vinurile obținute din acest soi.

Varianta A1 prezintă o structură și o persistență peste celelalte probe analizate, singura notă relativ negativă din punct de vedere senzorial fiind reprezentată de un caracter ușor fenolic.

Note predominante de citrice, fructe exotice, flori de câmp și condimente se regăsesc la varianta F3, în ansamblu, diferențele identificate din punct de vedere senzorial sunt rezultatul sinergiei dintre metabolismul levurian și tehnologia folosită în procesul fermentativ.

Varianta F5 este cea mai echilibrată senzorial, comparativ cu toate celelalte variante realizate din soiul Fetească regală, fiind proba evaluată cu cel mai înalt nivel de persistență.

Utilizarea diferitelor biotehnologii la obținerea vinurilor din soiurile Aligoté și Fetească regală, recoltate din Centrul Viticol Bucium, Podgoria Iași, și-a pus puternic amprenta asupra conținutului în compuși volatili și acizi organici atât pe durata procesului fermentativ, cât și, în final, asupra vinurilor obținute.

CHAPTER VII – CONCLUSIONS

Technological supervision (temperature control, use of different types of oenological products, etc.) has been shown to have an influence on physico-chemical parameters.

The results obtained, in terms of organic acid content, revealed that the yeasts used show a genetic specificity, corroborated by differences in the activity of enzymes involved in glycolysis and REDOX reactions in the Krebs cycle.

Octanoic, decanoic and hexanoic acids are the main volatile acids found in both Fetească regală and Aligoté wines.

In terms of alcohol content, the main alcohols determined in all samples are 2-phenylethanol and isoamyl alcohol.

The temperature control, carried out on the variants fermented in stainless steel tanks, produced wines with a higher content of volatile alcohols, a phenomenon due to lower losses during the fermentation process.

The present study demonstrated that the selected yeasts used do not have the same capacity to synthesize higher alcohols as the spontaneous microflora used in the control samples.

The ester of octanoic acid is the main ester found in the Aligoté samples, followed by the decanoic acid ester. In the samples of Fetească regală, decanoic acid ester is found in the highest proportion.

The highest number of volatile compounds is identified during alcoholic fermentation in all the variants analysed (84 in the wines obtained from the Aligoté variety and 80 in the wines obtained from the Fetească regală variety), unlike the compounds detected at the end of the fermentation process (51 volatile compounds) in both varieties analysed.

The wide range of aromatic compounds identified in the wines obtained is due to the combination of primary and secondary aromas, the synergistic influence of yeasts, the time of sampling for analysis and the technology used in the fermentation process.

The structure of the volatile compounds, determined by gas chromatography, showed variations due to the variety, the technological variant used, the time of sampling and showed particular characteristics depending on the class to which they belong. The same factors mentioned above influence these volatile compounds down to class level.

The use of different yeast strains in conjunction with the use of certain technological schemes has been shown to have a significant influence on the content of quantified organic acids and on the structure of volatile compounds.

The data obtained show that the yeasts used do not generate a response in terms of content of organic acids and volatile compounds, which can be classified as an incorporated phenotypic behaviour.

In all the experimental variants obtained, the organic acids determined with liquid chromatography (tartaric, malic, lactic, acetic, citric and succinic acids) showed statistically significant differences for a 95% probability of transgression, following statistical testing of the influence of all the factors analysed (day of fermentation, yeast used and synergistic influence of the two factors).

Sensory analysis of the Aligoté samples revealed a predominance of mineral and vegetal nuances, green fruits and notes of hay, especially in the A4 variety, the wine being closer to the typicality of the variety.

Variant A1 shows more structure and persistence above the other samples analysed, the only relatively negative note from a sensory point of view is a more obvious phenolic profile.

Predominant nuances of citrus, exotic fruits, wild flowers and spices are found in the F3 variety, overall, the differences identified from a sensory point of view are the result of the synergy between the yeast metabolism and the technology used in the fermentation process.

Variant F5 is the more balanced sensory compared to all the other variants made from the Fetească regală variety, being the sample with sensory persistence scored with high bonus points.

The use of different biotechnologies in the production of Aligoté and Fetească regală wines, harvested from the Bucium Viticultural Centre, Podgoria Iași, have strongly influenced the composition of the must throughout the alcoholic fermentation and, finally, the wines obtained.

BIBLIOGRAFIE

BIBLIOGRAPHY

1. AEB France, 2021 – *Winemaking Handbook*.
2. Alexandrescu I. C., Oşlobeanu M., Jianu L., Piţuc P., 1994 – *Mică enciclopedie de viticultură*, Editura „Glasul Bucovinei”.
3. Amerine Maynard A., Roessler Edward B., 1983 - Wines, their sensory evaluation, 2nd edition, Editura Freeman, San Francisco, California.
4. Amerine Maynard A., Kunkee Ralph E., 1968 – Microbiology Of Winemaking, Annu. Rev. Microbiol.
5. Aranda Agustín, Matallana Emilia, del Olmo Marcellí, 2011 – *Saccharomyces Yeasts I: Primary Fermentation*, Cap. 1 din *Molecular Wine Microbiology*, Editura Elsevier Inc.
6. Avenozza Alberto, Busto Jesus H., Canal Noelia, Peregrina Jesus M., 2006 – Time Course of the Evolution of Malic and Lactic Acids in the Alcoholic and Malolactic Fermentation of Grape Must by Quantitative ^1H NMR (qHNMR) Spectroscopy, J. Agric. Food Chem., 54, p. 4715–4720
7. Bakker Joke, Clarke Ronald J., 2012 – *Wine Flavour Chemistry*, Editura Wiley Blackwell.
8. Bell Sally-Jean, Henschke Paul A., 2005 – *Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine*. Australian Journal of Grape and Wine Research, p. 242-295.
9. Benítez Tahía, Rincón Ana M., Codón Antonio C., 2019 – Yeasts Associated With Biological Ageing of Fortified Wines, Cap. 14. din *Yeasts in the Production of Wine*, Editura Springer.
10. Berrino F., Grant M., Gričute L., Holmberg B., McMichael A.J., Møller-Jensen O., Nykänen L., Obe G., Reddy J.K., Room R., Salaspuuro M., Sancho-Garnie H., Schwetz B.A., Sullivan F. M., Thurman R.G., Trichopoulos D., Waters M.D., Willett W., Woutersen R.A., 1988 – *IARC Monographs on the Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans, Alcohol Drinking*. Vol. 44, International Agency For Research On Cancer.
11. Bertrand A., 1981 – *Formation de substances volatiles au cours de la fermentation alcoolique. Incidence sur la qualité du vin*, Proc. Colloque Société Française Microbiologie, Reims.
12. Bisson Linda F., 2019 – *Gene Expression in Yeasts During Wine Fermentation*, Cap 5 din *Yeasts in the Production of Wine*, Editura Springer.

