

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI
MEDICINĂ VETERINARĂ
„ION IONESCU DE LA BRAD” DIN IAȘI**

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

TEZĂ DE DOCTORAT

Doctorand,

Ing. Alexandru Cătălin TARȚIAN

Conducător de doctorat,

Prof. univ. dr. Valeriu V. COTEA

- IAȘI 2019 -

**UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES
AND
VETERINARY MEDICINE
“ION IONESCU DE LA BRAD” OF IAȘI**
*HORTICULTURE FACULTY
DOCTORAL SCHOOL OF ENGINEERING SCIENCES
DOMAIN: HORTICULTURE
SPECIALIZATION: VITICULTURE AND OENOLOGY*

DOCTORAL THESIS

PhD student,

Eng. Alexandru Cătălin TARȚIAN

PhD coordinator,

Univ. prof. PhD Valeriu V. COTEA

- IAȘI 2019 -

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI
MEDICINĂ VETERINARĂ „ION IONESCU DE LA
BRAD” DIN IAȘI
FACULTATEA DE HORTICULTURĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE INGINEREȘTI
DOMENIUL: HORTICULTURĂ
SPECIALIZAREA: VITICULTURĂ ȘI OENOLOGIE**

TEZĂ DE DOCTORAT

*„STUDIUL COMPUȘILOR FENOLICI ȘI VOLATILI DIN
VINUL BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ÎN VEDEREA
STABILIRII TIPICITĂȚII SOIULUI”*

Conducător de doctorat,

Prof. univ. dr. Valeriu V. Cotea

Doctorand,

Ing. Alexandru Cătălin Tarțian

- IAȘI 2019 -

**UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND
VETERINARY MEDICINE “ION IONESCU DE LA
BRAD” IAȘI**
HORTICULTURE FACULTY
DOCTORAL SCHOOL OF ENGINEERING SCIENCES
DOMAIN: HORTICULTURE
SPECIALIZATION: VITICULTURE AND OENOLOGY

DOCTORAL THESIS

***“STUDY OF PHENOLIC AND VOLATILE COMPOUNDS
FROM BUSUIOACĂ DE BOHOTIN WINE IN ORDER TO
ESTABLISH THE TYPICITY OF THE VARIETY”***

PhD coordinator,

Univ. prof. PhD Valeriu V. Cotea

PhD student,

Eng. Alexandru Cătălin Tarțian

- IAȘI 2019

CUPRINS

INTRODUCERE.....	11
REZUMAT.....	15
PARTEA I a – STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....	23
CAPITOLUL I – STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRIILOR PRIVIND COMPUȘII FENOLICI ȘI VOLATILI UTILIZAȚI ÎN CADRUL DISCRIMINĂRII VINURILOR.....	24
1.1. NOI STRATEGII ABORDATE ÎN REZOLVAREA PROBLEMELOR PRIVIND AUTENTICITATEA ȘI TIPICITATEA VINURILOR.....	24
1.2. DISCRIMINAREA VINURILOR PE BAZA CONȚINUTULUI ÎN COMPUȘI FENOLICI.....	25
1.3. DISCRIMINAREA VINURILOR PE BAZA CONȚINUTULUI ÎN COMPUȘI VOLATILI.....	28
1.3.1. Discriminarea vinurilor în funcție de soiurile de viță de vie.....	29
1.3.2. Discriminarea vinurilor în funcție de originea geografică.....	30
1.3.3. Markerii de maturare și învechire.....	30
PARTEA A II–A – CONTRIBUȚII PROPRII.....	34
CAPITOLUL II – SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII ȘI CADRUL NATURAL/ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU REALIZAT.....	35
2.1. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII.....	35
2.2. CADRUL NATURAL/ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU DESFĂȘURAT CERCETĂRILE.....	36
CAPITOLUL III – MATERIALUL ȘI METODA DE CERCETARE.....	38
3.1. MATERIALUL DE CERCETARE.....	38
3.1.1. Descrierea Arealului Viticol Huși.....	38
3.1.2. Descrierea soiului Busuioacă de Bohotin.....	40
3.1.3. Proveniența materialului de cercetare utilizat și descrierea protocolului experimental	45
3.2. METODELE DE CERCETARE UTILIZATE ÎN REALIZAREA STUDIULUI.....	52
3.2.1. Metode fizico-chimice de determinare a principalilor parametri de compoziție ai vinurilor.....	52
3.2.2. Metode spectrofotometrice de analiză a vinurilor.....	53
3.2.3. Determinarea compușilor fenolici prin Cromatografie Lichidă de Înaltă Performanță (HPLC).....	53
3.2.4. Determinarea compușilor volatili prin Gaz–Cromatografie (GC).....	54
3.2.5. Analiza senzorială a vinurilor.....	55
CAPITOLUL IV – REZULTATELE OBTINUTE ȘI DISCUȚII.....	57

4.1. PRINCIPALII PARAMETRII DE COMPOZIȚIE AI MUSTURILOR ȘI VINURILOR DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR OBȚINUTE.....	58
4.1.1.Principalii parametri de compoziție ai musturilor de Busuioacă de Bohotin.....	58
4.1.2.Principalii parametri de compoziție ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin.....	62
4.1.3.Interpretarea rezultatelor obținute.....	72
4.1.3.1.Influența tehnicilor de macerare asupra principalilor parametri de compoziție ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin.....	72
4.1.3.2.Influența biotipurilor soiului Busuioacă de Bohotin utilizate la obținerea vinurilor asupra principalilor parametri de compoziție.....	77
4.1.3.3.Influența terroir-ului asupra principalilor parametri de compoziție ai musturilor și vinurilor de Busuioacă de Bohotin.....	78
4.2. ACIZII ORGANICI DETERMINAȚI PRIN HPLC DIN VINURILE DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR OBȚINUTE.....	79
4.3. COMPUȘII FENOLICI IDENTIFICAȚI ÎN VINURILE DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR OBȚINUTE.....	89
4.3.1.Compuși fenolici determinați prin HPLC.....	89
4.3.1.1.Profilul antocianilor vinului de Busuioacă de Bohotin.....	97
4.3.1.1.1.Influența tehnicilor de macerare asupra profilului antocianilor.....	100
4.3.1.1.2.Influența biotipurilor asupra profilului antocianic și diferențierea acestora.....	101
4.3.1.1.3.Influența terroir-ului.....	104
4.3.1.2.Conținutul în antociani prin Cromatografie Lichidă de Înaltă Performanță (HPLC).....	105
4.3.2.Compuși fenolici determinați prin Spectrofotometrie.....	106
4.3.2.1.Conținutul total în antociani prin metoda variației de pH.....	109
4.3.3.Corelarea datelor obținute prin HPLC și Spectrofotometrie privind conținutul în antociani ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin.....	110
4.3.4.Corelarea profilului antocianilor vinurilor de Busuioacă de Bohotin cu calea de biosinteză a acestor compuși.....	111
4.4.CARACTERISTICILE CROMATICE ALE VINURILOR DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR OBȚINUTE.....	115
4.4.1.Corelarea caracteristicilor cromatice cu compuși de culoare relevanți.....	119
4.5.COMPUȘII VOLATILI IDENTIFICAȚI ÎN VINURILE DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR OBȚINUTE.....	121
4.5.1. Conținutul în compuși terpenici din vinurile de Busuioacă de Bohotin.....	122
4.5.2. Compuși secundari de aromă identificați	129
4.5.2.1. Conținutul în alcooli superiori din vinurile de Busuioacă de Bohotin.....	129
4.5.2.2. Conținutul în esteri din vinurile de Busuioacă de Bohotin.....	137
4.5.2.3. Conținutul în acizi organici din vinurile de Busuioacă de Bohotin.....	145

4.5.2.4. Conținutul în aldehide din vinurile de Busuioacă de Bohotin.....	147
4.5.3. Variația conținutului în compuși volatili din vinurile de Busuioacă de Bohotin în funcție de tehnicile de macerare, biotipurile soiului și anul de producție.....	149
4.5.3.1. Influența tehnicilor de macerare.....	149
4.5.3.2. Influența biotipurilor soiului Busuioacă de Bohotin.....	150
4.5.3.3 Influența anului de producție.....	150
4.6. EVALUAREA SENZORIALĂ A VINURILOR DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR.....	151
4.6.1. Rezultatele obținute.....	151
4.6.2. Interpretarea rezultatelor.....	155
4.6.2.1. Influența tehnicilor de macerare asupra caracteristicilor senzoriale și corelarea cu compoziția fizico-chimică a vinurilor.....	155
4.6.2.2. Influența biotipurilor soiului Busuioacă de Bohotin asupra caracteristicilor senzoriale.....	157
4.6.2.3. Influența terroir-ului asupra caracteristicilor senzoriale.....	157
CAPITOLUL V – ANALIZA STATISTICĂ.....	158
CAPITOLUL VI – CONCLUZII.....	168
BIBLIOGRAFIE	174
ANEXE.....	192

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION.....	13
ABSTRACT.....	19
PART I – PRESENT STATE OF KNOWLEDGE.....	23
CHAPTER I – PRESENT STATE OF RESEARCH ON PHENOLIC AND VOLATILE COMPOUNDS USED IN WINE DISCRIMINATION.....	24
1.1 NEW STRATEGIES APPROACHED IN SOLVING AUTHENTICITY AND TYPICITY WINE ISSUES.....	24
1.2 WINE DISCRIMINATION BASED ON PHENOLIC COMPOUNDS CONTENT.....	25
1.3 WINE DISCRIMINATION BASED ON VOLATILE COMPOUNDS CONTENT.....	28
1.3.1. Wine discrimination according to vine variety.....	29
1.3.2. Wine discrimination according to their geographical origin.....	30
1.3.3. Maturing and aging markers.....	30
PART II – PERSONAL CONTRIBUTIONS.....	34
CHAPTER II – RESEARCH PURPOSE AND OBJECTIVES AND THE NATURAL /ORGANIZATIONAL AND INSTITUTIONAL SETTING IN WHICH THEY WERE ACHIEVED.....	35
2.1 RESEARCH PURPOSE AND OBJECTIVES.....	35
2.2 THE NATURAL /ORGANIZATIONAL AND INSTITUTIONAL SETTING IN WHICH THEY WERE ACHIEVED.....	36
CHAPTER III – MATERIAL AND METHOD OF RESEARCH.....	38
3.1 RESEARCH MATERIAL.....	38
3.1.1 Description of Huși Viticultural Area.....	38
3.1.2 Description of Busuioacă de Bohotin variety.....	40
3.1.3 Provenance of the research material used and description of the experimental protocol.....	45
3.2 METHODS OF RESEARCH USED IN THE STUDY.....	52
3.2.1 Physico-chemical methods for determining the main wine compositional parameters.....	52
3.2.2 Spectrophotometric methods for the analysis of wines.....	53
3.2.3 Determination of Phenolic Compounds by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).....	53
3.2.4 Determination of Volatile Compounds by Gas-Chromatography (GC).....	54
3.2.5 Sensory analysis of wines.....	55

CHAPTER IV – RESULTS OBTAINED AND DISCUSSIONS.....	57
4.1 MAIN COMPOSITIONAL PARAMETERS OF BUSUIOACĂ DE BOHOTIN MUSTS AND WINES AND INTERPRETATION OF THE RESULTS OBTAINED.....	58
4.1.1 The main compositional parameters of Busuioacă de Bohotin musts.....	58
4.1.2 The main compositional parameters of Busuioacă de Bohotin wines.....	62
4.1.3 Interpretation of the results obtained.....	72
4.1.3.1 Influence of the maceration techniques on the main compositional parameters of Busuioacă de Bohotin wines.....	72
4.1.3.2 Influence of the biotypes of Busuioacă de Bohotin variety used to obtain wines on the main compositional parameters.....	77
4.1.3.3 Influence of the terroir on the main compositional parameters of Busuioacă de Bohotin musts and wines.....	78
4.2 ORGANIC ACIDS DETERMINED BY HPLC OF BUSUIOACĂ DE BOHOTIN WINES AND INTERPRETATION OF THE RESULTS OBTAINED.....	79
4.3 PHENOLIC COMPOUNDS IDENTIFIED IN BUSUIOACĂ DE BOHOTIN WINES AND INTERPRETATION OF THE RESULTS OBTAINED.....	89
4.3.1 Phenolic compounds determined by HPLC.....	89
4.3.1.1. Anthocyanins profile of Busuioacă de Bohotin wine.....	97
4.3.1.1.1. Influence of the maceration techniques on anthocyanins profile.....	100
4.3.1.1.2. Influence of the biotypes on anthocyanins profile and their differentiation.....	101
4.3.1.1.3. Terroir influence.....	104
4.3.1.2. Anthocyanins content by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).....	105
4.3.2 Phenolic compounds determined by Spectrophotometry.....	106
4.3.2.1. Total anthocyanins content by pH variation method.....	109
4.3.3 Correlation of the data obtained by HPLC and Spectrophotometry on anthocyanin content of Busuioacă de Bohotin wines.....	110
4.3.4 Correlation of the anthocyanins profile of Busuioacă de Bohotin wines with the biosynthesis pathway of these compounds.....	111
4.4 THE CHROMATIC CHARACTERISTICS OF BUSUIOACĂ DE BOHOTIN WINES AND INTERPRETATION OF THE RESULTS OBTAINED.....	115
4.4.1. Correlation of chromatic characteristics with the relevant colour compounds...119	119
4.5 VOLATILE COMPOUNDS IDENTIFIED IN BUSUIOACĂ DE BOHOTIN WINES AND INTERPRETATION OF THE RESULTS OBTAINED.....	121
4.5.1 The content in terpenic compounds of Busuioacă de Bohotin wines	122
4.5.2 Secondary flavour compounds identified.....	129

4.5.2.1 The content in higher alcohols of Busuioacă de Bohotin wines.....	129
4.5.2.2 The content in esters of Busuioacă de Bohotin wines.....	137
4.5.2.3 The content in organic acids of Busuioacă de Bohotin wines.....	145
4.5.2.4 The content in aldehydes of Busuioacă de Bohotin wines.....	147
4.5.3 Variation in volatile compounds of Busuioacă de Bohotin wines according to the maceration techniques, variety biotypes and year of production.....	149
4.5.3.1 Influence of the maceration techniques.....	149
4.5.3.2 Influence of the biotypes of Busuioacă de Bohotin variety.....	150
4.5.3.3 Influence of the year of production.....	150
4.6 SENSORY EVALUATION OF BUSUIOACĂ DE BOHOTIN WINES AND INTERPRETATION OF THE RESULTS.....	151
4.6.1 The results obtained.....	151
4.6.2. Interpretation of the results.....	155
4.6.2.1. Influence of the maceration techniques on sensory characteristics and correlation with the physico-chemical composition of wines.....	155
4.6.2.2. Influence of the biotypes of Busuioacă de Bohotin variety on sensory characteristics.....	157
4.6.2.3. Influence of the terroir on sensory characteristics.....	157
CHAPTER V – STATISTICAL ANALYSES	158
CHAPTER VI – CONCLUSIONS.....	171
BIBLIOGRAPHY.....	174
ANNEXES.....	192

INTRODUCERE

Vinul reprezintă un sistem destul de complex ce este alcătuit din compuși care aparțin diferitelor structuri și categorii chimice, prezente într-o diversitate mare de concentrații și ale căror origini se află într-o materie primă biologică, strugurele. Compoziția chimică a vinului este puternic influențată de o multitudine de factori precum soiul, originea geografică, clima, relieful, măsurile agrotehnice aplicate, anul de producție, procesele care intervin în cadrul vinificației *etc.* Această complexitate evidențiază faptul că vinul prezintă un sistem dificil, care îl face susceptibil falsificărilor, iar autentificarea lui reprezintă o misiune foarte grea. Cuvântul „autentic” înseamnă „conform cu originalul, astfel încât să reproducă caracteristicile esențiale, care este real, actual” [259]. Un produs alimentar poate fi denumit ca fiind autentic dacă este produs în acord cu anumite proceduri precise și toate elementele care vizează producția și lanțul de aprovizionare respectă criteriile precise. La nivel molecular, a fi autentic înseamnă a fi conform cu compoziția chimică specifică unui anumit produs.