13. Bonino M., Schellino R., Rizzi C., Aigotti R., Delfini C., Baiocchi C., 2003 – *Aroma compounds of an Italian wine (Ruché) by HS-SPME analysis coupled with GC-ITMS*, Food Chemistry 80, p. 125–133.
14. Bora Florin Dumitru și Bunea Claudiu, 2019 – *Bioacumularea metalelor în vița-de-vie*, Editura Bioflux.
15. Borneman Anthony R., Forgan Angus H., Chambers Paul J., Pretorius Isak S., 2008 – *Unravelling the genetic blueprint of wine yeast*, Wine Industry Journal, vol. 23, nr 5, p. 23-25.
16. Borren Elliot, Tian Bin, 2020 – *The Important Contribution of Non-Saccharomyces Yeasts to the Aroma Complexity of Wine: A Review*, Foods, vol. 10, p. 13.
17. Buettner Andrea, 2004 – „Investigation of potent odorants and afterodor development in two Chardonnay wines using the buccal odor screening system (BOSS)”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 52, p. 2339- 2346.
18. Burdock George A., 2010 – *Flavor Ingredients sixth edition*, Editura CRC Press.
19. Canonico Laura, Solomon Mark, Comitini Francesca, Ciani Maurizio, Varela Cristian, 2019 – *Volatile profile of reduced alcohol wines fermented with selected non-Saccharomyces yeasts under different aeration conditions*. Food Microbiology, nr. 84.
20. Capece Angela, Romano Patrizia, 2019 – *Yeasts and Their Metabolic Impact on Wine Flavour din Yeasts in the Production of Wine*, Editura Springer.
21. Carballeira L., Cortes S., Gil M.L., Fernandez E., 2001 – *Determination of aromatic compounds, during ripening in two white grape varieties by SPE-GC*, Chromatographia, vol. 53, p. 350–355.
22. Carrascosa Alfonso V., Muñoz Rosario, González Ramón, 2011 – *Molecular Wine Microbiology*. Editura Elsevier Inc.
23. Carrau Francisco M., Medina Karina, Boido Eduardo, Farina Laura, Gaggero Carina, Dellacassa Eduardo, Versini Giuseppe, Henschke Paul A., 2005 – *De novo synthesis of monoterpenes by Saccharomyces cerevisiae wine yeasts*, FEMS Microbiology Letters, nr 243, p. 107-115.
24. Carrau Francisco, Boido Eduardo, Dellacassa Eduardo, 2017 – *Yeast Diversity and Flavor Compounds din Fungal Metabolites*, Editura Springer International Publishing Switzerland.
25. Considine, J. and Frankish, E., 2014 – *A Complete Guide to Quality in Small Scale Wine Making*, Editura Academic Press – Elsevier, Oxford
26. Charles M., Bernal B., Guichard E., 1996 – *Interactions Of B-Lactoglobulinwith Flavour Compounds* din Flavour Science - Recent Developments. Editura The Royal Society of Chemistry.
27. Charles Marielle, Martin Bertrand, Ginies Christian, Etievant Patrick, Coste Gilbert, and Guichard Elisabeth, 2000 – *Potent Aroma Compounds of Two Red Wine Vinegars*, J. Agric. Food Chem., p. 70-77.

28. Charpentier C., 2010 – *Ageing on lees (sur lies) and the use of speciality inactive yeasts during wine fermentation*, Cap 6 din *Managing wine quality*, Vol. 2: *Oenology and wine quality*, Editura Woodhead Publishing Limited.
29. Chidi B.S., Bauer F.F., Rossouw D., 2018 – *Organic Acid Metabolism and the Impact of Fermentation Practices on Wine Acidity: A Review*, vol. 39, nr. 2.
30. Chidi B.S., Bauer F.F., Rossouw D., 2018 – *The Impact of Changes in Environmental Conditions on Organic Acid Production by Commercial Wine Yeast Strains*, *South African Journal for Enology and Viticulture*, vol. 39, nr. 2.
31. Chidi B.S., Rossouw D., Buica A.S., Bauer F.F., 2015 – *Determining the Impact of Industrial Wine Yeast Strains on Organic Acid Production Under White and Red Wine-like Fermentation Conditions*, *South African Journal for Enology and Viticulture*, vol. 36, nr. 3.
32. Ciani și Comitini, 2019 – *Yeast Ecology of Wine Production*, din *Yeasts in the Production of Wine*, Editura Springer Science+Business Media, LLC.
33. Clarke R.J., Bakker J., 2004 - *Wine flavour chemistry*, Editura Blackwell Publishing Ltd, United Kingdom.
34. Claus Harald, 2017 – *Cap 13 Microbial Enzymes: Relevance for Winemaking*, din *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, Second Edition. Editura Springer International Publishing.
35. Codreanu Maria, 2014 – *Studiul influenței unor tratamente prefermentative la producerea vinurilor albe în podgoria Iași*, teză de doctorat, USAMV, Iași.
36. Cole V.C., Noble A.C., 1995 – *Flavor chemistry and assessment*. In *Fermented Beverage Production*, Lea, A.G.H. and Piggott, I.R. (eds.), Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK, 361-381.
37. Colibaba Lucia-Cintia, 2010 – *Studii privind optimizarea tehnologiei de obținere a vinurilor aromate în podgoriile Cotnari și Iași*, teză de doctorat, USAMV, Iași.
38. Cometto-Muñiz J. Enrique, Abraham Michael H., 2010 – *Structure–activity relationships on the odor detectability of homologous carboxylic acids by humans*. *Exp Brain Res* 207, p. 75–84.
39. Băducă Cîmpeanu Constantin., 2008, *Degustarea vinului. Bazele științifice ale degustării*, Editura Sitech, Craiova.
40. Constantinescu Gherasim, Negreanu Elena, Lăzărescu Victor, Poenaru Ilie, Alexei Olga, Boureanu Camelia, 1959 – *Ampelografia Republicii Populare Române*, vol. II. Editura Academiei Republicii Populare Române.
41. Cordente Antonio G., Curtin Christopher D., Varela Cristian, Pretorius Isak S., 2012 – *Flavour-active wine yeasts*. *Appl Microbiol Biotechnol*, nr. 96, p. 601–618.
42. Costa Gustavo P., Nicolli Karine P., Welke Juliane E., Manfroi Vitor, Zini Claudia A., 2018 – *Volatile Profile of SparklingWines Produced with the Addition of Mannoproteins or Lees before Second Fermentation Performed with Free and*

- Immobilized Yeasts*. Journal of the Brazilian Chemical Society, vol. 29, nr. 9, p. 1866-1875.
43. Cotea V.D., Barbu N., Grigorescu C., Cotea V.V., 2000 – *Podgoriile și vinurile României*. Editura Academiei, București.
 44. Cotea V.D., Barbu N., Grigorescu C.C., 2003 - *Podgoriile și vinurile României*. Ediția a II-a (revizuită). Editura Academiei Române, București.
 45. Cotea D.V., Zănoagă C.V., Cotea V.V., 2009 – *Tratat de oenochimie*, vol. I. Editura Academiei Române, București.
 46. Cotea D.V., Zănoagă C.V., Cotea V.V., 2009 – *Tratat de oenochimie*, vol. II. Editura Academiei Române, București.
 47. Croitoru Constantin, 2009 – *Tratat de știință și inginerie oenologică. Produse de elaborare și maturare a vinurilor*. Editura AGIR.
 48. Dall'Asta C., Cirlini M., Morini E., Galaverna G., 2011 – *Brand-dependent volatile fingerprinting of Italian wines from Valpolicella*, Journal of Chromatography, 1218.
 49. De Klerk Jean-Louis, 2010 – *Succinic acid production by wine yeasts*. Thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Agricultural Sciences, Stellenbosch University.
 50. Dijksterhuis, C., 1995 – *Multivariate Data Analysis in Sensory and Consumer Science: An Overview of Developments*, in Trends Food Sci. Techn. 6, p. 206-211.
 51. Dobrei Alin, Rotaru Liliana, Dobrei Alina, 2017 – *Viticultură, Ampelografie, Oenologie*. Editura Solness, Timișoara.
 52. Drtilová Tereza, Ďurčanská Katarína, Machyňáková Andrea, Špánik Ivan, Klempová Tatiana, Furdíková Katarína, 2020 – *Impact of different pure cultures of Saccharomyces cerevisiae on the volatile profile of Cabernet Sauvignon rosé wines*, Czech Journal of Food Sciences.
 53. Fan Wenlai, Xu Yan, Jiang Wenguang, Li Jiming, 2010 – *Identification and Quantification of Impact Aroma Compounds in 4 Nonfloral Vitis vinifera Varieties Grapes*, Journal Of Food Science, vol. 75, nr. 1, p. 81–88.
 54. Fang Yu, Qian Michael C., 2012 – *Accumulation of C13-Norisoprenoids and Other Aroma Volatiles in Glycoconjugate Form During the Development of Pinot Noir Grapes, din Flavor Chemistry of Wine and Other Alcoholic Beverages*. Editura American Chemical Society.
 55. Ferreira Vicente, Cacho Juan, 2009 – *Identification of Impact Odorants of Wines din Wine Chemistry and Biochemistry*. Editura Springer Science Business Media, LLC.
 56. Firestein, S., 2001 – *How the olfactory system makes sense of scents*, Nature 413, p. 211–218