Tipicitatea poate fi definită mai sintetic drept un set de caracteristici care îi determină apartenența și distingerea unui lucru [43]. De-a lungul timpului, acest termen a fost definit în diverse moduri în funcție de concepția fiecărui autor și experiența acestuia. Potrivit lui Salette „tipul” este definit drept referință și combină în cel mai înalt grad proprietățile, caracteristicile esențiale ale unei clase de aceleași lucruri și care fac parte din aceeași categorie [205]. Conform cu Letablier și Nicolas, tipicitatea constă în două dimensiuni esențiale: istorică/geografică și senzorială [128]. Pentru Sauvageot, atunci când conceptul de tipicitate este aplicat în oenologie, acesta reprezintă caracteristicile vinului din punct de vedere holistic și care rezultă din tipul viței de vie și procesul de vinificație [208]. Zamfir C.I., 2009 [256] a definit vinurile tipice drept cele care sunt caracteristice unei tehnologii de vinificație, specifice unei anumite zone viticole, unui anumit soi de viță de vie. Tipicitatea, trăsătura a ceea ce este tipic, face posibilă diferențierea, identificarea și recunoașterea produsului. Aplicată vinurilor D.O.C. (Denumire de Origine Controlată) tipicitatea corespunde cu caracteristicile biochimice și senzoriale și este expresia cea mai sintetică a solului, contribuind la elaborarea vinurilor D.O.C. drept produse originale care pot fi considerate tipice [205].

Astfel, se poate spune că noțiunea de tipicitate include dimensiunile senzoriale, tehnice și de mediu. Există o variabilitate mare în cadrul aceluiași spațiu senzorial, mai ales în cazul vinului. De fapt, membrii unei categorii care sunt considerați mai prototipici sunt aceia care prezintă cele mai multe trăsături comune cu alți membri ai acelei categorii, existând prin urmare un gradient al reprezentativității în cadrul unei categorii de produse, în care unele elemente sunt considerate mai tipice față de altele [180]. Limitele dintre categoriile învecinate nu sunt destul de clare iar apartenența la o categorie nu este dihotomă (toate sau nici unul) ci graduală (treptată) [124]. Unele studii au evidențiat că, clasificarea vinurilor în anumite categorii este realizată pe baza unui gradient al tipicității. De obicei, se asociază cu terroir-ul sau solul (tipicitate conceptuală) sau cu caracteristicile senzoriale percepute (tipicitate perceptuală) [45]. Atunci când este perceptuală, tipicitatea poate fi

văzută ca o formă de autenticitate, garantând puritatea, originalitatea și originea unui produs [16-17; 72]. Cu toate acestea, evaluarea tipicității unui vin rămâne destul de subiectivă.

În studiul de față s-a urmărit stabilirea tipicității soiului Busuioacă de Bohotin prin analiza compoziției fizico-chimice a vinurilor obținute din două variații fenotipice ale soiului (biotipul roz și vânat), cu origini geografice diferite (Centrele Viticole Huși și Averești) la care s-au aplicat diverse tehnici de macerare.

Busuioaca de Bohotin este unul din cele mai cunoscute soiuri aromate din România, care face parte din varietatea *Muscat*, iar vinurile obținute din acesta prezintă o aromă inconfundabilă ce amintește de parfumul florilor de trandafir, busuioc, coriandru, fragi de pădure și căpșuni sălbatice. Datorită plasticității ecologice limitate și sensibilității mai ridicate față de boli și dăunători, acest soi este cultivat pe suprafețe destul de restrânse, iar vinurile obținute din acesta au fost frecvent subiectul falsificărilor. Datorită interacțiunilor dintre genotip și mediu precum și a propagării vegetative, soiul Busuioacă de Bohotin apare ca o populație eterogenă, cu diverse biotipuri care diferă prin caracteristicile lor fenotipice, agrobiologice și tehnologice [172].

Un element de noutate prezent în experimentul realizat a fost utilizarea unei variații fenotipice a soiului Busuioacă de Bohotin ce nu a fost studiată până acum, respectiv biotipul roz. În timp ce biotipul vânat (Busuioaca vânată de Bohotin) corespunde din punct de vedere genetic cu soiul „*Muscat Rouge à Petits Grains*”, biotipul roz reprezintă o variație fenotipică mai puțin pigmentată ce corespunde cu soiul „*Muscat Rose à Petits Grains*”, ambele biotipuri având același filon genetic respectiv soiul „*Muscat Blanc à Petits Grains*”. În cadrul vinificației, acest biotip mai puțin cunoscut este utilizat de obicei în amestec cu Busuioacă vânată de Bohotin (biotipul vânat).

Analizând din punct de vedere al conceptului de tipicitate, un obiectiv important ce a fost urmărit prin analiza vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din aceste variații genetice a fost stabilirea atât a trăsăturilor comune care determină apartenența la acest soi, dar și a caracteristicilor distincte a celor două biotipuri care poate face posibilă clasificarea acestora. Mai mult decât atât, prin analiza compușilor fenolici și volatili și a caracteristicilor senzoriale ale vinurilor obținute s-a mai urmărit și determinarea unui gradient al tipicității acestor biotipuri, prin evaluarea gradului de reprezentativitate al acestora în certificarea apartenenței la soiul Busuioacă de Bohotin. Cu alte cuvinte, s-a încercat a se evidenția care dintre aceste biotipuri (vânat sau roz) au condus la obținerea unor vinuri de Busuioacă de Bohotin care să exprime cel mai pregnant trăsăturile specifice, tipice ale acestuia.

În plus față de lucrurile menționate mai sus, prin evaluarea compoziției fizico-chimice a vinurilor elaborate s-a mai examinat influența originii geografice a strugurilor utilizați și a tehnicilor de macerare asupra tipicității soiului Busuioacă de Bohotin.

INTRODUCTION

Wine is a fairly complex system consisting of different chemical compounds belonging to many categories which are present in a wide variety of concentrations and whose origins are in a biological raw matter, the grapes. The chemical composition of the wine is strongly influenced by a diversity of factors such as: the variety of the grapes, the geographical origin, the climate, the relief, the agro-technical practices, the year of production, the processes that occur within the winemaking *etc.* The influence of all these factors highlight the fact that the wine has a very complex character, authentication becoming a very difficult task, thus making it susceptible to counterfeiting.

The word "authentic" means "conforming to an original so as to reproduce essential features, which is real, actual" [259]. A foodstuff can be called authentic if it is produced in accordance with certain precise procedures, and all the elements relating to food production and the supply chain comply with precise criteria. On a molecular level, to be authentic means to conform to the chemical composition specific to a particular product.

The typicality of the wine can be defined more synthetically as a set of characteristics that determine its belonging and distinguish it from others [43]. Throughout time, this term has been defined in various ways according to each author's conception and knowledge. According to Salette, the "type" is defined as a reference and combines the highest degree of property, the essential characteristics of a class of the same things and belonging to the same category [205]. According to Letablier and Nicolas, the typicity has two essential dimensions: a historical/geographical one and a sensorial one [128]. For Sauvageot, when the concept of typicality is applied in oenology it represents the characteristics of the wine from a holistic point of view, resulting from the type of vine and the winemaking process [208]. Zamfir, in 2009 [256] defined the typical wines, which are characteristic of a winemaking technology, specific to a vineyard, of a certain vine variety. Typicality, the trait of what is typical, makes differentiation, identification and recognition of the product possible. Applied to DOC (Controlled Designation of Origin) wines, the typicalness corresponds to biochemical and sensory characteristics and is the most synthetic expression of soil, contributing to the development of DOC wines as original products that can be considered typical [205].

Thus, it can be said that the notion of typicity includes sensorial, technical and environmental dimensions. There is a great variability within the same sensory space, especially in the case of wines. In fact, members of a category that are considered more prototypical are those who share the most common features with other members of that category, so there is a gradient of representativeness within a product category where some items are considered more typical than others [180]. The boundaries between neighboring categories are not clear enough and belonging to a category is not dichotomous (all or none) but gradual (progressive) [124]. Some studies have shown that the classification of wines in certain categories is based on a typicity gradient. The classification is usually associate with the terroir or the soil (as a conceptual typicality) or the perceived sensory

characteristics (a more perceptual typicality) [45]. When perceptual, the typicity can be seen as a form of authenticity, guaranteeing the purity, originality and origin of a product [16-17; 72]. Though, the assessment of wine typicality remains rather subjective.

The main objective of the present study was to establish the typicity of Busuioacă de Bohotin variety by analysing the physico-chemical composition of the wines obtained from two phenotypic variations of this variety (pink biotype and dark violet biotype) having two different geographic origins (Huși and Averești Viticulture Center) to which various maceration techniques were applied. Busuioacă de Bohotin is one of the most known aromatic varieties in România that is part of the *Muscat* variety and the wines obtained from it express a unique flavour that reminds of the scent of rose flowers, basil, coriander, strawberries and wild strawberries. Due to limited ecological plasticity and higher susceptibility to diseases and pests, this variety is cultivated on rather narrow surfaces and the wines obtained from it have been frequently subject to adulterations. Due to interactions between the genotype and the environment and as well due to vegetative propagation, the Busuioacă de Bohotin variety appears as a heterogeneous population with different biotypes that differ in their phenotypical, agrobiological and technological characteristics [172].

A novelty element implemented in this experiment was the use of a phenotypic variation of the Busuioacă de Bohotin variety that has not been studied so far, respectively the pink biotype. While the dark violet biotype (Dark violet Busuioacă de Bohotin) corresponds genetically with the "*Muscat Rouge à Petits Grains*" variety, the pink biotype is a less pigmented phenotypic variation corresponding to the "*Muscat Rose à Petits Grains*" variety. Both biotypes have the same genetic origin: "*Muscat Blanc à Petits Grains*" variety. In winemaking, this less known biotype is usually used in blending with Dark violet Busuioacă de Bohotin (dark violet biotype).

Examining from the typicity concept point of view, an important objective that was followed by the analysis of the Busuioacă de Bohotin wines obtained from these genetic variations, was the establishment of both the common traits that determine the belonging to this variety but also the distinct characteristics of those two biotypes that can make it possible to classify them. Moreover, by analyzing the phenolic and volatile compounds and the sensory characteristics of the wines obtained, was also sought to determine a gradient of typicity of these biotypes by assessing their degree of representativeness which determines the belonging to the Busuioacă de Bohotin variety. In summary, it has been tried to highlight which of these biotypes (dark violet or pink) have led to the production of Busuioacă de Bohotin wines that expresses the most its specific, typical traits.

In addition to the above-mentioned ideas, it was also analyzed the influence of the geographical origin of the grapes and the maceration techniques used in winemaking on the typicity of the Busuioacă de Bohotin variety.

REZUMAT

Busuioaca de Bohotin este unul din cele mai cunoscute soiuri aromate din România, care face parte din varietatea *Muscat*, iar vinurile obținute din acesta prezintă o aromă inconfundabilă ce amintește de parfumul florilor de trandafir, busuioc, coriandru, căpșuni sălbatice și fragi de pădure. Datorită plasticității ecologice limitate și sensibilității mai ridicate față de boli și dăunători, acest soi este cultivat pe suprafețe destul de restrânse, iar vinurile obținute din acesta au fost frecvent supuse falsificărilor.

Studiul de față are ca scop principal obținerea de date în vederea determinării tipicității soiului Busuioacă de Bohotin și stabilirea unui posibil marker varietal care poate ajuta la determinarea autenticității vinurilor de Busuioacă de Bohotin. Pentru realizarea acestor deziderate s-au luat în calcul influența unui număr cât mai mare de variabile. Astfel, la elaborarea vinurilor de Busuioacă de Bohotin s-au utilizat două biotipuri ale soiului Busuioacă de Bohotin (biotipul roz și biotipul vânat) cu origini geografice diferite (Centrele Viticole Huși și Averești), la care s-au aplicat diferite tehnici de macerare (V0–Macerare-fermentare-martor; V1–Macerare-fermentare; V2–Termomacerare; V3–Macerare cu microunde; V4–Macerare cu ultrasunete; V5–Criomacerare; V6–Criomacerare +Microunde; V7–Macerare carbonică).

Teza de doctorat intitulată „Studiul compușilor fenolici și volatili din vinul Busuioacă de Bohotin în vederea stabilirii tipicității soiului” este structurată în două părți și șase capitole.

Partea I a – Stadiul actual al cunoașterii – cuprinde capitolul 1 denumit „Stadiul actual al cercetărilor privind compușii fenolici și volatili utilizați în cadrul discriminării vinurilor” în care sunt descrise noile strategii/tehnici și studii abordate în rezolvarea problemelor legate de tipicitatea și autenticitatea vinurilor.

Partea a II-a intitulată „Contribuții proprii” este structurată în cinci capitole și cuprinde:

Capitolul 2 – Scopul și obiectivele cercetării și descrierea cadrului natural/organizatoric și instituțional în care s-a desfășurat studiul;

Capitolul 3 – Materialul și metoda de cercetare, în care se descrie Arealul Viticol Huși, soiul Busuioacă de Bohotin, protocolul experimental aplicat și metodele de cercetare utilizate în realizarea studiului;

Capitolul 4 – Rezultate obținute și discuții – prezintă datele obținute în urma analizei compoziției fizico-chimice a musturilor și vinurilor de Busuioacă de Bohotin și interpretarea acestora;

Capitolul 5 – Analiza statistică – descrie aplicarea metodelor statistice (PCA) cu scopul clasificării vinurilor de Busuioacă de Bohotin în funcție de biotipurile soiului;

Capitolul 6 – Concluzii – realizează o descriere sintetică a datelor obținute în urma analizei tipicității soiului Busuioacă de Bohotin.

În urma evaluării compoziției fizico-chimice a musturilor de Busuioacă de Bohotin, s-a evidențiat biotipul roz printr-o aciditate totală mai mică.

Examinând principalii parametri de compoziție ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin, s-au remarcat probele obținute din biotipul roz printr-o aciditate totală mai ridicată față de biotipul vânat. Privind din prisma influenței terroir-ului, Centrul Viticol Huși s-a evidențiat prin vinuri cu valori mai ridicate ale principalilor parametri fizico-chimici (concentrația alcoolică, extractul sec total, extractul nereducător) față de cele rezultate din Centrul Viticol Averești;

Dintre tehnicile de macerare utilizate în cadrul experimentului s-a evidențiat macerația carbonică (V7). Datorită aspectelor specifice ale acestei tehnici de macerare – ce a presupus menținerea strugurilor întregi în atmosferă de CO₂ –, s-a evitat contactul mai în profunzime dintre diferitele părți constituente ale strugurelui (pielețe, semințe, pulpă), iar vinurile obținute au înregistrat valori mici ale extractului sec total și nereducător, cu un conținut mai scăzut în alcool și aciditate totală, și valori mai ridicate ale acidității volatile. De asemenea, s-au mai remarcat și vinurile la care s-a aplicat macerarea cu microunde (V3) cu concentrații alcoolice mai ridicate, criomacerarea (V5) cu o aciditate totală mai scăzută, iar macerarea cu ultrasunete (V4) a condus la valori mai mici ale extractului sec total, extractului nereducător, concentrației alcoolice și acidității totale.

Evaluarea profilului acizilor vinurilor de Busuioacă de Bohotin prin cromatografie lichidă de înaltă performanță a evidențiat existența unor diferențe cantitative, biotipul roz conducând în general la obținerea unor vinuri cu un conținut total mai ridicat în acizi în timp ce biotipul vânat s-a remarcat printr-un conținut mai mare în acid shikimic.

De asemenea, pe lângă variațiile genetice ale soiului, o influență semnificativă asupra conținutului în acizi al vinurilor a avut-o macerația carbonică (V7); această variantă de macerare a înregistrat concentrații ridicate în acid acetic, lactic, shikimic și valori mai scăzute ale acidului malic. O altă tehnică de macerare ce a determinat modificări în profilul acizilor vinurilor de Busuioacă de Bohotin a fost macerarea+microunde (V6), cu un conținut mai scăzut în acid malic și valori mai ridicate ale acidului acetic și lactic.

În urma analizei HPLC a compușilor fenolici din vinurile de Busuioacă de Bohotin, biotipul roz s-a evidențiat printr-un conținut mai ridicat în acizi fenolici totali față de biotipul vânat, acesta înregistrând un conținut mediu de 178,06 mg/L (acizi hidroxibenzoici) și 36,41 mg/L (acizi hidroxicinamici). Biotipul vânat a condus la obținerea unor vinuri cu un conținut mediu de 128,94 mg/L (acizi hidroxibenzoici) și 19,20 mg/L (acizi hidroxicinamici) în cazul Centrului Viticol Huși și de 138,31 mg/L (acizi hidroxibenzoici) și 20,17 mg/L/L (acizi hidroxicinamici) pentru Centrul Viticol Averești.

Determinarea profilului antocianic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din cele două variații genetice ale soiului a permis clasificarea acestora pe baza raportului dintre malvidină și peonidină (Mv/Po).

Astfel, în cazul biotipului vânat recoltat din Centrul Viticol Huși, valorile raportului dintre malvidină și peonidină (Mv/Po) au oscilat între 6,19 (V7) și 21,12 (V6), iar în cazul probelor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat provenit din Centrul Viticol Averești acestea au înregistrat valori cuprinse între 9,62 (V2) și 17,74 (V0) în anul 2014 și între 6,92 (V5) și 16,66 (V1) în 2015.

În ceea ce privește biotipul roz, vinurile obținute au exprimat valori mult mai scăzute ale raportului dintre malvidină și peonidină, acestea fiind cuprinse între 3,09 (V2)

și 6,37 (V1). Altfel spus, în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz, peonidina a prezentat o proporție mai mare de participare la profilul antocianic respectiv între 10,35% (V1) și 24,48% (V2), în timp ce vinurile obținute din biotipul vânat, peonidina a înregistrat un procent de participare cuprins între 4,15 % și 11,38%.

De asemenea, în urma corelării profilului antocianilor celor două variații fenotipice cu calea de biosinteză a acestor compuși de culoare, s-a reliefat că activitatea enzimelor din calea de sinteză a antocianilor (flavonoid-3'-hidroxilaza, flavonoid-3'5'-hidroxilaza, dihidroflavonol-4-reductaza) au fost modificate, conducând la o proporție mai ridicată de participare a malvidinei, petunidinei și delfinidinei în cazul biotipului vânat în timp ce biotipul roz a înregistrat o proporție mai ridicată de participare a peonidinei.

Pe lângă biotipurile soiului, o influență importantă asupra profilului antocianic a vinurilor obținute a avut-o macerația carbonică (V7). Astfel, în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Huși (BBV-H), această variantă de macerare a condus la procentul cel mai scăzut de participare a malvidinei (70,43%) și în același timp a determinat valorile procentuale cele mai ridicate ale delfinidinei (18,19%) și peonidinei (11,38%). Macerația carbonică a determinat de asemenea procentele cele mai scăzute de participare ale malvidinei (38,25% în anul 2014 și 40,12% în 2015) precum și cele mai ridicate valori procentuale ale malvidinei acilate în 2014 (31,08% acetilatul malvidinei și 30,67% cumarilatul malvidinei) și ale delfinidinei (57,79%) în 2015 în cazul vinurilor obținute din biotipul vânat din Centrul Viticol Averești (BBV-A). În ceea ce privește vinurile obținute din biotipul roz (BBR-H), nu s-a reușit detectarea antocianilor, conducând implicit la imposibilitatea determinării profilului antocianic pentru vinurile macerate carbonic.

În urma evaluării conținutului în antociani din vinurile de Busuioacă de Bohotin, s-a constatat că acest soi nu înregistrează o concentrație ridicată în acești compuși de culoare. Astfel, determinarea spectrofotometrică a conținutului în antociani (metoda variației de pH) a evidențiat existența unor cantități foarte scăzute, cuprinse între 0 mg/L (BBR-H-V7-2014) și 2,84 mg/L (BBR-H-V1-2014) în cazul biotipului roz, și între 0 mg/L (BBV-A-V7) și 11,86 mg/L (BBV-A-V2; V4) pentru biotipul vânat. Mai mult decât atât, prin cromatografie lichidă de înaltă performanță, valorile obținute pentru concentrația antocianilor au urmat același trend, confirmând de asemenea nedectarea acestor pigmenți în cazul vinurilor obținute din biotipul roz în anul 2015.

Analiza CIE Lab a caracteristicilor cromatice a subliniat existența diferențelor dintre cele două biotipuri, obținându-se valori ridicate ale clarității (L) și mai scăzute ale componentei roșii (a+), cu o puritate cromatică scăzută (C-Croma) și valori mari ale tonalității (H) în cazul vinurilor elaborate din biotipul roz. Dintre tehnicile utilizate ce s-au evidențiat a avea un impact asupra caracteristicilor cromatice ale vinurilor obținute s-au remarcat variantele V7 (macerare carbonică), V2 (termomacerare), V3 (microunde), V5 (criomacerare) și V6 (criomacerare+microunde).

Evaluarea gaz-cromatografică a vinurilor de Busuioacă de Bohotin a revelat existența unui număr mare de compuși terpenici precum linalool (0,45–2,61 mmol/L), citronelol (0,07–1,15 mmol/L), nerol (0,06–0,88 mmol/L), geraniol (0,04–0,77 mmol/L), hotrienol (0,09–0,34 mmol/L) și α -terpineol (0,1–0,33 mmol/L). De asemenea, tot din

categoria terpenoidelor s-au detectat și formele polioxigenate ale acestor compuși precum oxizii furanici și piranici de linalool (*cis* și *trans*), oxidul de nerol și oxidul de roze.

Din punct de vedere al conținutului în esteri, a existat o prevalență a esterilor etilici a acizilor grași ce exprimă în general note odorante grase, fructate și într-o proporție mai mică a esterilor acetati (note odorante fructate) și a lactonelor (note odorante cremoase, de lapte și fructate). Astfel, din categoria esterilor etilici ai acizilor grași preponderența cea mai ridicată a avut-o caprilatul de etil, capratul de etil, lactatul de etil, 9-hexadecenoatul de etil, palmitatul de etil, lauratul de etil și miristatul de etil.

Dintre tehnicile de macerare utilizate s-au remarcat: macerarea carbonică (V7), printr-un conținut scăzut în compuși terpenici, alcoolii superiori și o concentrație mai ridicată în esteri; criomacerarea (V5) a prezentat concentrații ridicate în compuși terpenici; macerarea cu ultrasunete (V4) a înregistrat valori ridicate în alcoolii superiori și concentrații mai scăzute în esteri, iar varianta la care s-a aplicat criomacerare+microunde (V6) s-a distins prin concentrații ridicate în terpenoide și alcoolii superiori.

Biotipurile soiului Busuioacă de Bohotin au exercitat de asemenea o influență asupra conținutului în compuși volatili din vinurile obținute, biotipul vânat remarcându-se prin concentrații ridicate în compuși terpenici, alcoolii superiori și esteri față de biotipul roz.

În urma analizei senzoriale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin s-au remarcat probele obținute prin macerație carbonică (V7) și criomacerare (V5). Astfel, macerația carbonică a condus în general la obținerea unui punctaj minim acordat pentru majoritatea descriptorilor olfactivi și gustativi. A existat însă și o excepție (BBV-A-V7-2015), această probă înregistrând cele mai ridicate scoruri în urma evaluării descriptorilor olfactivi (coriandru, fructe coapte, exotice, uscate, verzi, fân cosit, flori de câmp, condimente, miere, trandafir) și gustativi (dulce, onctuos, structură și persistență), un rol important avându-l conținutul ridicat de zaharuri reducătoare (73,06 g/L).

Vinurile obținute prin criomacerare (V5) s-au evidențiat prin obținerea unor punctaje ridicate în ceea ce privește descriptorii olfactivi precum coriandru, fructe coapte, exotice, uscate, verzi, fân cosit, flori de câmp, condimente, miere, trandafir și cei gustativi: dulce, onctuos, structură, și persistență.

Pe lângă tehnicile de macerare, un rol important în evaluarea senzorială a vinurilor de Busuioacă de Bohotin l-au avut biotipurile acestui soi. Astfel, probele obținute din biotipul vânat (BBV) au exprimat cel mai intens senzațiile olfactive de coriandru, fructe coapte, exotice, uscate, verzi, flori de câmp, condimente, miere, trandafir, cu o persistență de durată, caracteristici specifice soiului Busuioacă de Bohotin.

În evaluarea statistică a datelor obținute s-a utilizat analiza componentelor principale (PCA) drept metodă chemometrică, iar rezultatele obținute în urma analizei compușilor fenolici, volatili și acizilor organici au reprezentat variabilele folosite în modelul statistic.

ABSTRACT

Busuioaca de Bohotin is one of the most known aromatic varieties in România that is part of the Muscat variety and the wines obtained from it express a unique flavour that reminds of the scent of rose flowers, basil, coriander, strawberries and wild strawberries. Due to limited ecological plasticity and higher susceptibility to diseases and pests, this variety is cultivated on rather narrow surfaces and the wines obtained from it have been frequently subject to adulterations.

The main purpose of the present study is to obtain data in order to determine the typicity of the Busuioacă de Bohotin variety and to establish a possible varietal marker that can help determine the authenticity of Busuioacă de Bohotin wines. To achieve these goals, the influence of many variables was taken into account. Thus, in the elaboration of the Busuioacă de Bohotin wines, two biotypes of the Busuioacă de Bohotin variety (pink biotype and dark violet biotype) of different geographic origins (Huși Viticulture Center and Averești Viticulture Center) were used, to which various techniques maceration were applied (V0–Maceration-fermentation-control sample; V1–Maceration-fermentation; V2–Thermomaceration; V3–Microwave maceration; V4–Ultrasound maceration; V5–Cryo-maceration; V6–Cryo-maceration+Microwave; V7–Carbonic maceration).

The doctoral thesis entitled "Study of phenolic and volatile compounds in Busuioacă de Bohotin wine in order to establish the typicity of the variety" is structured in two parts and six chapters.

Part I – Present State of Knowledge – includes Chapter 1 – "The Current State of Research on Phenolic and Volatile Compounds used in Wine Discrimination", which describes the new strategies/techniques and studies used in solving issues related to the typicity and authenticity of wines.

Part II entitled "Personal Contributions" is structured in five chapters and includes: Chapter 2 – The purpose and objectives of the research and the description of the natural/organizational and institutional setting in which they were achieved; Chapter 3 – Research Material and Methods – describes Huși Viticultural Area, Busuioacă de Bohotin variety, the experimental protocol and the research methods used in the study; Chapter 4 – Obtained Results and Discussions – presents the data obtained from the analysis of the physico-chemical composition of the Busuioacă de Bohotin musts and wines and their interpretation; Chapter 5 – Statistical Analysis – Describes the application of statistical methods (PCA) to classify Busuioacă de Bohotin wines according to the variety biotypes; Chapter 6 – Conclusions – makes a synthetic description of the data obtained from the analysis of the Busuioacă de Bohotin variety typicity.

Following the physico-chemical composition of the Busuioacă de Bohotin musts, the pink biotype was noted by a lower total acidity.

Examining the main parameters of the composition of Busuioacă de Bohotin wines, the samples obtained from the pink biotype were distinguished by a higher total acidity in contrast to the dark violet biotype. Analysing from the influence of terroir point

of view, the Huși Viticulture Center led to the production of wines with higher values of the main physico-chemical parameters (alcohol concentration, total dry extract, non-reducing extract) compared to those obtained from the Averești Viticulture Center.

Of the maceration techniques used in the experiment, carbonic maceration (V7) was noted. Due to the specific aspects of this maceration technique – which meant keeping the whole grapes in CO₂ atmosphere - a deeper contact between the various constituent parts of the grape (skin, seeds, pulp) was avoided and the obtained wines had low values of the total dry extract and non-reducing extract, with a lower alcohol content and total acidity, and higher volatile acidity values. Also, it was remarked that, the samples obtained with microwave maceration (V3) had higher alcohol concentrations, the ones obtained via cryo-maceration (V5) had a lower total acidity, while ultrasound maceration (V4) led to lower values of total dry extract, non-reducing extract, alcoholic strength and total acidity.

The evaluation of the acids profile of Busuioacă de Bohotin wines by high performance liquid chromatography revealed the existence of quantitative differences, the pink biotype generally leading to the production of wines with a higher total content in acids while the dark violet biotype was remarked by a higher content in shikimic acid. Also, in addition to genetic variations of the variety, a significant influence on the acids content of the wines had carbonic maceration (V7); this maceration technique led to a high concentration in acetic, lactic, shikimic acids, and lower values of malic acid. Another maceration technique that caused alterations in the acids profile of Busuioacă de Bohotin wines was cryo-maceration + microwaves (V6), having a lower content of malic acid and higher acetic and lactic acid values.