57. Flamini R., De Luca G., Di Stefano R., 2002 – *Changes in carbonyl compounds in Chardonnay and Cabernet Sauvignon wines as a consequence of malolactic fermentation*. Vitis nr.41 (2), p. 107-112.
58. Flamini Riccardo, Traldi Pietro, 2010 – *Mass Spectrometry In Grape And Wine Chemistry*. Editura John Wiley & Sons, Inc.
59. Furtuna Natalia și Musteață G., 2010 – *Potențialul aromatic al strugurilor și metode de determinare a lui*, http://repository.utm.md/bitstream/handle/5014/3855/Conf_UTM_2010_II_pg2-5.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
60. Furtuna Natalia, 2015 – *Valorificarea Potențialului Aromatic Al Soiurilor De Struguri Startovii, Viorica Și Muscat De Ialoveni*, teză de doctorat, Universitatea Tehnică a Moldovei.
61. Genovese Alessandro, Lamorte Simona A., Gambuti Angelita, Moio Luigi, 2013 – *Aroma of Aglianico and Uva di Troia grapes by aromatic series*. Food Research International, nr. 53, p. 15–23.
62. Gil J.V., Mateo J.J., Jiménez M., Pastor A., Huerta T., 1996 – *Aroma Compounds in Wine as Influenced by Apiculate Yeasts*, vol. 61, Nr.6, Journal Of Food Science, p. 1247.
63. Goldner M. C., Zamora M., Di Leo Lira P., Gianninoto H., Bandoni A., 2009 – *Effect of ethanol level in the perception of aroma attributes and the detection of volatile compounds in red wine*. Journal of Sensory Studies, 24, p. 243–257.
64. González-Barreiro Carmen, Rial-Otero Raquel, Cancho-Grande Beatriz, Simal-Gándara Jesús, 2013 – *Wine Aroma Compounds in Grapes: A Critical Review*.
65. Grab Willi, Gassenmeier Klaus, Schenk Hanspeter, 1996 – *Unusual Flavour Instability In Functional Drinks*, din Flavour Science – Recent Developments, The Royal Society of Chemistry.
66. Grainger Keith, Tattersall Hazel, 2016 – *Wine Production And Quality, Second Edition*. Editura JohnWiley & Sons.
67. Gunata Yusuf Z., Bayonove Claude L., Baumes Raymond L., Cordonnier Robert E., 1985 – *The Aroma of Grapes. Localisation and Evolution of Free and Bound Fractions of Some Grape Aroma Components C.V. Muscat During first Development and Maturation*. Journal of the Science of Food and Agriculture, Nr.36, p. 857-862.
68. Goetghebeur, M., Nicolas, M., Blaise, A., Galzy, P., and Brun, S., 1992 – *Étude sur le rôle et l'origine de la benzyl alcool oxydase responsable du goût d'amande amère des vins*. Bull. O.I.V. Nr. 65, 345–360.
69. Guzzo Jean, Desroche Nicolas, Weidmann Stéphanie, 2017 – *Cap. 17, Physical and Chemical Stress Factors in Lactic Acid Bacteria* din Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine, Second Edition, Editura Springer International Publishing.

70. Heinisch Jürgen J., Rodicio Rosaura, 2017 – *Stress Responses in Wine Yeast din Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Second Edition. Editura Springer International Publishing AG.
71. Huige Nick J., 1993 – *Progress in Beer Oxidation Control*, Cap. 5 din *Beer and Wine Production, Analysis, Characterization, and Technological Advances*. Editura American Chemical Society.
72. Helmut König, Gottfried Uden, Jürgen Fröhlich, 2017 – *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine, Second Edition*, Editura Springer International Publishing.
73. Ibeas Vitoria, Correia Ana C., Jordão António M., 2015 – *Wine tartrate stabilization by different levels of cation exchange resin treatments: impact on chemical composition, phenolic profile and organoleptic properties of red wines*. Food Research International.
74. Thorngate J. H., 1997 – *Yeast Strain and Wine Flavor: Nature or Nurture?*. Cap. 6 din *Chemistry of Wine Flavor*, ACS SYMPOSIUM SERIES 714, Editura American Chemical Society.
75. Jackson Ronald S., 2009 – *Wine Tasting, A Professional Handbook*, Second edition, Editura Elsevier Inc.
76. Jackson Ronald S., 2020 – *Wine Science – Principles and Applications, Fifth Edition*, Editura Academic Press.
77. Keyzers Robert A., Boss Paul K., 2010 – *Changes in the Volatile Compound Production of Fermentations Made from Musts with Increasing Grape Content*, Journal Agricultural and Food Chemistry, vol. 58, p. 1153-1164.
78. Kilcast D., Clegg S., 2002 - *Sensory perception of creaminess and its relationship with food structure*, Food Quality and Preference, vol. 13, p. 609- 623.
79. King Andrew, Dickinson J. Richard, 2000 – *Biotransformation of monoterpene alcohols by Saccharomyces cerevisiae, Torulaspora delbrueckii and Kluyveromyces lactis*. Yeast, nr 16, p. 499-506.
80. Kłosowski Grzegorz, Mikulski Dawid, Rolbiecka Aleksandra, Czupryński Bogusław, 2017 – *Changes in the Concentration of Carbonyl Compounds during the Alcoholic Fermentation Process Carried out with Saccharomyces cerevisiae* Yeast, Pol. J. Microbiol., vol. 66(3):327–334.
81. Kontek A., 1975 – *Factori ai vinificației primare care influențează aciditatea volatilă a vinului*, An. I.C.V.V., vol. VI, p. 372-380.
82. Korenika Ana-Marija Jagatić, Preiner Darko, Tomaz Ivana, Jeromel Ana, 2020 – *Volatile Profile Characterization of Croatian Commercial Sparkling Wines*.
83. Krammer G. E., Güntert M., Lambrecht S., Sommer H., Werkhoff P., Kaulen J., Rapp A., 1998, *Volatile Compounds Affecting the Aroma of Vitis vinifera L. cv. Scheureb*, Cap 5 din *Chemistry of Wine Flavor*, ACS SYMPOSIUM SERIES 714, American Chemical Society.

84. Krieger-Weber Sibylle, 2017 – *Application of Yeast and Bacteria as Starter Cultures in Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Second Edition. Editura Springer International Publishing AG.
85. Kurtzman C.P., Fell J.W., 1998 – *The Yeasts, A Taxonomic Study Fourth edition*, Editura Elsevier Science B.V.
86. Kuznicki J. T., Turner Lana S., 1986- *Reaction time in the perceptual processing of taste quality*, Chemical Senses, vol. 11, p. 183–201.
87. Lambrechts M.G., Pretorius I.S., 2000 – *Yeast and its Importance to Wine Aroma – A Review*, S. Afr. J. Enol. Vitic., vol. 21, p. 97–129.
88. Lambropoulos Ioannis, Roussis Ioannis G., 2007 – *Inhibition of the Decrease of Volatile Esters and Terpenes During Storage of Wines and a Model Wine Medium by Wine Phenolic Extracts*. Food Technol. Biotechnol. nr. 45 (2), p. 147–155.
89. Lewin Bjanenjamin MW, 2010 – *Wine Myths and Reality*. Editura Vendange Press.
90. Licker J. L., Acree T. E., Henick-Kling T., 1998 – *What Is "Brett" (Brettanomyces) Flavor?: A Preliminary Investigation*. Cap. 8 din Chemistry of Wine Flavor, Acs Symposium Series 714.
91. Linsenmeier A. W., Rauhut D., Sponholz W. R., 2010 – *Ageing and flavour deterioration in wine in Managing wine quality*. Vol. 2: Oenology and wine quality. Editura Woodhead Publishing Limited.
92. Linskens H. F., Jackson. F., 1988–*Wine Analysis*, Editura Springer.
93. Liu Di, Xing Ran Ran, Li Zheng, Yang Dai Mo, Pan Qiu Hong, 2016 – *Evolution of volatile compounds, aroma attributes, and sensory perception in bottle aged red wines and their correlation*. European Food Research and Technology.
94. Lukić Igor, Lotti Cesare, Vrhovsek Urska, 2017 – *Evolution of free and bound volatile aroma compounds and phenols during fermentation of Muscat Blanc grape juice with and without skins*, Food Chemistry.
95. Maksimović V., Maksimović Dragišić J., 2017 – *Composition, Nutritional, And Therapeutic Values Of Fruit And Berry Wines*. Cap. 4 din Science and Technology of Fruit Wine Production. Editura Academic Press.
96. Manzanares Paloma, Valle's Salvador, Viana Fernando, 2011, – *Non-Saccharomyces Yeasts in the Winemaking Process*. Cap. 4 din Molecular Wine Microbiology. Editura Elsevier Inc.
97. Marullo P., Dubourdieu D., 2010 – *Yeast selection for wine flavour modulation, in Managing wine quality*. Vol. 2: Oenology and wine quality. Editura Woodhead Publishing.
98. Matasar Ann B., 2006 – *Women of Wine The Rise of Women in the Global Wine Industry*. Editura University Of California Press.
99. Mateo J., Jimenez M., 2000 – *Monoterpenes in grape juice and wines*. Journal of Chromatography, nr 881, p. 557–567.