Following the HPLC analysis of phenolic compounds in Busuioacă de Bohotin wines, the pink biotype had a higher total phenolic acids content versus dark violet biotype, with an average content of 178,06 mg/L (hydroxybenzoic acids) and 36,41 mg/L (hydroxycinnamic acids). The dark violet biotype produced wines with an average content of 128,94 mg/L (hydroxybenzoic acids) and 19,20 mg/L (hydroxycinnamic acids) for the Huși Viticulture Center, and 138,31 mg/L (hydroxybenzoic acids) and 20,17 mg/L (hydroxycinnamic acids) for the Averești Viticulture Center.

The determination of the anthocyanins profile of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the two genetic variations of this variety allowed their classification on the basis of malvidine to peonidine ratio (Mv/Po). Thus, in the case of the dark violet biotype harvested from the Huși Viticulture Center, the malvidine to peonidine ratio (Mv/Po) showed values that varied between 6,19 (V7) and 21,12 (V6), and in the case of Busuioacă de Bohotin samples obtained from the dark violet biotype of Averești Viticulture Center recorded values between 9,62 (V2) and 17,74 (V0) in 2014 and between 6,92 (V5) and 16,66 (V1) in 2015. Concerning the pink biotype, the obtained wines expressed much lower values of malvidine to peonidine ratio, which ranged between 3,09 (V2) and 6,37 (V1). In other words, in the case of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the pink biotype, peonidine exhibited a higher proportion of participation in the anthocyanins profile, respectively between 10,35% (V1) and 24,48% (V2), while the wines obtained from the dark violet biotype, peonidine recorded a participation rate of 4,15% to 11,38%.

Also, following the correlation of the anthocyanins profile of these two phenotypic variation with the biosynthesis pathway of these colour compounds, it was pointed out that the activity of enzymes from the anthocyanins synthesis pathway (flavonoid 3'-hydroxylase, flavonoid 3'5'-hydroxylase, dihydroflavonol-4-reductase) have been modified, leading to a higher proportion of maldivine, petunidine and delphinidine in the case of dark violet biotype while the pink biotype has a higher proportion of peonidine participation. In addition to the variety biotypes, an important influence on the anthocyanins profile of the obtained wines was the carbonic maceration (V7). Thus, in the case of the Busuioacă de Bohotin wines obtained from the pink biotype harvested from the Huși Viticultural Center (BBV-H), this maceration technique led to the lowest percentage of maldivine participation (70,43%) and also determined the highest percentages of delphinidine (18,19%) and peonidine (11,38%). The carbonic maceration also determined the lowest percentages of maldivine (38,25% in 2014 and 40,12% in 2015) and the highest percentages of acylated malvidine in 2014 (31,08% acetylated malvidine and 30,67% coumarylated malvinidine) and delphinidine (57,79%) in 2015 for wines obtained from the dark violet biotype from Averești Viticultural Center (BBV-A). Regarding the wines obtained from the pink biotype (BBR-H), anthocyanins were not detected, leading implicitly to the impossibility of determining the anthocyanins profile for carbonic macerated wines.

Evaluation of the anthocyanins content in Busuioacă de Bohotin wines, led to the conclusion that this variety did not record a high concentration in these colour compounds. Thus, the spectrophotometric determination of the anthocyanins content (the pH variation method) revealed the existence of very low amounts, ranging from 0 mg/L (BBR-H-V7-2014) and 2,84 mg/L (BBR-H-V1-2014) in the case of the pink biotype and between 0 mg/L (BBV-A-V7) and 11,86 mg/L (BBV-A-V2;V4) for the dark violet biotype. Moreover, by high performance liquid chromatography, the obtained concentrations of anthocyanins followed the same trend, also confirming the lack of these pigments in the case of wines obtained from the pink biotype in 2015.

The CIE Lab analysis of the chromatic characteristics highlighted the existence of differences between these two biotypes, resulting in high values of clarity (L) and lower values for the red component (a +) with low chromatic purity (C-Chroma) and high tonality (H) for wines made from the pink biotype. Among the maceration techniques used that have been shown to have an impact on the chromatic characteristics of the obtained wines, were noted the variants: V7 (Carbonic maceration), V2 (Thermomaceration), V3 (Microwave maceration), V5 (Cryo-maceration) and V6 (Cryo-maceration + Microwave).

The gas-chromatographic evaluation of Busuioacă de Bohotin wines revealed the existence of a large number of terpenic compounds such as linalool (0,45–2,61 mmol/L), citronellol (0,07–1,15 mmol/L), nerol (0,06–0,88 mmol/L), geraniol (0,04–0,77 mmol/L), hotrienol (0,09–0,34 mmol/ L) and α -terpineol (0,1-0,33 mmol/L). Also, from this category of terpenoids, the polyoxygenated forms of these compounds were also detected, such as the furanic and pyranic oxides of linalool (*cis* and *trans*), nerol oxide and rose oxide.

In terms of ester content, there was a prevalence of ethyl esters of fatty acids that generally express fatty, fruity odorous notes and in a lesser proportion of acetylated esters (fruity odorants) and lactones (creamy, milk and fruity odorant notes). Thus, from the category of ethyl esters of fatty acids, the highest predominance was having ethyl caprylate, ethyl caprate, ethyl lactate, ethyl 9-hexadecenoate, ethyl palmitate, ethyl laurate and ethyl myristate. Among the maceration techniques used were noted: carbonic maceration (V7) with a low content in terpenic compounds, higher alcohols and higher ester concentration; cryo-maceration (V5) showed high concentrations in terpenic compounds; ultrasound maceration (V4) recorded high values in higher alcohols and lower concentrations in esters, and the variant that was applied cryo-maceration + microwaves (V6) was distinguished by high concentrations in terpenoids and higher alcohols.

The Busuioacă de Bohotin biotypes also exerted an influence on the content of the volatile compounds in the obtained wines, the dark violet biotype being noted by high concentrations in terpenic compounds, higher alcohols and esters relative to the pink biotype.

Following the sensory analysis of the Busuioacă de Bohotin wines, the samples obtained by carbonic maceration (V7) and cryo-maceration (V5) were noted. Thus, carbonic maceration has generally led to a minimum score for most olfactory and tasting descriptors. However, there was an exception (BBV-A-V7-2015), this sample recording the highest scores from the assessment of olfactory descriptors (coriander, ripe fruits, exotic fruits, dried fruits, green fruits, hay, rose) and taste descriptors (sweet, unctuousness, structure and persistence), in which the high values of reducing sugar content (73,06 g/L) had an important role.

Wines obtained by cryo-maceration (V5) were highlighted by obtaining high scores for olfactory descriptors such as coriander, ripe, exotic, dry and green fruits, hay, wild flowers, spices, honey, rose and taste descriptors: sweet, unctuousness, structure, and persistence.

In addition to maceration techniques, an important role in the sensory evaluation of Busuioacă de Bohotin wines was given by the biotypes of this variety. Thus, the samples obtained from the dark violet biotype (BBV) showed the most intense olfactory sensations of coriander, ripe, exotic, dry and green fruits, wild flowers, spices, honey, rose, with a lasting persistence, specific to Busuioacă de Bohotin variety.

In the statistical evaluation of the obtained data, the principal components analysis (PCA) was used as a chemometric method and the results obtained from the analysis of the phenolic compounds, volatile compounds and organic acids represented the variables used in the statistical model.

PARTEA I
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII
PART I
PRESENT STATE OF KNOWLEDGE

**CAPITOLUL I – STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR
PRIVIND COMPUȘII FENOLICI ȘI VOLATILI UTILIZAȚI ÎN
CADRUL DISCRIMINĂRII VINURILOR
CHAPTER I – PRESENT STATE OF RESEARCH ON PHENOLIC
AND VOLATILE COMPOUNDS USED IN WINE
DISCRIMINATION**

**1.1. NOI STRATEGII ABORDATE ÎN REZOLVAREA PROBLEMELOR
PRIVIND AUTENTICITATEA ȘI TIPICITATEA VINURILOR**

Deși s-au realizat multe progrese privind verificarea autenticității vinurilor și detectarea falsificării vinurilor [61], factorii care intervin în cadrul viticulturii și vinificației continuă să prezinte provocări enorme. Analiza tradițională a acestor factori, care i-au în calcul efectele parametrilor individuali, nu a permis stabilirea cauzalității și din aceste motive, s-a impus necesitatea unei noi strategii care poartă denumirea de metabolomică. Această strategie nouă, presupune analiza metaboliților specifici strugurelui și vinului obținut prin intermediul unor metode analitice inovative și robuste.

Metabolomica reprezintă una dintre cele mai avansate platforme analitice, care constă în caracterizarea întregii compoziții a metaboliților mici (care se află de obicei sub 1,5 kDa) a unui anumit sistem sau organism [66; 230] iar în cadrul oenologiei sunt vizați metaboliții care se regăsesc în struguri, în must sau în vinul obținut [154]. Întrucât metaboliții sunt considerați produșii intermediari și finali ai proceselor de reglare celulară iar prezența acestora poate fi considerată ca fiind ultimul răspuns al sistemelor biologice față de modificările din mediu, această platformă a găsit o nișă bună în domeniul științei alimentelor [66; 94;]. Îmbunătățirile din chimia analitică precum Cromatografia Lichidă de Ultra Înaltă Performanță (UHPLC), Spectrometria de Masă de Rezoluție Înaltă (HR-MS) și programele software utilizate pentru procesarea setului mare de date analitice rezultate au fost responsabile pentru dezvoltarea rapidă a metabolomicii în ultimii zece ani [249].

În general, în funcție de obiectivul urmărit, studiul metabolomic se poate clasifica în:

- informativ, atunci când identificarea și cuantificarea metaboliților este necesară cu scopul obținerii de informații;
- discriminativ, atunci când se urmărește identificarea diferențelor existente între probele unei populații;
- predictiv, când se urmărește crearea unor modele statistice pentru a prezice categoria din care face parte. Studiile metabolice privind autentificarea alimentelor sunt în general predictive și discriminative. Înțelegerea motivului clasificării prin identificarea și cuantificarea metaboliților responsabili pentru această clasificare (metabolomică informativă) nu este principala forță a acestor studii [47].

Potrivit lui Dettmer ș.a., 2007 [56] și Hall, 2006 [90] se utilizează două abordări complementare în cadrul investigațiilor metabolomice:

- profilarea metabolomică-direcționată (se concentrează pe analiza unui grup de metaboliți care sunt de obicei identificați și cuantificați). În majoritatea cazurilor, profilarea

metabolomică se bazează pe ipoteza în care metaboliții studiați sunt asociați unei anumite traiectorii (traseu) [155] sau a unui ciclu metabolic [66].

-amprentarea metabolomică-nedirecționată. În cadrul acestei abordări, intenția nu este de a identifica și cuantifica fiecare metabolit observat ci de a compara tipare sau „amprente” ale metaboliților care se modifică ca răspuns la boli sau modificări genetice sau de mediu. Din moment ce această ultimă abordare se poate aplica simultan la o gamă largă de metaboliți în care singura limitare este doar platforma analitică utilizată, este destul de aproape să fie cu adevărat o abordare „omică”. Fiehn ș.a., 2002 descriu abordarea „pur” metabolomică drept o analiză cuprinzătoare a unui metabolom care cuprinde identificarea și cuantificarea a unui număr cât mai mare de metaboliți care se pot regăsi într-un sistem biologic.

Folosirea metabolomicii în cadrul științei vinului a deschis noi oportunități în evaluarea întregului proces privind practicile de viticultură și vinificație dintr-o perspectivă holistică pentru asigurarea calității, trasabilității și autenticității vinurilor.

1.2. DISCRIMINAREA VINURILOR PE BAZA CONȚINUTULUI ÎN COMPUȘI FENOLICI

Compușii fenolici au atras o atenție considerabilă din partea comunității științifice în ultimele trei decenii, nu numai pentru contribuția acestora la calitatea vinurilor, incluzând proprietățile senzoriale (culoare, aromă, astringență și amăreală) [18; 141;] și comportarea în procesul de învechire [13], dar în special pentru potențialele beneficii față de sănătate legate de funcția de protecție față de bolile coronariere de inimă și diversele activități biologice [216].

Compușii fenolici sunt larg răspândiți în regnul plantelor, identificându-se până în prezent peste 8000 de structuri diferite [116]. Aceștia, reprezintă metaboliții secundari ai plantelor care posedă importante roluri fiziologice, de exemplu, în creșterea și reproducerea plantelor, în protecția față de atacurile microorganismelor și insectelor precum și în protecția față de factorii de stres din mediu precum radiațiile UV și temperaturile înalte [169; 189].

Din punct de vedere chimic, compușii fenolici sunt substanțe ce derivă de la benzen și în general de la arene, la care se atașează una mai sau mai multe grupări hidroxil, ansamblul rezultat constituind funcția fenolică [21, p. 209].

Cea mai comună clasificare a compușilor fenolici este cea realizată în funcție de prezența sau absența în molecula acestora a unui derivat de flavan, împărțindu-se astfel în două categorii:

-compușii flavonoidici

-compușii ne flavonoidici

[21, p. 213]

Profilul fenolic al unui anumit soi și implicit al vinului obținut din acesta este în strânsă legătură cu codul genetic al viței de vie dar în același timp factorii de mediu precum tipul de sol, nivelul radiațiilor și climatul ar putea avea o importanță destul de mare în acest aspect [108].

Dintre compușii fenolici, antocianii reprezintă clasa de substanțe chimice care a fost utilizată cu cea mai mare rată de succes în evaluarea autenticității vinurilor obținute din

struguri negri și roșii. Acești pigmenți, care sunt localizați în principal în pielea strugurilor negri și roșii, sunt transferate vinului pe parcursul etapei de macerare și, datorită naturii și proprietăților chimice pe care le posedă, sunt cu ușurință separați și caracterizați de către HPLC [95]. Antocianii conțin resturi de zaharuri care pot fi acilate cu acizi aromatici (acidul *p*-cumaric, cafeic, ferulic, sinapic) sau cu acizi alifatici (acidul acetic, malic, malonic, oxalic sau succinic). Deoarece proporția relativă dintre antocianii acilați și neacilați este specifică fiecărui soi, profilul antocianic al vinurilor oferă informații legate de soiul folosit, acest aspect fiind revizuit extensiv de către Versari ș.a., 2014 [240]. Un exemplu notabil în discriminarea cu ușurință a vinurilor pe baza profilului antocianilor este soiul Pinot noir, care îi conține doar pe cei cinci antociani monoglicozidici [238]. Acești pigmenți au fost utilizați cu precădere la discriminarea vinurilor tinere. De exemplu, Gonzalez-Neves ș.a., 2016 au observat că vinurile de Syrah au avut conținutul cel mai ridicat în malvidină și antociani acetilați în timp ce vinurile de Tannat conțineau cantități mai ridicate în petunidină și antociani neacetilați. Deși vinurile de Tannat obținute în ani diferiți de producție și produse cu diverse tehnologii de vinificație au fost de asemenea discriminate cu succes prin folosirea profilului antocianilor [70], utilizarea lor ca markeri este limitată de faptul că pe parcursul învechirii vinurilor, acești pigmenți sunt supuși unui întreg lanț de reacții de degradare și formare a unor noi pigmenți mult mai stabili din punct de vedere chimic, schimbându-se astfel distribuția și concentrația inițială a acestor substanțe [91].

Pe lângă profilul antocianilor, se mai utilizează și alți compuși polifenolici pentru discriminarea vinurilor roșii cât și a vinurilor albe. Soleas ș.a., 1997 au efectuat unul dintre primele studii în realizarea autentificării vinurilor prin evaluarea a 15 compuși polifenolici care nu aparțin grupei antocianilor. Markerii varietali pentru vinurile roșii au fost flavanolii (catechină și epicatechină) și flavonolii iar profilul acizilor fenolici a servit la discriminarea vinurilor albe. În ultimii ani, în urma diverselor studii s-au obținut rezultate similare [62; 93]. Acidul shikimic, precursorul cheie în biosinteza acizilor fenolici și a flavanoizilor, este un alt compus polifenolic neantocianic folosit la distingerea vinurilor roșii obținute din soiurile Carmenère, Shiraz și Pinot Noir [229]. Utilizarea acidului shikimic în cadrul discriminării vinurilor s-a dovedit folositor doar atunci când s-a utilizat și profilul antocianilor, motiv pentru care s-a propus ca acesta să fie un instrument ajutător în certificarea clasificării vinurilor roșii. Chabreyrie ș.a., 2008 a încercat o caracterizare și diferențiere a unor vinuri obținute din șase soiuri prin utilizarea acidului shikimic și a profilului proteic în urmă căreia s-au obținut rezultate satisfăcătoare pentru soiurile Cabernet Sauvignon și Chardonnay.

Medina ș.a., 2013 au utilizat cu succes conținutul în acid shikimic și profilul proteinelor/antocianilor în cadrul clasificării vinurilor roșii și albe, indicând posibilitatea unei predicții satisfăcătoare a vinurilor realizate din amestecul a două sau mai multe soiuri.

Caracterizarea și diferențierea unor vinurile grecești obținute din soiuri albe și roșii s-a realizat prin determinarea parametrilor de culoare și a indicelui polifenolic total, utilizând spectrometria UV [167]. Datele spectrale UV și caracteristicile de culoare au fost folosite de asemenea cu scopul clasificării unor vinuri de către Sen ș.a., 2016.

Agatonovic-Kustrin ș.a., 2017 au realizat o caracterizare și clasificare a unor vinuri obținute din 40 de soiuri mono și multi-varietale pe baza profilului fenolic obținut cu

ajutorul cromatografiei de înaltă performanță în strat subțire în care rutina și resveratrolul au reprezentat principalii markeri fenolici în analiza discriminantă. Clasificarea a 196 de vinuri slovace în funcție de soi și originea geografică a fost realizată de către Weingerl, 2015 pe baza analizei profilul fenolic și a potențialului antioxidant total. Într-un alt studiu s-au investigat compușii polifenolici cu activitatea antioxidantă din vinurile italiene din Apulia în care acidul galic, *trans*-resveratrolul și quercitina au reprezentat compușii fenolici cu cea mai mare putere discriminatorie care au diferențiat vinurile roșii de cele albe și roze [195]. Ivanova-Petropulos Violeta ș.a., 2015 au efectuat de asemenea o discriminare a unor vinuri macedonene pe baza profilului fenolic și a activității antioxidante. Vilanova ș.a., 2009 au studiat impactul condițiilor de mediu (anul de producție) și a soiului asupra variației conținutului în compuși fenolici (antociani, flavonoli, dihidroflavonoli) în urma căreia s-a observat că variația compușilor fenolici a fost influențată mai mult de anii de producție de către soiurile albe față de soiurile roșii de struguri. Acizii fenolici și flavan-3-oli au fost folosiți cu succes de către Sun ș.a., 2015 în analiza discriminantă a 90 de vinuri comerciale chinezești pe baza soiurilor și a originii geografice a acestora. De asemenea, conținutul vinurilor în acid galic al vinurile obținute din America de Sud a permis clasificarea acestora în funcție de originea geografică [14].

Si-Yu ș.a., 2017 au dezvoltat un instrument robust pentru autentificarea a 121 de vinuri roșii comerciale chinezești în funcție de soi, originea geografică și anul de producție prin identificarea și cuantificarea compușilor fenolici utilizând ca metodă analitică HPLC-QqQ-MS/MS și compararea abilităților de diferențiere ale diferitelor metode chemometrice precum PCA, PLS-DA, OPLS-DA în care cea din urmă metodă chemometrică s-a dovedit cea mai eficientă în cadrul analizei discriminante.

Utilizarea compușilor ne flavonoidici în analiza discriminantă a vinurilor a fost realizată de către Pavloušek ș.a., 2013 în care acidul protocatehic, acidul *p*-hidroxibenzoic, acidul caftaric, acidul cutaric, *trans* și *cis* resveratrolul a permis clasificarea vinurilor în funcție de originea lor geografică.

În anumite studii recente s-a investigat diversitatea intravarietală a unor soiuri de struguri (clone și biotipuri), încercându-se o clasificare a acestora prin abordarea diferitelor tehnici analitice. De exemplu, Mercenaro ș.a., 2016 au evaluat caracteristicile morfologice și agronomice a 85 de biotipuri ale soiului Grenache cultivate în aceeași podgorie utilizând metode de analiză prin fluorescență, colorimetrie și analiza structurii strugurilor. Analiza statistică a claselor ierarhice (cluster analysis) a permis clasificarea celor 85 de biotipuri în 5 grupuri. Într-un alt studiu s-a reușit discriminarea unor biotipuri a soiurilor Aglianico și Muscat de Alexandria pe baza diferențelor existente în compuși fenolici [55]. Astfel, biotipul Taurasi al soiului Aglianico a fost discriminat prin analiza lineară discriminantă utilizând ca markeri conținutul în acetatul de malvidină-3-O-glucosid și derivații metoxilați ai antocianilor în timp ce biotipul spaniol al soiului Muscat de Alexandria a fost diferențiat după conținutul în flavanoli și acizi hidroxicinamici.

Ruocco Silvia ș.a., 2017 au studiat profilul metabolic a două soiuri hibride și 5 genotipuri americane, din punctul de vedere al conținutului în compuși fenolici iar în urma comparării rezultatelor cu cele obținute din două soiuri *Vitis vinifera* s-au evidențiat diferențe semnificative în profilul antocianilor.

Budić-Letoa Irena ș.a., 2017 au observat diferențe mari în compoziția fenolică între vinurile dulci de desert și cele seci realizate din același soi (Prosek), evidențiind faptul că procesul de deshidratare al strugurilor influențează semnificativ complexitatea compoziției fenolice a vinurilor.

Există anumite limite în cadrul autentificării varietale bazate pe profilul compușilor fenolici, deoarece, pe parcursul producerii și învechirii vinurilor, aceste substanțe participă la o multitudine de reacții care au loc atât între ele cât și cu alți compuși chimici precum acetaldehida sau acidul piruvic [243]. Condițiile de depozitare, recipientele și sistemele de închidere utilizate prezintă de asemenea o influență semnificativă în profilul fenolic al vinurilor [247]. Din moment ce mai multe vinuri de calitate cu denumire de origine presupune învechirea acestora în butelii din sticlă, ar trebui realizate mai mult studii pe mai multe probe de vin învechite, în vederea stabilirii autenticității acestor utilizând profilul compușilor fenolici. O altă limitare este impusă de metodele analitice utilizate în analiza compușilor fenolici. Într-adevăr, HPLC și mai nou UHPLC cuplat cu un detector adecvat (frecvent este utilizat detectorul în domeniul Ultraviolet, spectrometria de masă) permite o bună identificare și cuantificare a unei game largi de compuși polifenolici existenți în struguri și vin, totuși, nu toți compușii fenolici se pot separa și identifica cu ușurință, iar metodele utilizate se dovedesc să fie foarte costisitoare și consumatoare de timp. Din acest motiv s-au propus recent tehnici alternative precum analiza imaginii culorii și imagistica hiperspectrală în infraroșu apropiat [148] sau combinarea spectrului vizibil și UV și a parametrilor de culoare cu analiza statistică ortogonală PLS-DA [209].

1.3. DISCRIMINAREA VINURILOR PE BAZA CONȚINUTULUI ÎN COMPUȘI VOLATILI

Plantele utilizează compușii organici volatili drept mijloc de comunicare și interacțiune cu mediul care îi înconjoară [57]. Codul genetic al fiecărui soi transmite strugurilor obținuți o combinație unică de concentrații diferite în compuși volatili, determinând astfel aroma varietală a fiecărui soi și implicit tipicitatea acestora.

Aroma reprezintă probabil una din cele mai importante proprietăți senzoriale care definesc tipicitatea și calitatea unui vin. Este de asemenea unul din factorii cruciali care determină valoarea economică a unui vin pe piață, fiind și un atribut cheie în formarea preferințelor consumatorilor.

Aroma vinurilor este rezultatul unui amestec unic de compuși volatili care provin din struguri (aroma primară sau varietală prefermentativă), produși secundari care se formează în timpul fermentației (aroma secundară-fermentativă) și produșii terțiari rezultați în urma maturării și învechirii vinurilor (aroma post-fermentativă) [185].

Descrierea aromei unui vin nu este o misiune ușoară pentru cercetători deoarece s-au identificat peste 800 de compuși de aromă precum alcoolii, esterii ai acizilor organici, aldehide, eteri, cetone, terpeni etc. cu un domeniu larg de concentrații care variază de la câteva sute de mg/L până la μg/L și chiar ng/L [186; 192].

Acești compuși chimici, prin combinațiile unice pe care le realizează și diferențele existente în concentrațiile acestora, determină caracterul unui vin și face posibilă diferențierea acestuia față de altul. Astfel, profilul volatil al vinurilor este de o importanță centrală pentru asigurarea identității și autenticității acestora [164].

Deși majoritatea compușilor volatili provin din fermentație și învechire, o parte din ei sunt determinați de strugurii din care provin. În unele vinuri, notele speciale odorante care sunt specifice acelui vin provin din strugurii din care s-au obținut și descriu caracterul varietal. De exemplu notele florale ale vinurilor de Gewurztraminer și Muscat sunt determinate în mare parte de către oxidul *cis*-roze și linalool, mirosul de piper verde al vinului de Cabernet Sauvignon este determinat de 3-izobutil-2-metoxipirazină iar mirosul de copac al vinului de Sauvignon blanc este determinat de 4-mercapto-4-metilpentan-2-onă [168].

Aroma finală a vinurilor este influențată de foarte mulți factori, discriminarea acestora realizându-se pe baza soiurilor, originii geografice, anului de producție, markeri volatili specifici lemnului în care s-a realizat maturarea, markeri specifici procesului de învechire a vinului *etc.*

1.3.1. Discriminarea vinurilor în funcție de soiurile de viță de vie

Într-un studiu recent, Lukic ș.a 2017 au realizat discriminarea unor vinuri obținute din soiuri autohtone croate (Malvazij a istarska) și cosmopolite (Chardonnay și Muscat galben) din Istria prin analizarea compușilor volatili cu ajutorul HS-SPME-GC/MS în urma căruia s-au identificat ca markeri varietali nerolul pentru soiul Malvazij, etil cinamatul și dimetilbenzaldehida pentru Chardonnay și compușii terpenici pentru soiul Muscat galben. Compușii volatili 1,4 cineol și 1,8-cineol au fost investigați pentru prima dată într-un studiu de către Antalick ș.a., 2015 în 104 vinuri comerciale australiene. 1,4 cineolul a fost descris ca fiind un compus ce conferă vinurilor note odorante de fân, plante uscate și arome de coacăze negre, observându-se prezența acestuia în toate vinurile analizate și fiind considerat un potențial marker al tipicității vinurile de Cabernet Sauvignon din această regiune.

Ghaste ș.a., 2015 au studiat conținutul în compuși de aromă și precursorii glicozilați ai acestora din 6 soiuri de struguri aparținând speciei *Vitis vinifera*, două soiuri Americane și două soiuri obținute prin încrucișarea acestora. Rezultatele au evidențiat faptul că atât precursorii de aromă liberi și cei legați glicozidic s-au comportat diferit în toate cele 10 genotipuri studiate.

Dezvoltarea modelului discriminativ pe baza metodelor chemometrice precum PCA și SLDA, Welke ș.a., 2013 au realizat clasificarea vinurilor studiate pe baza a 12 compuși volatili: dietil succinatul, 2,3-butandiolul, nerolul, 2-penten-2-onă, dietil malonatul, β-santanolul, etil-9-decenoatul, alcoolii C9, 4-carenul, tetrahidro-2(2H)-piranonă, dihidro-2(3H)-tiofenonă, 3-metil-2(5H)-furanonă.

Fabani ș.a., 2013 au studiat profilul volatil a trei vinuri roșii obținute în San Juan-Argentina iar în urma analizei statistice SLDA, s-a reușit discriminarea acestora, evidențiindu-se concentrații ridicate de 1-hexanol pentru vinurile de Malbec în timp ce concentrațiile scăzute în etil caproat erau caracteristice pentru vinurile de Bonarda.

1.3.2. Discriminarea vinurilor în funcție de originea geografică

În urma evaluării profilului volatil a 37 de vinuri comerciale obținute în diverse țări precum Polonia, Franța, Italia și Spania, Stój ș.a., 2017 au reușit diferențierea vinurilor din Polonia față de celelalte țări pe baza conținutului în etil fenilacetat, hexan-1-ol, etil 2-hidroxi-4-metilpentanoat, (E)-3-hexen-1-ol, 2-feniletanol și 3- (metilsulfanil) propan-1-ol. Prin utilizarea extracției în fază solidă cuplată cu gaz cromatografia și spectrometria de masă ca tehnică analitică și a analizei discriminante a celor mai mici pătrate (PLS-DA), Perestrelo ș.a., 2014 au diferențiat vinurile în funcție de originea geografică (Insulele Azore, Canare, Madeira) și tipul de vin (alb, roșu și fortifiat) pe baza profilului volatil.

1.3.3. Markerii de maturare și învechire

Hernández-Orte ș.a., 2014 în urma analizei profilului volatil a 231 de vinuri spaniole cu 6 denumiri de origine diferite au construit un model discriminativ care a permis diferențierea vinurilor în funcție de metoda de maturare (în baricuri sau cu cipsuri). Vanilina, acetovanilona și aldehida siringică au fost prezenți în cantitățile cele mai mari în vinurile maturate cu cipsuri în timp ce compuși precum eugenolul, *E*-whiskylactona și *Z*-whiskylactona au reprezentat principalii markeri ai vinurilor maturate în baricuri.