100. Mendes-Ferreira Ana, lí del Olmo Marcel, García-Martínez José, Pérez-Ortín José E., 2017 – *Functional Genomics in Wine Yeast: DNA Arrays and Next Generation Sequencing din Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Second Edition. Editura Springer International Publishing AG.
101. Mendes-Ferreira Ana, Mendes-Faia Arlete, 2020 – *The Role of Yeasts and Lactic Acid Bacteria on the Metabolism of Organic Acids during Winemaking*, Foods 2020, 9, 1231.
102. Millan M. C., Moreno J., Medina M., Ortega J. M., 1991 – *Influence of the physiological state of the inoculum on fermentation of musts from Pedro Ximénez grapes by Saccharomyces cerevisiae*. Microbios, 65, p. 87–95.
103. Molina Ana M., Swiegers Jan H., Varela Cristian, Pretorius Isak S., Agosin Eduardo, 2007 – *Influence of wine fermentation temperature on the synthesis of yeast-derived volatile aroma compounds*. Appl Microbiol Biotechnol.
104. Morakul Sumallika, Athes Violaine, Mouret Jean-Roch, Sablayrolles Jean-Marie, 2010 – *Comprehensive Study of the Evolution of Gas-Liquid Partitioning of Aroma Compounds during Wine Alcoholic Fermentation*. J. Agric. Food Chem, nr. 58, p. 10219–10225.
105. Moreno-Arribas, M.V., Polo, M.C., Carmen, M., 2009. *Wine Chemistry and Biochemistry*. Editura Springer, NewYork.
106. Moroşanu Ana Maria, 2019 – *Studiul compuşilor fenolici din vinurile Fetească albă şi Fetească regală în urma aplicării unor tratamente de condiţionare*, teză de doctorat, USAMV, Iaşi.
107. Mosciano G., 1996 – *Organoleptic characteristic of flavor materials*, Perfumer and Flavorist, vol. 21, nr.1, p. 33–35; nr.2, p. 47–49; nr.3, p. 51–54.
108. Musteaţă Grigore, Furtuna Natalia, 2012 – *Aromele vinului*, Editura Universitatea Tehnică a Moldovei.
109. Nechita Constantin – Bogdan, 2010 – *Contribuţii la studiul compuşilor volatili din strugurii şi vinurile obţinute în podgoria Cotnari*, teză de doctorat, USAMV, Iaşi.
110. Negoias Simona, Visschers R., Boelrijk Alexandra, Hummel T., 2008 – *New ways to understand aroma perception*, Food Chemistry, vol. 108, p. 1247–1254.
111. Nicolli Karine P., Welke Juliane E., Closs Mayara, Caramão Elina B., Costa Gustavo, Manfroi Vitor, Zini Claudia A., 2015 – *Characterization of the Volatile Profile of Brazilian Moscatel Sparkling Wines Through Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography*. Journal of the Brazilian Chemical Society, vol. 26, nr. 7.
112. Niculaua Marius, 2010 – *Studiul acizilor din vinurile obţinute din soiuri autohtone în podgoriile Moldovei*. Teză de Teză de doctorat. Universitatea de Ştiinţe Agricole şi Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” Iaşi.
113. Odăgeriu Gheorghe, 2006 – *Evaluarea solubilităţii compuşilor tartrici din vinuri*. Editura „Ion Ionescu de la Brad”, Iaşi.

114. Obreque-Sl  r, E., Pe  -Neira, A., Lopez-Solis R., 2010 – *Enhancement of both salivary protein-enological tannin interactions and astringency perception by ethanol*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58, 3729–3735.
115. Pardo Ester, Rico Juan, Vicente José Gil, Orejas Margarita, 2015 – *De novo production of six key grape aroma monoterpenes by a geraniol synthase-engineered S. cerevisiae wine strain*. Microb Cell Fact.
116. Peinado Rafael A., Mauricio Juan C., 2009 – *Biologically Aged Wines*, Cap 3B din Wine Chemistry and Biochemistry, Editura Springer.
117. Perullo Nicola, 2021 – *Epistemology Wine As Experience*. Columbia University Press.
118. Ponce Felipe, Yaneris Mirabal-Gallardo, Andrea Versari, V. Felipe Laurie, 2018 – *The use of cation exchange resins in wines: Effects on pH, tartrate stability, and metal content*. Ciencia Investigación Agraria, vol.45, nr.1, p. 82–92.
119. Pop (V  rva) Adriana, 2015 – *Identificarea   i cuantificarea unor „markeri” de arom   din vin*. Tez   de Doctorat.
120. Popa Aurel, Popa Daniela, Dragomir Felicia, 2004 – *Microbiologie oenologic  *. Editura Universitaria.
121. Rankine B. C., 1966 – *Decomposition Of L-Malic Acid By Wine Yeasts*. Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 17, p. 312–316.
122. Rankine B. C., 1967 – *Formation of higher alcohols by wine yeasts, and relationship to taste thresholds*. Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 18, nr. 12, p. 583–589.
123. Rapp A., 1988 – *Wine Aroma Substances from Gas Chromatographic Analysis*. Modern Methods of Plant Analysis Vol. 6: Wine Analysis. Editura Springer.
124. Reineccius G., 1998 – *Book of Flavors*, 2nd edition. Editura Springer Boca Raton, Florida, p. 268.
125. Renault Philippe, Coulon Joana, de Revel Gilles, Barbe Jean-Christophe, Bely Marina, 2015 – *Increase of fruity aroma during mixed T. delbrueckii / S. cerevisiae wine fermentation is linked to specific esters enhancement*. International Journal of Food Microbiology, 207, p. 40–48.
126. Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D., 2006 – *Handbook of Enology Vol. II – The Chemistry of Wine. Stabilization and Treatments*, 2nd Edition. Editura John Wiley & Sons, West Sussex, England.
127. Robinson Jancis, Harding Julia, Vouillamoz José, 2012 – *Wine Grapes*. Editura Allen Lane.
128. Robles Alicia, Fabjanowicz Magdalena, Chmiel Tomasz, P  otka-Wasy  ka Justyna, 2019 – *Determination and identification of organic acids in wine samples. Problems and challenges*. Trends in Analytical Chemistry, nr. 120.
129. Romano Patrizia, Ciani Maurizio, Fleet Graham H., 2019 – *Yeasts in the Production of wine*, Editura Springer.

130. Rotaru Liliana, 2009 – *Soiuri de viță de vie pentru struguri de vin*. Editura „Ion Ionescu de la Brad”, Iași.
131. Rupasinghe H.P. Vasantha, Joshi V.K., Smith A., Parmar I., 2017 – Chemistry Of Fruit Wines, cap 3, din cartea Science and Technology of Fruit Wine Production, Editura Academic Press.
132. Sablayrolles Jean-Marie, 2019 – *Kinetics and Control of Alcoholic Fermentation During Wine Production*, cap 9 din Yeasts in the Production of Wine, Editura Springer.
133. Saerens Sofie M. G., Delvaux Freddy R., Verstrepen Kevin J., Thevelein, 2010 – *Production and biological function of volatile esters in Saccharomyces cerevisiae*. Microbial biotechnology, p. 165–177.
134. Saerens Sofie M. G., Verstrepen Kevin J., Van Laere Stijn D. M., Voet Arnout R. D., Van Dijck Patrick, Delvaux Freddy R., Thevelein Johan M., 2006 – *The Saccharomyces cerevisiae EHT1 and EEB1 Genes Encode Novel Enzymes with Medium-chain Fatty Acid Ethyl Ester Synthesis and Hydrolysis Capacity*. The Journal Of Biological Chemistry vol. 281, Nr. 7, p. 4446–4456.
135. Scutărășu E.C., Cotea V.V., Luchian C.E., Colibaba L.C., Katalin N., Oprean R., Niculaua M., 2019 – *Influence of enzymatic treatments on white wine composition*, Bio Web of Conferences, 42nd World Congress of Vine and Wine.
136. Sipiczki Matthias, 2019 – *Yeasts in Botrytized Wine Making*, Cap 7 din Yeasts in the Production of Wine. Editura Springer.
137. Small D. M., Gerber J. C., Mack Y. E., Hummel T., 2005 – Differential neural responses evoked by orthonasal versus retronasal odorant perception in humans, Neuron vol. 47, p. 593–605.
138. St. Pierre Brian, Armstrong E. J., 2003 – *The Wine Deck: 50 Ways to Choose, Serve, and Enjoy Great Wines*, Editura Chronicle Books.
139. Steakly Joyce și Steakley Bruce, 2020 – *A Quest for Quality Wine, Every Time*. Editura Springer.
140. Stone H., Sidel J. L., 2004 – Sensory evaluation practices, 3rd edition. Editura Academic Elsevier, New York.
141. Swiegers J.H., Bartowsky E.J., Henschke P. A., Pretorius I.S., 2005 – *Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavor*. Australian Journal of Grape and Wine Research 11, p. 139–173.
142. Tarțian Alexandru-Cătălin, 2019 – *Studiul compușilor fenolici și volatili din vinul Busuioacă de Bohotin în vederea stabilirii tipicității soiului*. Teză de doctorat. Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” Iași.
143. Thorngate J. H., 1998 – *Yeast Strain and Wine Flavor: Nature or Nurture?*, Cap 6 din Chemistry of Wine Flavor.
144. Țițan E., Ghiță S., Trandaș C, 2002 – *Bazele statisticii*. Meteora Press, București.

145. Torija María Jesús, Beltran Gemma, Novo Maite, Poblet Montse, Guillamón José Manuel, Mas Albert, Rozès Nicolas, 2003 – *Effects of fermentation temperature and Saccharomyces species on the cell fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine*. International Journal of Food Microbiology, 85, p. 127–136.
146. Tudose Sandu-Ville Ș., 2012 – *Studiul compușilor fenolici din vinurile roșii obținute prin diferite tehnologii de vinificare în Podgoria Iași*. Teză de doctorat. Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” Iași.
147. Tufariello Maria, Fragasso Mariagiovanna, Pico Joana, Panighel Annarita, Castellarin Simone Diego, Flamini Riccardo, Grieco Francesco, 2021 – *Influence of Non-Saccharomyces on Wine Chemistry: A Focus on Aroma-Related Compounds*. Molecules, nr. 26.
148. Țârdea C., Sârbu G., Țârdea Angela, 2010 – *Tratat de vinificație*. Editura „Ion Ionescu de la Brad”, Iași.
149. Ugliano Maurizio și Henschke Paul A., 2009 – *Yeasts and Wine Flavour*. Cap. 8 din Wine Chemistry and Biochemistry, Editura Springer Science Business Media, LLC.
150. Ugliano Maurizio, 2009 – *Enzymes in Winemaking*, Cap 4 din Wine Chemistry and Biochemistry, Springer.
151. Vararu Florin, 2016 – *Cercetări privind influența unor sușe de levuri asupra conținutului de compuși volatili și amine biogene din vinurile albe*, teză de doctorat, USAMV, Iași.
152. Vianna Elizabeth, Ebeler Susan E., 2001 – *Monitoring Ester Formation in Grape Juice Fermentations Using Solid Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry*. J. Agric. Food Chem., Nr. 49, p. 589–595.
153. Vilanova Mar, Oliveira José M., 2012 – *Application of Gas Chromatography on the Evaluation of Grape and Wine Aroma in Atlantic Viticulture (NW Iberian Peninsula)*, Cap. 7 din Gas Chromatography In Plant Science, Wine Technology, Toxicology And Some Specific Applications, Editura InTech.
154. Wang Shaoyang, Li Yiqing, Ren Jie, Gu Pan, Li Teng, Wu Yuwen, Zhang Bolin, Zhu Baoqing, 2018 – *Comparison on Evolution of Volatile Compounds and Aroma Attributes in Different pH-adjusted Fermented Bog Bilberry Syrup Wines during Bottle-Aging Period*. Food Bioscience, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.01.003>.
155. Waterhouse Andrew L., Sacks Gavin L., Jeffery David W., 2016 – *Understanding Wine Chemistry*. Editura John Wiley & Sons, Inc.,
156. Wen-Ke Shi, Jia Wang, Fu-Sheng Chen, Xiu-Yan Zhang, 2019 – *Effect of Issatchenkia terricola and Pichia kudriavzevii on wine flavor and quality through simultaneous and sequential co-fermentation with Saccharomyces cerevisiae*. Food Science and Technology.

157. Yan Guoliang, Zhang Boqing, Joseph Lucy, Waterhouse Andrew L., 2020 – *Effects of initial oxygenation on chemical and aromatic composition of wine in mixed starters of Hanseniaspora vineae and Saccharomyces cerevisiae*. Food Microbiology.
158. Yang Ya Nan' Ou, Gao Jin Shan, Li Ruo Lan, Zhu Mei Rong, Hu Xin Hao, Min Zhuo, Chen Shu Xia, Zhang Zhen Wen, Fang Yu Lin, 2015 – *Changes in Volatile Profiles and Activity of Hydroperoxide Lyase and Alcohol Dehydrogenase During the Development of Cabernet Sauvignon Grapes (Vitis vinifera L.)*. South African Journal of Enology + Viticulture, vol. 36, p. 328–342.
159. Yannai Shmuel, 2013 – *Dictionary Of Food Compounds*, CRC Press.
160. Yuan Fang, Qian Michael C., 2015 – *Aroma Potential in Early- and Late-Maturity Pinot noir Grapes Evaluated by Aroma Extract Dilution Analysis*. Journal of Agricultural and Food Chemistry.
161. Yuan Fang, Qian Michael C., 2016 – *Development of C13-norisoprenoids, carotenoids and other volatile compounds in Vitis vinifera L. Cv. Pinot noir grapes*. Food Chemistry, nr. 192, p. 633–641.
162. 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.
163. Zamora Fernando, 2009 – *Biochemistry of Alcoholic Fermentation, din Wine Chemistry and Biochemist*. Editura Springer Science Business Media, LLC.
164. Zara Severino și Mannazzu Ilaria, 2019 – *Detection, Quantification, and Identification of Yeast in Winemaking*, cap. 3 din *Yeasts in the Production of Wine*. Editura Springer.
165. ***OIV, 2021 – „*Compendium of international methods of analysis of wine and must* (vol. 1, 2)”
166. ***World Health Organization, 2015 – *Method of Analysis- High- performance liquid chromatography- The International Pharmacopoeia*, 5th Edition.
167. ***<http://printrevinuri.ro>; BocșeBogdan, 2010.
168. ***<http://www.betterchemtech.com/product/isovaleric-acid>.
169. ***<http://www.thegoodscentcompany.com>.
170. ***https://laffort.com/wp-content/uploads/FP/FP_EN_Zymaflore_X5.pdf.
171. ***<https://media.winefolly.com/origin-of-wine-aromas-wine-folly.png>.
172. ***<https://theconversation.com/that-neat-and-tidy-map-of-tastes-on-the-tongue-you-learned-in-school-is-all-wrong-44217>.
173. ***<https://www.aeb-group.com/en/aeb-academy>.
174. ***<https://www.bourgogne-wines.com/our-wines-our-terroir/our-grape-varietals-our-colors/aligote/aligote-a-100-bourgogne-varietal,2799,10609.html>.
175. .***www.bbc.com/future/article/20171012-do-our-tongues-have-different-taste-zones.