Impactul factorilor legați de maturarea cu cipsuri și microoxigenare (dozele de oxigen și de cipsuri, specia de lemn și gradul de prăjire a cipsurilor, durata de maturare) asupra profilului volatil al unor vinuri roșii a fost studiat de către Pizarro ș.a., 2014, observând influențe semnificative asupra concentrației în compuși furanici, *cis*-whisky lactonă, acetovanilonă și eugenol.

O nouă oportunitate este reprezentată de tehnica nasului electronic. Yu ș.a., 2014 au clasificat cu succes băuturile alcoolice chinezești obținute din orez în funcție de durata de învechire (1,3 și 5 ani) prin utilizarea nasului electronic și gaz cromatografiei cuplate cu spectrometria de masă. Ouyang ș.a., 2013 au folosit o tehnică olfactivă artificială bazată pe o serie de senzori colorimetrice pentru a diferenția băuturile alcoolice chinezești obținute din orez în funcție de perioada de învechire.

Alcoolii superiori C6, dioxolanii, β -damascenona, γ -butirolactona și 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftalena au permis diferențierea vinurilor albe de Chardonnay învechite accelerat (supuse temperaturilor ridicate) față de cele învechite în condiții normale [46].

Alte studii s-au axat pe caracterizarea vinurilor din punct de vedere al compușilor volatili dar și pentru diferențierea acestora. De exemplu, Picard ș.a., 2017 a identificat pentru prima dată lactonele *p*-mentan (mintlactonă, izomintlactonă, și mentofurolactonă) și precursorul acestora -mentofuranul în vinurile roșii de Bordeaux (un cupaj obținut din soiurile Cabernet Sauvignon, Merlot și Cabernet Franc), acești compuși contribuind la aroma vinurilor cu nuanțe specifice de mentă și note de prospețime.

Jesus ș.a., 2017 au comparat din punct de vedere al profilului volatil vinurile obținute din soiurile „Muscat Blanc à petit grains” și Red Muscat, observându-se conținuturi ridicate în nerol, oxidul de roze și 2-feniletanol pentru vinurile tinere de Red Muscat.

Wang ș.a., 2016 au studiat profilul volatil a două vinuri roze australiene prin utilizarea metodei AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis) a extractelor preparate utilizând tehnica SAFE (Solvent-Assisted Flavor Evaporation) sau extracția în fază solidă tip headspace (HS-SPE: Headspace Solid-Phase Extraction). Au fost identificați 52 de

compuși de aromă prin utilizarea gaz cromatografiei cuplată cu spectrometria de masă și olfactometria (GC-MS-O) în care 2-feniletanolul, β -damascenona și o serie de esteri au fost principalii responsabili pentru caracterul fructat și floral al vinurilor iar 3-sulfanilhexil acetatul și o serie de acizi volatili au fost esențiali pentru caracterul tropical.

Vinurile de gheață (icewine) sunt obținute din strugurii care au înghețat natural pe coarde la cel puțin – 8 °C. Într-un studiu recent, Ma ș.a., 2017 au identificat β -Damascenona ca fiind compusul de aromă cheie cu cea mai mare valoare a activității odorante pentru vinurile de gheață de Vidal obținute în China. Lukic ș.a, 2016 au analizat vinurile de Gewürztraminer obținute prin recoltarea târzie a strugurilor (supramaturare) și prin recoltarea pe timp rece (vinuri de gheață-icewine), observându-se că oxizi monoterpenici, 1-octen-3-ol-ul, acetatii, cinamatul de etil și 4-vinilguaiacolul erau specifici supramaturării în timp ce vinurile de gheață mai conțineau și compuși precum citranelolul, acetaldehida, acetatul de etil, esterii acizilor dicarboxilici, benzenoizi, furani, acetali.

Alte studii s-au axat pe profilurile volatile ale vinurilor spumante în care Welke ș.a., 2014 au evaluat principalele diferențe dintre profilurile volatile ale vinurilor spumante și a vinurilor care au stat la baza obținerii acestora.

C13-norizoprenoidele (1,1,6-trimetil-1,2 dihidro- naftalena, vitispiranii și β -damascenona), esteri (laurat, 2-hidroxibutanoat, decanoat, 2-hidroxipropanoat, pentanoat de etil), alcoolii (4-butoxi butanol, 1-propanol, metionol), aldehide (3-fenil-2-propenal, nonanal, undecanal), acizi (acetic, 2-etilhexanoic, butanoic), cetone (acetoină, diacetil), și fenoli (4-vinilguaiacol, 4-etilfenol) au contribuit cel mai mult la clasificarea vinurilor.

Diferențierea vinurilor spumante din Chile obținute prin metoda tradițională și metoda Charmat din punct de vedere al profilului volatil a fost realizată de către Ubeda ș.a., 2016 prin folosirea tehnicii Stir-Bar-Sorptive-Adsorption (SBSE). Metodele chemometrice PCA și LDA au confirmat diferențele dintre profilele volatile în care vinurile spumante obținute prin metoda tradițională conțineau cantități mai mari în esteri etilici în timp ce esterii acetici și cetonele predominau în vinurile spumante obținute prin metoda Charmat. Esterii etil 2-metilpropanoatul și 3-metilbutil hexanoatul au fost identificați pentru prima dată drept markeri ai fermentației secundare în butelii de sticlă specifice tehnologiei de obținere a vinurilor spumante de către Muñoz-Redondo ș.a., 2017.

Este bine cunoscută influența levurilor asupra profilului aromatic al vinurilor (aromele secundare). Prin utilizarea tehnicii SBSE bazată pe gaz-cromatografie cuplată cu spectrometria de masă Văraru ș.a., 2016 au reușit identificarea a 49 de compuși volatili în care 18 dintre acești compuși au permis diferențierea vinurilor de Aligote obținute cu diferite sușe de levuri.

Într-un alt studiu, Katarína ș.a., 2014 au utilizat trei sușe de levuri autohtone și una comercială de *Saccharomyces cerevisae* la obținerea vinului de Gewürztraminer și au studiat impactul acestor sușe asupra compușilor de aromă primari și secundari. S-au observat concentrații ridicate în 2-feniletanol și oxid *cis*-roze asociate cu una din sușele de levuri autohtone (TC-NAX-A), acești compuși conferindu-i aromă de trandafir, tipică vinului de Gewürztraminer.

Coetzee ș.a., 2016 au studiat impactul oxigenării progresive a vinurilor de Sauvignon blanc asupra compușilor de aromă în urma căreia au observat o diminuare în

tiolii volatili responsabili de notele fructate și o creștere în compușii specifici oxidării precum acetaldehida.

Influența aplicării unei presiuni hidrostatice mari asupra unor vinuri albe și roșii și impactul acestuia asupra compoziției volatile a acestora a fost investigat de Santos ș.a., 2015. După 9 luni de depozitare s-au observat prezența unor cantități mari de furani, aldehide, cetone și acetali în vinurile presurizate în comparație cu cele nepresurizate.

Xu ș.a., 2015 au studiat impactul condițiilor climatice a două regiuni din China (Changli și Gaotai) asupra compușilor volatili din strugurii de Cabernet Sauvignon. Alcoolul benzilic, alcoolul feniletic, 1-hexanolul și 1-octen-3-olul au fost mai abundenți în strugurii din regiunea Changli în timp ce hexanalul, heptanalul, 2-metoxi-3-izobutilpirazina și (*E*)- β -damascenona au fost prezente în cantități mai ridicate în boabele din Gaotai.

După cum se observă, există numeroși factori care influențează profilul volatil al vinurilor obținute, începând cu soiul, terroir-ul, condițiile meteorologice ale anului, practicile de viticultură și vinificație aplicate, durata și modul de maturare etc.

Ca și în cazul compușilor fenolici, există anumite limitări în realizarea discriminării vinurilor pe baza profilului volatil atunci când se aplică pe o scară mai largă.

În primul rând compușii volatili care descriu un anumit soi diferă de la studiu la studiu astfel încât este foarte dificilă misiunea de a identifica „markerii varietali”. În al doilea rând, metodele utilizate în analiza discriminantă a vinurilor (metodele analitice și chemometria) au fost aplicate pe un număr mare de vinuri care au același an de producție. Această variabilă (anul de producție) se pare că are o influență limitativă asupra validării clasificării acestora precum și a puterii de predicție a vinurilor și cu siguranță ar trebui luată în calcul în cercetările viitoare [140]. În final, ar trebui de asemenea luate în considerare tehnicile de vinificație utilizate la obținerea vinurilor, întrucât atât practicile oenologice clasice precum limpezirea [131] sau cele noi precum tehnicile prin membrană [130] pot modifica profilul volatil și senzorial al vinurilor.

Concluzii

Privind în ansamblu, putem concluziona că, complexitatea chimiei vinului și multitudinea de factori care influențează compoziția chimică a vinului determină un sistem destul de complex și dificil de controlat în vederea stabilirii autenticității și tipicității vinurilor obținute.

Abordarea metabolomică oferă tehnologii analitice sofisticate pentru a face față acestor provocări. Este de așteptat ca pe viitor, tehnicile analitice multidimensionale precum GC $\times$ GC, LC $\times$ LC și HRMS să fie implementate pe scară mai largă în cadrul studiilor metabolomice. Separarea compușilor în cadrul sistemelor multidimensionale este realizată pe baza a două coloane cromatografice (care pot prezenta două mecanisme de separare). Aceste tehnici se aplică în profilarea metabolomică pentru compușii care posedă proprietăți diferite și care pot fi reținuți și separați dintr-o singură injecție.

Integrarea diferitelor platforme analitice într-un singur studiu metabolomic ar putea reprezenta viitorul în vizualizarea mai amănunțită a chemodiversității vinurilor. Lipsa instrumentelor bioinformatică care să gestioneze și să integreze complexitatea datelor multidimensionale rezultate în urma aplicării diferitelor platforme este o problemă care trebuie rezolvată pe viitor.

Aplicarea diferitelor platforme analitice avansate cuplate cu metode chemometrice bazate pe algoritmi matematici îmbunătățiți, capabili să ofere rezultate cât mai obiective în cadrul studiilor realizate, ar putea reprezenta o evoluție bună pentru rezolvarea problemelor legate de autenticitatea și tipicitatea vinurilor. De asemenea, trebuie realizate cât mai multe studii care să ia în calcul influența unui număr mare de variabile (diferite soiuri și implicit clonele și biotipurile existente, diferite zone geografice, ani de producție, practici de viticultură și vinificație *etc.*) cu scopul creării unei baze de date cât mai mari și obținerii în final a unor markeri care să ajute la determinarea autenticității și tipicității vinurilor.

**PARTEA A II-A
CONTRIBUȚII PROPRII
PART II
PERSONAL CONTRIBUTIONS**

CAPITOLUL II – SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII ȘI CADRUL NATURAL/ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU REALIZAT

CHAPTER II – RESEARCH PURPOSE AND OBJECTIVES AND THE NATURAL /ORGANIZATIONAL AND INSTITUTIONAL SETTING IN WHICH THEY WERE ACHIEVED

2.1. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII

Studiul de față are ca scop principal obținerea de date în vederea determinării tipicității soiului Busuioacă de Bohotin și stabilirii unui posibil marker varietal care poate ajuta la determinarea autenticității vinurilor de Busuioacă de Bohotin. Pentru realizarea acestor deziderate s-au luat în calcul influența unui număr cât mai mare de variabile prin utilizarea a două biotipuri ale soiului Busuioacă de Bohotin (biotipul roz și biotipul vânat) cu origini geografice diferite (Centrul Viticol Huși și Centrul Viticol Averești), iar obținerea vinurilor s-a realizat în doi ani de producție (2014 și 2015) prin utilizarea diverselor tehnici de macerare.

Prin studierea compușilor fenolici și volatili a vinurile obținute din diferite biotipuri ale soiului Busuioacă de Bohotin s-a mai urmărit și identificarea particularităților fiecărui biotip al soiului și stabilirea căreia dintre aceste variații genetice reflectă cel mai pregnant caracterul varietal al soiului Busuioacă de Bohotin. De asemenea, s-au mai examinat și trăsăturile comune prezente în ambele variații fenotipice, atribute ce determină apartenența la soiul Busuioacă de Bohotin.

Pentru a putea realiza acest scop, s-au fixat următoarele obiective specifice:

- analiza principalilor parametri de compoziției ai musturilor și vinurilor obținute în vederea stabilirii gradului de influență a arealului geografic, biotipurilor soiului și tehnicilor de macerare asupra tipicității soiului;
- determinarea acizilor organici din vinurile obținute în vederea stabilirii gradului de influență a arealului geografic, biotipurilor soiului și tehnicilor de macerare asupra tipicității soiului;
- analiza compușilor fenolici din vinurile obținute în vederea stabilirii gradului de influență a arealului geografic, biotipurilor soiului și tehnicilor de macerare asupra tipicității soiului;
- analiza profilului antocianilor vinurilor obținute pentru evidențierea posibilelor diferențe existente între biotipurile soiului Busuioacă de Bohotin precum și pentru observarea diferențelor obținute în urma aplicării diferitelor tehnici de macerare;
- analiza parametrilor cromatici a vinurilor elaborate în vederea stabilirii gradului de influență a biotipurilor soiului și tehnicilor de macerare asupra diferențelor de culoare;
- identificarea și cuantificarea compușilor volatili din vinurile obținute în vederea stabilirii gradului de influență a arealului geografic, biotipurilor soiului și tehnicilor de macerare asupra tipicității soiului;
- evaluarea senzorială a vinurilor obținute pentru stabilirea gradului de influență a arealului geografic, biotipurilor soiului și tehnicilor de macerare asupra tipicității

soiului precum și pentru identificarea biotipului și a tehnicii de macerare care prezintă cel mai pregnant specificitate de soi din punct de vedere al dimensiunii senzoriale a conceptului de tipicitate;

-stabilirea gradului de influență a preparatelor enzimatică și levurilor utilizate asupra compușilor volatili din vinurile obținute;

-utilizarea metodelor chemometrice pentru analiza discriminatorie a vinurilor de Busuioacă de Bohotin în vederea clasificării acestora în funcție de biotipurile soiului, anul de producție *etc.*

2.2. CADRUL NATURAL/ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU DESFĂȘURAT CERCETĂRILE

Analiza compușilor fenolici și volatili din vinul Busuioacă de Bohotin în vederea stabilirii tipicității soiului s-a realizat în cadrul Laboratorului de Oenologie al Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” din Iași.

Laboratorul de Oenologie își are sediul în partea de N–V a orașului Iași, respectiv în incinta Stațiunii Didactice Experimentale „Vasile Adamachi” care cuprinde și o stație de vinificație și un depozit de păstrare a probelor.

În cadrul acestor structuri se desfășoară activitatea didactică a Facultăților de Horticultură și Agronomie privind lucrările practice de Oenologie din cadrul disciplinelor de Oenologie și Viticultură – Oenologie.