ANEXE

ATTACHMENTS

Anexa 1/ Annex 1

LISTA TABELELOR/ LIST OF TABLES

Tabelul 1.1 – Proveniența, sursa și proprietățile senzoriale ale principalilor acizi din vin	25
Tabelul 5.1 – Date generale privind climatul local în Podgoria Iași	69
Tabelul 5.2 – Caracteristicile fizico-chimice ale strugurilor de Aligoté și Fetească regală	81
Tabelul 5.3 – Variantele experimentale pentru strugurii de Aligoté	85
Tabelul 5.4 – Variantele experimentale pentru strugurii de Fetească regală	86
Tabelul 6.1 – Variația caracteristicilor fizico-chimice ale vinurilor obținute din soiul Aligoté	105
Tabelul 6.2 – Variația caracteristicilor fizico-chimice ale vinurilor obținute din soiul Fetească regală	105
Tabelul 6.3 – Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Aligoté, anul 2015, varianta A1	111
Tabelul 6.4 – Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Aligoté, anul 2015, varianta A2	112
Tabelul 6.5 – Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Aligoté, anul 2015, varianta A3	113
Tabelul 6.6 – Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Aligoté, anul 2015, varianta A4	114
Tabelul 6.7 – Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Aligoté, anul 2015, varianta A5	115
Tabelul 6.8 – Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Fetească regală, anul 2015, varianta F1	120
Tabelul 6.9 – Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Fetească regală, anul 2015, varianta F2	121
Tabelul 6.10 – Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Fetească regală, anul 2015, varianta F3	122
Tabelul 6.11 – Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Fetească regală, anul 2015, varianta F4	123
Tabelul 6.12 – Valorile medii și abaterile standard ale acizilor organici identificați, în timpul fermentației, din probele de Fetească regală, anul 2015, varianta F5	124
Tabelul 6.13 – Rezultatele testului statistic ANOVA aplicat valorilor medii ale acizilor organici, identificați în vinul obținut din soiul Aligoté la toate variantele realizate în acest studiu	125
Tabelul 6.14 – Rezultatele testului statistic ANOVA aplicat valorilor medii ale acizilor organici, identificați în vinul obținut din soiul Fetească regală la toate variantele realizate în acest studiu	125
Tabelul 6.15 – Valorile medii ale acizilor organici din probele de Aligoté, anul 2015	126
Tabelul 6.16 – Valorile medii ale acizilor organici din probele de Fetească regală, anul 2015	126
Tabelul 6.17 – Rezultatele testului statistic aplicat variantelor, de tip multifactor ANOVA (ziua de prelevare, varianta și influența sinergică dintre cei doi factori) la vinurile obținute din soiul Aligoté, în ceea ce privește conținutul de acizi organici	127
Tabelul 6.18 – Rezultatele testului statistic aplicat variantelor, de tip multifactor ANOVA (ziua de prelevare, varianta și influența sinergică dintre cei doi factori) la vinurile obținute din soiul Fetească regală, în ceea ce privește conținutul de acizi organici	127

Tabelul 6.19 – Identificarea acizilor volatili în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Aligoté, recolta anului 2015	132
Tabelul 6.20 – Identificarea alcoolilor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Aligoté, recolta anului 2015	134
Tabelul 6.21 – Identificarea aldehydelor și cetonele în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Aligoté, recolta anului 2015	143
Tabelul 6.22 – Identificarea esterilor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Aligoté, recolta anului 2015	146
Tabelul 6.23 – Identificarea terpenelor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Aligoté, recolta anului 2015	153
Tabelul 6.24 – Identificarea acizilor volatili în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Fetească regală, recolta anului 2015	160
Tabelul 6.25 – Identificarea alcoolilor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Fetească regală, recolta anului 2015	161
Tabelul 6.26 – Identificarea aldehydelor și cetonele în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Fetească regală, recolta anului 2015	163
Tabelul 6.27 – Identificarea esterilor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Fetească regală, recolta anului 2015	164
Tabelul 6.28 – Identificarea terpenelor în diferitele faze ale procesului fermentativ la variantele obținute din soiul Fetească regală, recolta anului 2015	167

Anexa 2/ Annex 2

LISTA FIGURILOR/ LIST OF FIGURES

Figura 2.1 – Tipurile de arome întâlnite în vin.....	36
Figura 2.2 – Influența levurilor asupra profilului aromatic al vinului	37
Figura 3.1 – Evoluția prețului vinului (euro) în comerțul mondial	64
Figura 3.2 – Evoluția volumului de vin (litri) în comerțul mondial	65
Figura 4.1 – Clădirile Laboratorului de Oenologie "Acad. Valeriu D. COTEA" al Universității de Științele vieții „Ion Ionescu de la Brad” Iași.....	67
Figura 4.2 – Imaginea plantației viticole și a sediului cramei S.C. CASA OLTEANU S.R.L.....	68
Figura 5.1 – Struguri din soiul Fetească regală	70
Figura 5.2 – Struguri din soiul Aligoté.....	73
Figura 5.3 – Schema tehnologică de obținere a variantelor experimentale	85
Figura 5.4 – Distilator-extractor automat DUJARDIN-SALLERON DE 2000.....	89
Figura 5.5 – pH-metrul WTW 350i/SET folosit pentru determinarea pH-ului.....	90
Figura 5.6 – Echipament Shimadzu LC-DAD	92
Figura 5.7 – Sistem gaz-cromatografic cuplat cu spectrofotometru de masă de tip Shimadzu HS20-GC-MS.....	94
Figurile 6.1 – 6.5 Grafice degustare comparative Aligoté	170
Figurile 6.6 – 6.10 Grafice degustare comparative Fetească regală.....	171

Anexa 3/ Annex 3

LISTA ABREVIERILOR/ LIST OF ABBREVIATIONS

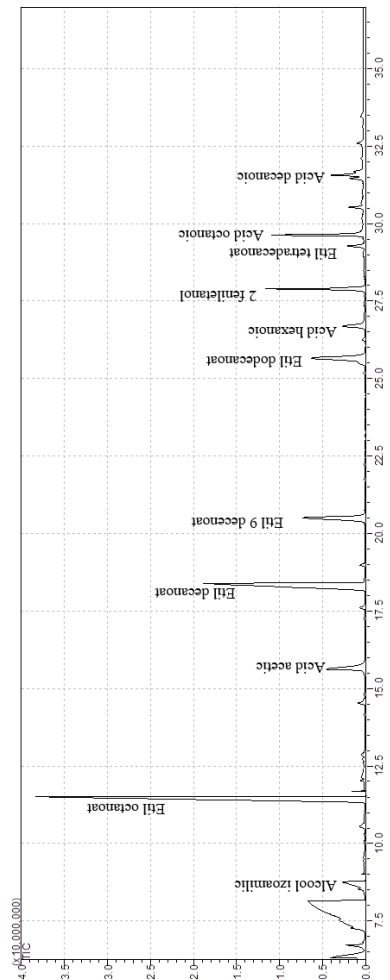
3MH	3 – mercaptohexanol
4MMP	4 – metil – mercaptopentan – 2 – onă
ADY	Levură uscată activă
CO ₂	Dioxid de carbon
DOC – CMD	Denumire de Origine Controlată – Cules la Maturitate Deplină
E491	Monostearat de sorbitan
GC	Cromatografia gazoasă
GES	Geraniol sintaza
GLV	Compuși volatili din frunze verzi (<i>Green leaf volatile</i>)
<i>H.</i>	<i>Hanseniaspora</i>
H ₂ PO ₄	Fosfat acid de potasiu
H ₂ S	Hidrogen sulfurat
HS	Head-space
HPLC	Cromatografie lichidă de înaltă performanță
KH ₂ PO ₄	Fosfat diacid de potasiu
LSD	Cea mai mică diferență semnificativă (<i>Least significant difference</i>)
MVA	Analize statistice multivariate
Na ₂ SO ₄	Sulfat de sodiu
NaCl	Clorură de sodiu
NaOH	Hidroxid de sodiu
(NH ₄) ₂ SO ₄	Sulfat de amoniu
NTU	Unități nefelometrice
OIV	Organizația Internațională a Viei și Vinului
OMG	Organisme modificate genetic
O ₂	Oxygen
UE	Uniunea europeană
WHO	Organizația Mondială a Sănătății
PCA	Analiza componentelor principale
ppm	Părți per milion
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>spp</i>	<i>Subspecia</i>
<i>S. uvarum</i>	<i>Saccharomyces uvarum</i>
SO ₂	Dioxid de sulf
<i>T.</i>	<i>Torulaspora</i>
UV	ultraviolet

Anexa 4/ Annex 4

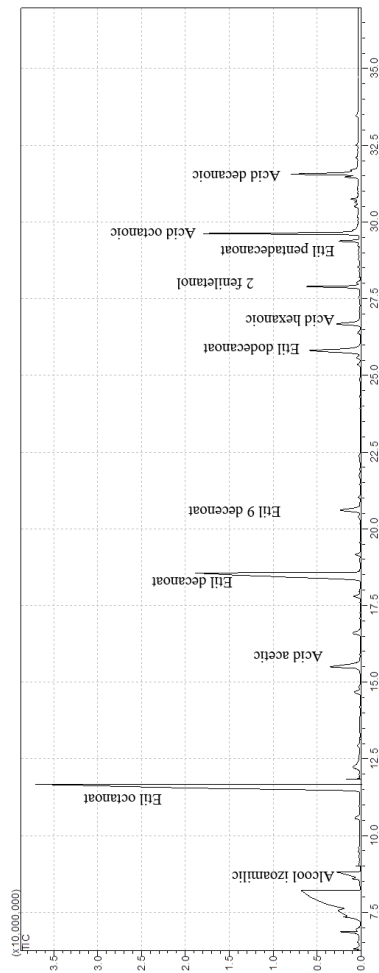
Echipamentele tehnologice folosite în vederea realizării studiului (original)

Technological equipment used to study (original)

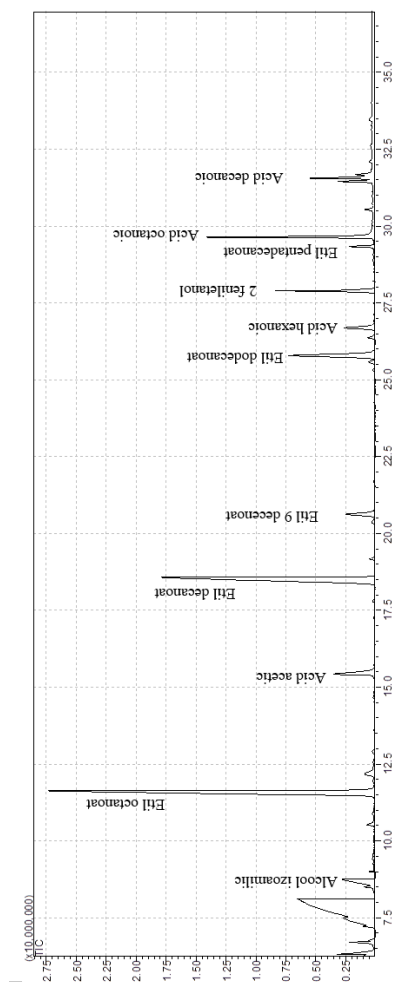




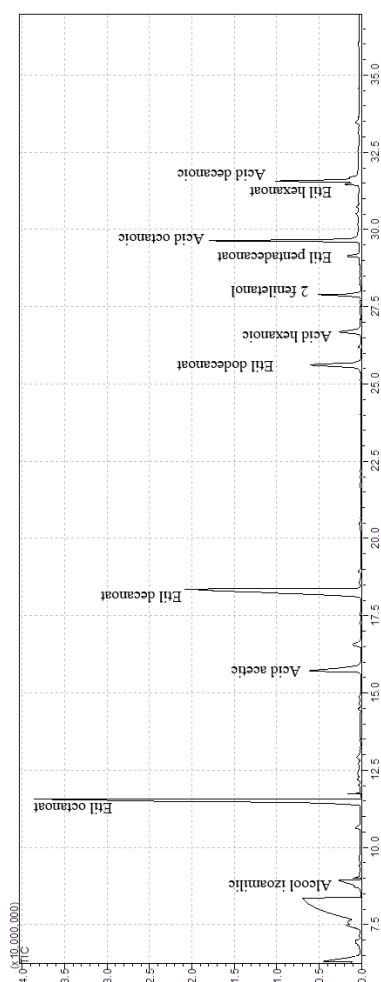
Anexa 5. Cromatograma obținută pentru varianta A1 din soiul Aligoté
Anexa 5. Chromatogram obtained for the variant A1 Aligoté variety



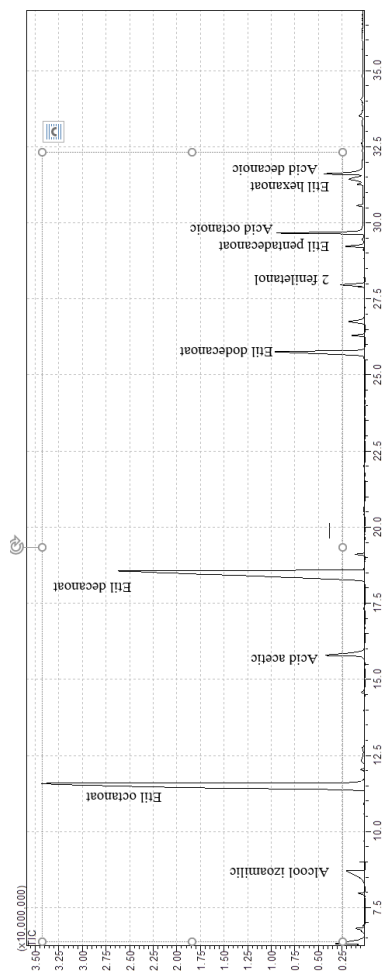
Anexa 6. Cromatograma obținută pentru varianta A2 din soiul Aligoté
Anexa 6 Chromatogram obtained for the variant A2 Aligoté variety



Anexa 7. Cromatograma obținută pentru varianta A3 din soiul Aligoté
Anexa 7. Chromatogram obtained for the variant A3 Aligoté variety

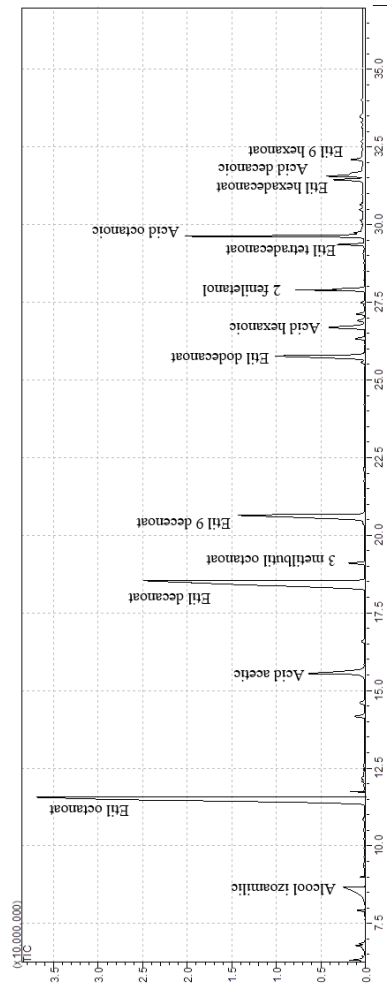


Anexa 8. Cromatograma obținută pentru varianta A4 din soiul Aligoté
Anexa 8. Chromatogram obtained for the variant A4 Aligoté variety



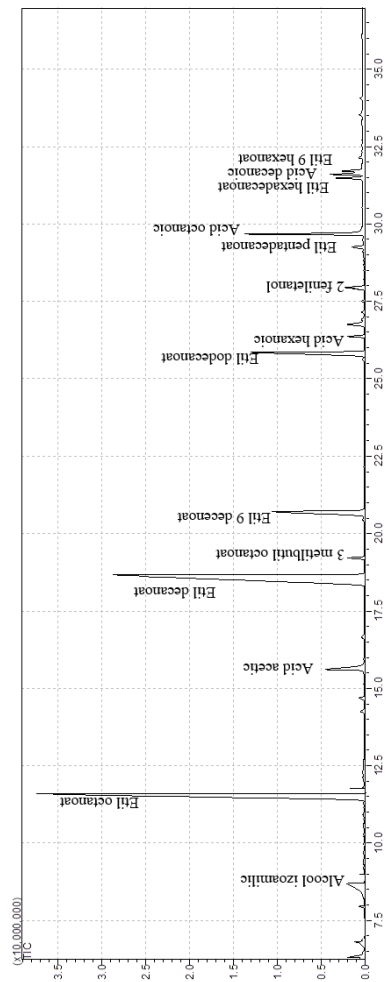
Anexa 9. Cromatograma obținută pentru varianta A5 din soiul Aligoté