În același laborator, funcționează și Centrul de Cercetări pentru Oenologie al Academiei Române – Filiala Iași, a cărui activitate se derulează în colaborare cu personalul disciplinei de Oenologie a Universității de Științe Agricole și de Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” din Iași și care de-a lungul a celor 26 de ani de activitate au realizat cercetări științifice în mai multe direcții fundamentale în domeniul Oenochimiei, având la activ peste 500 de articole științifice originale, 12 brevete și numeroase medalii și distincții.

Laboratorul de Oenologie al Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” a fost acreditat RENAR cu ISO 17025 din anul 2008 până în anul 2014 și are în dotare aparate pentru analize foarte moderne.

Echipamentele din dotarea laboratorului sunt capabile să determine toți parametrii oenologici precum: SO₂ (liber și total), aciditatea volatilă, aciditatea totală, concentrația alcoolică, densitatea oricărui lichid, conținutul în minerale, substanțele reductoare (zaharurile) *etc.*

Aparatura de laborator pentru analize fizico-chimice este formată din:

-echipamente pentru determinarea compușilor volatili și semi-volatili : trapHS-GC-3qMS; GCxGC; GC-FID; LC-GC-FID cu detector FID-μECD-dFPD; SPME/MEPS-GC-MS; SBSE-balisticGC-ITMS; GC × GC – FID;

-diferite unități de cromatografie lichidă pentru analiza antocianidelor, proantocianidelor, taninurilor, acizilor fenolici, zaharurilor, polizaharidelor, acizilor organici, aminoacizilor, proteinelor, vitaminelor, micotoxinelor, pigmentilor naturali sau de sinteză, profilare metabolomică: LC-DAD-qMS, LC × LC – dinamicDAD, LC-PDA-IT-TOF;

-spectrometre UV VIS prin care se determină: culoarea produselor lichide sau solide (CIELab76) prin transmisie sau reflexie, conținutul total în compuși fenolici (D280), indicele Folin-Ciocalteu (IFC), antocianii totali;

-spectrometre FTIR pentru evaluarea calitativă și cuantificarea reziduurilor solide din lichide;

-analizor automat oenologic; dispozitive refractometrice; colorimetre portabile; spectrometre portabile cu emisie de plasmă pentru cuantificarea metalelor; analizor portabil multiparametru pX; afrometre;

-echipamente microbiologice pentru analiza microbiotei din mediul fermentativ sau de pe suprafața fructelor: hotă cu flux laminar, incubator CO₂, autoclavă, microscop cu epiluminiscență, lupă binoculară, autoclave pentru sterilizarea sticlăriei de laborator sau a mediilor de cultură, MALDI-linear TOF cu baza de date SARAMIS pentru evaluarea rapidă a probelor de bacterii sau fungi;

Toate datele obținute sunt procesate cu ajutorul mai multor sisteme informatice și servere integrate în rețeaua Centrului de Cercetare pentru Oenologie al Academiei Române-Filiala Iași.

Laboratorul de Oenologie întreține relații științifice cu Catedrele de Viticultură și Oenologie de la UȘAMV Cluj, București și Craiova, cu ICDVV Valea Călugărească, SCDVV din Iași, Bujoru, Odobești, Murfatlar, Blaj.

De asemenea întreține relații științifice cu instituții de prestigiu din străinătate, cum sunt: Academia de Științe din Moldova, Universitatea Tehnică a Moldovei; Institutul Național pentru Viticultură și Vinificație al Republicii Moldova; Central Science Laboratory – MAFF, Sand Hutton, York (Marea Britanie); Eurofins Scientific Analytics, Nantes (Franța); Fachbereich Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, Berlin; Chemisches Untersuchungsamt, Speyer și Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Nordbayern (UA), Würzburg (Germania); Istituto Agrario, San Michele all'Adige (Italia); Institute for Health and Consumer Protection of the Joint Research Center, Ispra – (Italia); Institutul Experimental pentru vin de la Asti și Universitatea de Științe Agricole din Torino (Italia); Mitteilungen Klosterneuburg (Austria); Estação Vitivinícola Nacional (Portugalia).

În ceea ce privește stația de vinificație, aceasta cuprinde următoarele echipamente:

-instalații de microvinificație, zdrobitoare-desciorchinatoare, prese pneumatice, vase din sticlă (damigene) de diferite dimensiuni pentru fermentare, cisterne din oțel inoxidabil pentru macerare (carbonică, cu pompe de recirculare și pentru macerare la rece) și fermentație;

-pompe, filtre clasice, filtrare în contracurent, osmoză inversă, cisterne de macerare-fermentare cu temperatură controlată și atmosferă protectoare de azot, macerare cu ultrasunete, macerare cu microunde, macerare termico-barică;

-diferite tipuri de baricuri din stejar, echipament de pasteurizare, posibilitatea sterilizării cu aburi, apă ozonată și sterilizare directă cu ozon;

CAPITOLUL III – MATERIALUL ȘI METODA DE CERCETARE

CHAPTER III – MATERIAL AND METHOD OF RESEARCH

3.1. MATERIALUL DE CERCETARE

3.1.1. DESCRIEREA AREALULUI VITICOL HUȘI

3.1.1.1. Istoric

Vechimea cultivării viței de vie în spațiul acestei podgorii se explică prin prezența viței sălbatice pe văile cursurilor de apă din zona Prut, Bârlad și Siret. Amforele descoperite care datează din sec. II-II î.H demonstrează vechimea multimilenară a îndeletnicirilor viticole din acest areal iar primele documente scrise datează de la 1415, din vremea lui Alexandru cel Bun.

De asemenea, Dimitrie Cantemir, făcea referire la această zonă viticolă în „Descriptio Moldaviae” (1716): „Vinul cel mai bun se face la Cotnari și îndată după aceasta vinul de Huși e socotit cel mai bun”.

Documentele vremii atestă că Huși a fost ultima dintre podgoriile Moldovei atinsă de filoxeră (până în 1912 au fost distruse aproape toate viile indigene) iar refacerea podgoriei s-a realizat mai ales după al doilea război mondial [152].

Podgoria Huși prezintă vocație naturală pentru obținerea vinurilor aromate de calitate superioară din soiul Busuioacă de Bohotin, atât în centrul viticol Huși, cât mai ales în centrul viticol Bohotin, de unde provine acest valoros soi românesc [150].

3.1.1.2. Poziție geografică și centre viticole

Podgoria Huși este situată în partea sud-estică a Podișului Central Moldovenesc, între valea Crasnei la vest și valea Prutului la est, respectiv între paralela de 46°51' (Dealul Ghermănești-Câlcea) la nord și cea de 46°31' (confluența Crasna-Bârlad) la sud, paralela mediană de 46°41' latitudine nordică trecând prin orașul Huși. Plantațiile viticole ale acestei podgorii sunt amplasate geografic în depresiunea Hușiului de la Est, în zona Dealurilor Crasna-Lohan de la Vest, în extremitatea nordică a Dealurilor Fălciului de la sud și, cu deosebire, pe coastele de tranziție dintre dealurile menționate și Depresiunea Hușiului.

Tabelul nr. 3.1./Table no. 3.1.

Centrele Viticole și plaurile din Podgoria Huși
Viticultural Centres and and plateaus of Huși vineyard

Cod	Centru viticol	Altitudine	Plaiuri viticole
8.1	Huși	223	Ogradă, Coțoi, Schit, Drăslăvăț, Ochiuri, Dobrina, Saca, Șara, Rotundoaia, Turbata, Corni, Dric, Epurenii, Novaci, Duda, Voloseni ș.a.
8.2	Averești	241	Pâhnești, Arsura, Averești ș.a.
8.3	Vutcani	211	Roșiești, Berezeni, Valea lui Darie, Fălciu
8.4	Murgeni	196	Mălușteni, Vișoara ș.a.
8.5	Bohotin	192	Arsura, Pâhnești, Răducăneni, Moșna, Cozmești ș.a.

Principalele centre viticole ale Podgoriei sunt: Huși, Averești și Bohotin.

Centrul Viticol Huși își are plaiurile dispuse compact în potcoava marelui amfiteatru al bazinului pârâului cu același nume, amfiteatru ce domină orașul dinspre nord

(Turbata, Corni, Dric, continuate cu Epureni, Novaci, Duda) dinspre sud (cu plaiurile Ogradă, Coțoi, Schit, Drăslăvăț, Ochiuri), dinspre vest (Dobrina, Saca, Șara, Rotundoaia) și dinspre sud-est (Voloseni). Tot spre acest mare centru mai gravitează și plaiurile Rusca, Pădureni, Văleni, Stăniliești și Lunca Banului, situate în afara limitei sudice a Depresiunii Huși.

Centrul Viticol Averești cuprinde plaiul cu același nume, situat pe platoul interfluvial de la vest, precum și plaiurile Pâhnești, Arsura, Ghermănești din nordul depresiunii și reprezintă centrul viticol cu cea mai mare altitudine (241 m) din podgoria Huși, fiind recunoscut pentru obținerea unor vinuri cu aciditate titrabilă ridicată [152].

3.1.1.3. Relieful

Este reprezentat prin Depresiunea Huși, încadrată la nord de Dealurile Ghermănești, la vest de Dealurile Crasnei și Lohanului, la sud de Dealurile Fălciului și la est de valea Prutului. Din punct de vedere geomorfologic, se pun în contact două subunități distincte: una deluroasă în jur de 300 m altitudine absolută și una colinară depresionară cu o medie altitudinală de 150 m, albia Prutului din sectorul în discuție, coborând insesizabil de la 29 m la 22 m altitudine absolută.

3.1.1.4. Rețeaua hidrografică

Este reprezentată de râul Bârlad, care traversează prin Crasna și Lohan din zona deluroasă vestică – văi cu scurgeri permanente dar cu debite modeste și oscilante în timpul anului – și râul Prut prin totalitatea pâraielor ce drenează Depresiunea Hușului, între care mai mari și aproape permanente sunt Valea Grecului-Gura Văilor, ce colectează toate pâraiele semipermanente (Voloseni, Huși unit cu Recea și Valea lui Ivan) din sud-vestul depresiunii, și pâraul Șopârleni (cu Ruginosu și Barahoi) care, împreună cu micile pâraie temporare Barboși, Luncani și Valea Lupului, drenează partea de nord-est a acesteia. De remarcat sunt debitele reduse ale văilor depresiunii, dar extrem de variabile sezonier sau episodic (de la inundații până la secare). Din acest motiv, s-a simțit nevoia amenajării a numeroase iazuri în trecut, dintre care puține se mai păstrează în prezent (Benți, Galbena) și care împreună cu bălțile din Lunca Prutului (Teascu, Sula Mare, Grosu-Șerpoaia) completează tabloul apelor de suprafață [150].

3.1.1.5. Clima

După Olteanu ș.a., 2003, condițiile climatice ale ecosistemului viticol Huși sunt specifici climatului continental din estul Carpaților: numărul zilelor din perioada de vegetație este în medie de 212; suma gradelor de temperatură este de 3363 °C; nivelul precipitațiilor medii este de 523 mm (Huși) [147]; indicele heliotermic 1,92–2,10; coeficientul hidrotermic 0,86–1,04; indicele bioclimatic 7,71–9,84; indicele aptitudinii oenoclimatice 4,55–4,70.

3.1.1.6. Vegetația

Constă în etajele de stepă, silvostepă, pădure de foioase impuse de relief, dinspre valea Prutului spre dealurile ramei înalte, cu mențiunea că în primele două etaje se conservă doar câteva enclave de vegetație spontană, și acelea intens degradate antropo-zoogen, în timp ce, în etajul forestier al dealurilor peste circa 250 m, pădurile încă mai acoperă 30-40% din suprafață.

3.1.1.7. Substratul litologic din Depresiunea Huși este constituit din sedimente ale sarmațianului mijlociu (basarabian) și superior (chersonian), alcătuite din argile și marne, argile nisipoase și nisipuri, cu intercalații de gresii calcaroase și calcare oolitice, iar pe dealurile înalte din vestul și sudul acesteia, sarmațianul este acoperit de faciesul nisipos (cu intercalații de argile nisipoase și gresii dure) al meoticului.

3.1.1.8. Solurile

Formează un înveliș destul de variat tipologic, fiind distribuite zonal în funcție de altitudine, de la molisurile stepei și silvostepi (cernoziomuri, cernoziomuri levigate, soluri cenușii) la argiluviosolurile etajului forestier (soluri brune, brune podzolite și, insular, chiar soluri podzolice). Aceste soluri zonale sunt asociate cu/sau înlocuite de diverse soluri intrazonale (regosoluri–erodisoluri, rendzine, soluri aluviale, hidromorfe și halomorfe). Nu toate aceste soluri au valențe viticole ridicate, unele fiind chiar inadecvate pentru această cultură (halomorfe, hidromorfe, podzolice), iar altele (cernoziomurile stepei de pe terasele și colinele joase ale depresiunii), deși pedologic valoroase pentru vița de vie, sunt preferate pentru culturi cerealiere. Prin urmare, în aria podgoriei Huși rămân dominante cernoziomurile levigate, solurile cenușii și regosolurile–erodisolurile [150].

3.1.1.9. Direcții de producție

În Centrele Viticole Huși, Averești și Bohotin, direcția principală este reprezentată de obținerea vinurilor aromate din soiul Busuioacă de Bohotin. În Centrele Viticole Vutcani și Murgeni în principal se cultivă soiuri pentru obținerea vinurilor roșii de calitate superioară din soiurile Cabernet Sauvignon (recomandate), Fetească Neagră, Pinot noir și Merlot (autorizate).

Pentru obținerea vinurilor albe de calitate superioară se cultivă Sauvignon și Fetească albă în toate Centrele Viticole, la care se adaugă soiul Pinot gris la Huși, Averești și Bohotin. Vinurile albe de consum curent se obțin din Fetească regală, Aligote și Zghihară de Huși (autorizate), ultimele două soiuri fiind autorizate și pentru obținerea distilatelor de vin. Soiurile de struguri pentru masă cultivate în cele 5 Centre Viticole sunt Coarnă neagră selecționată, Chasselas doré (recomandat) și Muscat de Hamburg (autorizate) [152].

În concluzie, Podgoria Huși nu este o creație întâmplătoare. Ea este rezultatul unor condiții ecologice favorizante, conjugate cu necesitatea social-economică de valorificare superioară a unor terenuri improprii, sau cu redusă eficiență pentru alte culturi, și cu abnegația unor viticultori de înaltă calificare și clarviziune [29].

3.1.2. DESCRIEREA SOIULUI BUSUIOACĂ DE BOHOTIN

3.1.2.1. Originea soiului Busuioacă de Bohotin

În România, producția vinurilor aromate este reprezentată de soiurile Muscat Ottonel, Tămâioasă românească și Busuioacă de Bohotin.