Anexa 9. Chromatogram obtained for the variant A5 Aligoté variety

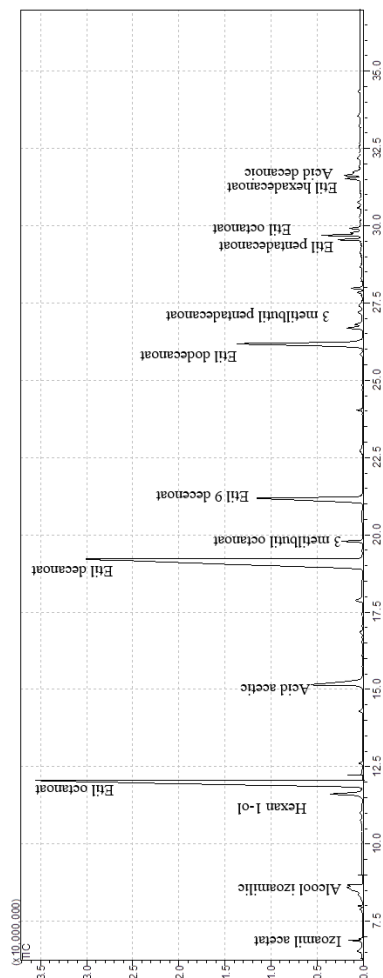


Anexa 10. Cromatograma obținută pentru varianta F1 din soiul Fetească regală

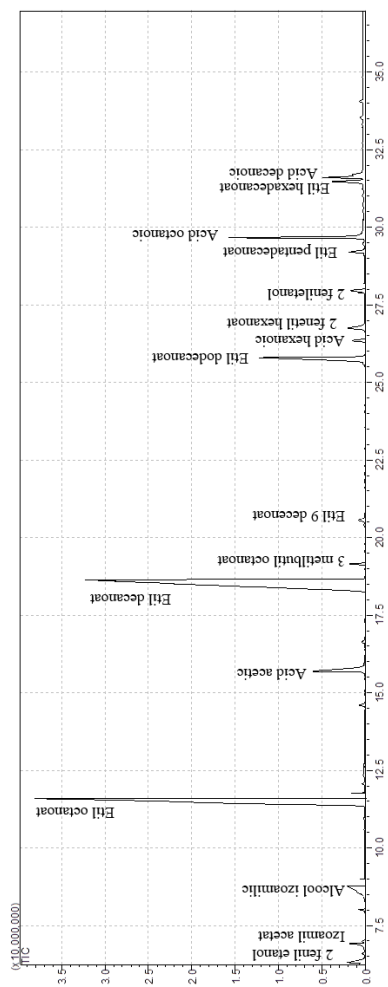
Anexa 10. Chromatogram obtained for the variant F1 Fetească regală variety



Anexa 11. Cromatograma obținută pentru varianta F2 din soiul Fetească regală
 Anexa 11. Chromatogram obtained for the variant F2 Fetească regală variety

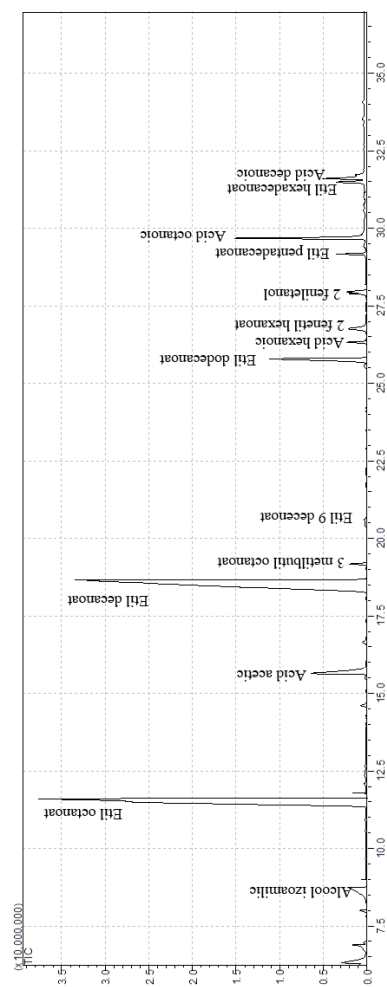


Anexa 12. Cromatograma obținută pentru varianta F3 din soiul Fetească regală
 Anexa 12. Chromatogram obtained for the variant F3 Fetească regală variety



Anexa 13. Cromatograma obținută pentru varianta F4 din soiul Fetească regală

Anexa 13. Chromatogram obtained for the variant F4 Fetească regală variety



Anexa 14. Cromatograma obținută pentru varianta F5 din soiul Fetească regală

Anexa 14. Chromatogram obtained for the variant F5 Fetească regală variety

LISTA LUCRĂRILOR PUBLICATE
LIST OF SCIENTIFIC PAPERS

Lista lucrărilor științifice publicate de doctorand

Lucrări publicate în reviste ISI Proceedings - prim-autor

1. **Teliban I. V.**, Luchian Camelia-Elena, Colibaba Lucia-Cintia, Niculaua M., Zamfir C. I., Cotea V. V., Odăgeriu G., *Studies on the evolution of some physical-chemical characteristics on the fermentation kinetics of Aligoté wines in Iasi vineyard*, BIO Web of Conferences, Vol. 10, Section Oenology, 41st World Congress of Vine and Wine, EDP Sciences, 19-23 November 2018, Punta del Este, Uruguay, 4 p., ISBN: 979-10-91799-92-8.

Lucrări publicate în reviste BDI - prim-autor

1. **Teliban I.-V.**, Colibaba Cintia, Zamfir C., Niculaua M., Odăgeriu G., Tudose Sandu-Ville S., Costea-Savin Zenaida, Cotea V.V., *Studies on some Aligoté wines obtained through different wine-making technologies*, Lucrări Științifice, seria Horticultură, 60 (2) / 2017, USAMV IAȘI.

2. **Teliban I.V.**, Cotea V.V., Colibaba Lucia-Cintia, Zamfir C.I., Niculaua M., Tudose-Sandu-Ville Ș., Luchian Camelia Elena, Scutărașu Elena Cristina, *Analysis of volatile compounds in Aligoté, obtained by different fermentation volumes*, Lucrări Științifice, seria Horticultură, 63 (2) / 2020, USAMV IAȘI.

Lucrări publicate în reviste ISI -coautor (în recenzie)

1. Elena Cristina Scutarașu, **Iulian Valentin Teliban**, Cătălin Ioan Zamfir, Camelia Elena Luchian, Lucia Cintia, Colibaba, Valeriu V. Cotea., *Effect of different winemaking conditions on organic acids compounds of white wines*, FOODS.

Lucrări publicate în reviste BDI - coautor

1. Dumitriu (Gabor) Georgiana-Diana, Cotea V. V., Teodosiu Carmen, López De Lerma Nieves, Niculaua M., Nistor Alina-Mihaela, **Teliban I.**, Peinado R. A., *Influence of ageing techniques on aromatic compounds from Fetească neagră wines (Influența tehnicilor de învechire asupra compușilor aromatici din vinurile Fetească neagră)*, Lucrări științifice, vol. 36, partea I-a, seria Horticultură, Viticultură și Vinificație, Silvicultură și grădini, Protecția plantelor, Universitatea Agrară de Stat din Moldova, Chișinău, 2018, format electronic (CD).

2. Niculaua M., Odăgeriu Gh., Tucaliuc Roxana, Moroșanu Ana Maria,

Teliban I., Cotea V. V., *Cypermethrin assessment and possible persistence in grapes or wines*, Lucrări Științifice, seria Horticultură, vol. 58(1) / 2015, U.S.A.M.V. IAȘI.

3. Nistor Alina-Mihaela, Niculaua M., Luchian Camelia Elena, Cotan Șt. D., **Teliban I.**, Cotea V. V., *Negative influence of temperature over flavor compounds from wine*, Lucrări Științifice, seria Horticultură, 60 (1) / 2017, USAMV IAȘI.

4. Odăgeriu G., Zamfir C. I., Niculaua M., Cotea V. V., Vararu F., **Teliban I.** *Aspects regarding the evolution of acidity during alcoholic fermentation of certain musts*, Lucrări Științifice, seria Horticultură, vol. 58(2) / 2015, U.S.A.M.V. IAȘI.

5. Vasilica Onofrei, Gabriel-Ciprian Teliban, Marian Burducea, **Iulian-Valentin Teliban**, Alexandru Dragoș Robu (coord.), „*Biological indicators of heavy metal in water and soil*”, Lucrări Științifice – vol. 58 (1) 2015, seria Agronomie, USAMV, Iași.

6. Vasilica Onofrei, Gabriel-Ciprian Teliban, Roxana-Alexandrina Clinciu-Radu, **Iulian-Valentin Teliban**, Florina-Maria Galea (Deleanu), Teodor Robu (coord.), „*Ocimum basilicum L.: presence, influence and evolution in human concerns ever*”, Lucrări Științifice – vol. 58 (1) 2015, seria Agronomie, USAMV, Iași.

7. Vasilica Onofrei, Andrei Lobiuc, Marian Burducea, Gabriel-Ciprian Teliban, **Iulian-Valentin Teliban**, Teodor Robu (coord.), „*The effect of ecological foliar fertilising on the yield of Ocimum basilicum L.*”, Journal of botany, Academy of sciences of Moldova Botanical Garden (Institute), Chișinău.