Busuioaca de Bohotin este un soi de viță de vie autohton care se regăsește pe o suprafață de peste aproximativ 200 hectare. Există diferite teorii asupra originii acestui soi:

- ✓ originea românească este dovedită prin numele comunei Bohotin asociat cu denumirea soiului;
- ✓ a fost adusă din Grecia Antică împreună cu soiul Tămâioasă românească;

- ✓ provine din soiul francez Muscat Rouge de Frontignan;
- ✓ este rezultatul selecției empirice din cadrul vițelor de vie sălbatice prezente de-a lungul Prutului;

Bernaz ș.a., 1937 menționează că „...originea busuioacelor este discutabilă încă...Totuși, fiind perfect aclimatizate condițiilor naturale de la noi, putem spune că e una din varietățile sortimentului nostru românesc..”. Din punct de vedere al zonării se menționează că „este răspândit mai cu seamă în părțile Moldovei..”

Cu privire la numele soiului Busuioacă de Bohotin, prima mărturie asupra lui o găsim în notările lui Dimitrie Cantemir, care precizează, printre altele: “...prin trecerea anilor culoarea devine tot mai osebită de alte vinuri..” [161].

Hașdeu, 1884, scrie: “..felurile de poamă de prin părțile Hușilor sînt : Ghihara (Zghihara de Huși, n.n) Frencheșă (Frâncușă, n.n), Bălaia (Plăvaia, n.n), Busuioaca neagră (Busuioaca vînată de Bohotin n.n), Busuioaca albă (Busuioacă albă de Moldova sau Tămâioasă românească, n.n), Busuioacă roză (Busuioacă roză de Moldova, n.n)...”.

Constantin Hogaș a identificat acest soi în ograda unui cetățean din comuna Bohotin iar prima denumire a acestui soi a fost Busuioacă de Bohotin Huși deoarece acesta se regăsea cu preponderență în regiunea viticolă Huși [80-81].

Cotea D.V. ș.a., 1967 arată că „..Busuioaca de Bohotin, până la invazia filoxerei, constituia unul din principatele soiuri cultivate în Podgoria și centrele viticole din sectorul de est al dealurilor Bîrladului și Tutovei (Huși, Pîhnești, Averești, Ghermănești, Arsura, Răducăneni, Bohotin)”.

De la identificarea acestui soi și denumirea acestuia drept Busuioacă de Bohotin s-au realizat numeroase studii care au vizat atât aspectele agrobiologice cât și tehnologice [25-28; 33; 35; 36; 37-38; 118-119; 147; 172; 173; 202; 203; 226-227].

Într-un studiu recent, Popescu Carmen Florentina ș.a, 2017 [170] au cercetat originea genetică a mai multor soiuri autohtone, printre care și soiurile Busuioacă de Bohotin și Tămâioasă românească. Deși profilul SSR (Simple Sequence Repeat) al soiului Busuioacă de Bohotin corespundea cu „*Muscat blanc à petits grains*”, culoarea roșie și descrierea ampelografică a evidențiat că este foarte similar cu soiul „*Muscat Rouge à Petits Grains*”, ajungând la concluzia că este varianta somatică roșie a soiului „*Muscat Blanc à Petits Grains*”. În privința soiului Tămâioasă românească, aceași autori au considerat ca fiind identic cu „*Muscat blanc à petits grains*” fiind prevăzut și în „Lista Internațională a Soiurilor de Viță de vie și Sinonimele lor” (OIV 2013) . În plus, „Tămâioasa românească” din colecția de viță de vie a Universității Craiova, genotipată de către Žulj ș.a., 2013 [257] a corespuns profilului genetic „*Muscat Blanc à Petits Grains*”, ceea ce a dus la presupunerea că „Tămâioasa românească” descrisă perfect de Constantinescu ș.a., 1960 [33] este într-adevăr „*Muscat Blanc à Petits Grains*”.

În timp ce „*Muscat Rouge à Petits Grains*” reprezintă varianta somatică roșie a soiului „*Muscat Blanc à Petits Grains*” și corespunde cu soiul „Busuioacă de Bohotin” (Busuioacă vînată de Bohotin), „*Muscat Rose à Petits Grains*” este considerat ca fiind un soi care a rezultat dintr-o mutație a culorii din soiul „*Muscat Rouge à Petits Grains*” sau „*Muscat Blanc à Petits Grains*” și corespunde cu biotipul roz al soiului Busuioacă de Bohotin (Busuioacă roză de Moldova).

Denumirea soiului „*Muscat Blanc a Petitis Grains*” provine de la dimensiunile mai mici ale boabelor și face parte din Varietatea *Muscat* a speciei *Vitis vinifera*, fiind considerat unul din cele mai vechi soiuri de *Muscat*. În timp ce „petits grains” este numele care descrie corect dimensiunile mici ale boabelor de struguri, unii experți în vin cum este Oz Clarke crede că termenul „*Muscat Blanc*” induce în eroare din moment ce acest soi de viță de vie este renumit pentru mutațiile frecvente de culoare. În unele Podgorii, vițele de vie de „*Muscat blanc a petits grains*” sunt cunoscute pentru producerea de struguri de diferite culori care se modifică după fiecare an [34].

Acest lucru nu este surprinzător, deoarece mutația culorii pielii este destul de comună la struguri și la alte fructe. O mutație a culorii pielii apare de obicei ca o mutație competitivă iar acest lucru face destul de dificilă identificarea diferențelor în profilul markerilor dintre noul genotip și cel inițial, dacă este evaluată o cantitate mică de material genetic; mai mult decât atât, dacă se realizează o evaluare intensă aleatorie a genomului, de exemplu cu markerii AFLP (Amplified Fragment Length Polymorfism) ar putea conduce la rezultate destul de descurajatoare [201].

Acest soi vechi grecesc a fost adus probabil de către romani în Franța [58; 67] și s-a numit „*Muscat de Frontignan*” sau „*Muscat Blanc a Petits Grains*”. Prin urmare, se poate spune că soiul Busuioacă de Bohotin își are originile în Grecia antică, iar legătura cu soiul *Muscat de Frontignan* se datorează precursorului principal.

Deosebirea exterioară între Busuioaca albă de Moldova (Tămâioasă românească–*Muscat Blanc a Petitis Grains*), Busuioaca roză de Moldova (*Muscat Rose à Petits grains*) și Busuioaca vânăta de Bohotin (*Muscat Rouge à Petits Grains*), constă în culoarea bobitelor care, la cea dintâi sunt albe-rumene spre ruginiu când ajung la maturitatea deplină; Busuioaca roză are boabele de culoare roz, însă mult mai închisă decât *Muscatul Rouge de Frontignan*, iar Busuioaca vânăta de Bohotin are o culoare vânăta, violacee spre violet-negru; toate au miezul necolorat. Vinurile obținute din acestea prezintă o culoare roz pentru Busuioaca vânăta de Bohotin iar vinul de Busuioacă roz prezintă o culoare ruginie bătând în maroniu în timp ce *Muscatul violet de Frontignan* are o culoare și mai deschisă, conducând la obținerea unui vin aproape de galben-ruginiu.

3.1.2.2. Caracterizarea generală a soiului Busuioacă de Bohotin

Sinonime: *Muscat rouge de Frontignan*, *Schwarzer Muscat*, *Muscat violet cyperus*, *Muscat fioletovi*.

3.1.2.2.1. Caractere morfologice

Rozeta este de culoare verde-deschis cu nuanță liliachie și scămoasă. **Vârful lăstarului** este verde-gălbui și pufos. **Lăstarul** este verde cu striuri roșietice și scămos. **Inflorescența** prezintă o formă cilindro-conică, de mărime mijlocie. **Floarea** este hermafrodită normală de tipul 5, uneori cu abateri către tipul 6 sau 7 iar ovarul este de culoare verde, cu 2–3 loji și 4–6 ovule. **Cârceii** sunt verzi.

Frunza adultă este mijlocie și prezintă 3–5 lobi cu scame rare pe fața inferioară, existente mai ales pe nervuri. **Sinusul pețioar** este uneori închis prin suprapunerea lobilor, alteori în formă de liră iar **sinusurile laterale** superioare sunt înguste cu lumen elipsoidal. Liziera este specifică și este formată din **dinți** cu margini drepte, cu mucroni de culoare

gălbuie. **Nervurile** sunt verzi și spre bază prezintă o colorație ușor roșietică iar **petiolul** este roșietic, mai scurt decât nervura mediană.

Strugurele este cilindric și foarte compact. **Bobul** este sferic, mijlociu, cu pielea colorată violet închis cu nuanțe vineții-negre iar miezul este necolorat, crocant și cu o aromă puternică de muscat. **Sămânța** are în medie 3 mm lățime și 6 mm lungime, de culoare cafenie deschisă, cu șalaza ovală, proeminentă și rostrul subțire, rețezat oblic.



Figura nr. 3.1 Soiul Busuioacă de Bohotin (<http://www.revino.ro>)

Figure no. 3.1 Busuioacă de Bohotin varietă

3.1.2.2.2. Însușiri agrobiologice

În comparație cu soiul Tămâioasă românească (soiul înrudit), care el însuși are plasticitate ecologică limitată, Busuioaca de Bohotin este un soi cu cerințe și mai restrictive față de factorii ecologici. Maturarea strugurilor este în epoca a IV-a, având perioadă mijlocie de vegetație (170–175 de zile), prezentând mari aptitudini de supramaturare (258 g/L zaharuri în must), vigoare mai slabă de creștere și fertilitate mai mare, 65% lăstari fertili, valorile celor doi coeficienți de fertilitate fiind cuprinse între 1,0–1,23 cel absolut și 0,3–0,6 cel relativ. Din punct de vedere al rezistențelor biologice, soiul Busuioacă de Bohotin este și mai sensibil, prezentând o sensibilitate mai mare la boli și dăunători.

3.1.2.2.3. Zonare

Arealul de răspândire al acestui soi este limitat, el regăsindu-se în sortimentul următoarelor Centre Viticole: Bohotin din județul Iași, Huși și Averești din județul Vaslui, Pietroasa din județul Buzău și Tohani din județul Prahova [59; 150], fiind cultivată în ultimii ani și în Podgoria Cotnari.

3.1.2.2.4. Variații și clone

Datorită interacțiunii dintre genotip și mediu apare ca o populație eterogenă, cu diverse biotipuri care diferă prin caracteristicile lor fenotipice, agrobiologice și tehnologice [172].

Potrivit Catalogului oficial al soiurilor de plante de cultură din România pentru anul 2013, sunt admise în cultură următoarele trei clone pentru soiul Busuioacă de Bohotin, și

anume: Busuioacă de Bohotin 5 Iș. (înregistrată în anul 2004), Busuioacă de Bohotin 9 Cot. (înregistrată în anul 2009) și Busuioacă de Bohotin 26 Pt. (înregistrată în anul 2000).

3.1.2.2.5. Caracterizarea tehnologică a soiului Busuioacă de Bohotin

Din punct de vedere al însușirile agrotehnice și tehnologice soiul este adaptat condițiilor ecoclimatice din N-E Moldovei (Bohotin), cele mai bune rezultate obținându-se pe terenurile în pantă, cu expoziție sudică, însorite, cu fertilitate mijlocie [174]. Se obțin rezultate bune la conducerea pe semitulpină, cordon bilateral, cu tăiere în verigi de rod (cepișicordite), sarcina de rod fiind de 16–18 ochi/m². Producția medie cât și cea maximă se situează sub cele ale soiului Tămâioasă românească (în medie 7–9 t/ha).

La maturarea deplină soiul acumulează 185–200 g/L zaharuri și nu are capacitate prea mare de supramaturare, rareori depășind 230–240 g/L iar aciditate totală a acestui soi este echilibrată, fiind cuprinsă între 4–5 g/L H₂SO₄. Din punct de vedere al substanțelor colorante, se acumulează cantități mici de antociani în pielețe și de aceea, vinurile au o culoare roșie vineție, cu nuanțe cărămizii, aromă specifică și zaharuri reziduale, culoarea rămânând însă deficitară. În tabelul 3.2 sunt prezentate principalele caracteristici agrobiologice și tehnologice ale soiului Busuioacă de Bohotin.

Tabelul nr. 3.2/Table no. 3.2

Principalele caractere agrobiologice și tehnologice ale soiului Busuioacă de Bohotin

The main agrobiological and technological characteristics of the Busuioacă de Bohotin variety

Specificație	Bohotin (1)	Iași (2)	Clona – 5 Iș (3)
Coeficient de fertilitate absolut	1,0	1,23	1,0
Coeficient de fertilitate relativ	0,35	0,60	0,86
Greutatea medie a unui strugure (g)	209	155	180
Indicele de productivitate absolut	209	190,7	180
Indicele de productivitate relativ	73	93	155
Greutatea a 100 boabe (g)	208	217	235
Conținutul mustului în zahăr (g/L)	209	188,7	201
Aciditatea totală (g/L H ₂ SO ₄)	6,41	5,1	5,6
Producția de struguri (t/ha)	13,2	2,61 (kg/but.)	18,8

(1) - Gh. Calistru și Doina Damian, 1988; (2) - Liliana Rotaru, 2000; (3) - Damian Doina, Calistru Gh., 2004.

3.1.3. PROVENIENȚA MATERIALULUI DE CERCETARE UTILIZAT ȘI DESCRIEREA PROTOCOLULUI EXPERIMENTAL

La realizarea studiului compușilor fenolici și volatili din vinul Busuioacă de Bohotin în vederea stabilirii tipicității soiului s-au utilizat două biotipuri ale soiului Busuioacă de Bohotin, biotipul roz (fig.3.2.) și respectiv biotipul vânat (fig. 3.3.). Cele două biotipuri au fost recoltate din Podgoria Huși dar din centre viticole diferite, respectiv centrul viticol Huși (pentru biotipul roz și vânat) și centrul viticol Averești (pentru biotipul vânat).



Figura nr. 3.2. Biotipul roz al soiului Busuioacă de Bohotin (original)
Figure no. 3.2. Pink Biotype of Busuioacă de Bohotin variety (original)



Figura nr. 3.3. Biotipul vânat al soiului Busuioacă de Bohotin (original)
Figure no. 3.3. Dark violet Biotype of Busuioacă de Bohotin variety (original)

Strugurii recoltați din cele două Centre Viticole au fost transportați în incinta Stațiunii Didactice și Experimentale „Vasile Adamachi” din Iași, în cadrul căreia s-a realizat vinificația. S-a procedat la recepția cantitativă și sortarea manuală a acestora, realizându-se astfel o separare cât mai clară a celor două biotipuri și eliminarea eventualelor impurități.

Este important de menționat că în urma etapei de zdrobire-desciorchinare a strugurilor, mustuiala rezultată a fost omogenizată și transferată în recipientele din plastic în cadrul cărora s-au realizat variantele tehnologice abordate în acest studiu. Această operație a fost efectuată cu scopul obținerii unor probe cât mai reprezentative și care să nu prezinte variații în ceea ce privește compoziția fizico-chimică a mustuielii.

Pentru obținerea vinurilor de Busuioacă de Bohotin studiate s-a aplicat etapa de macerare, specifică tehnologiei de producere a vinurilor roșii, roze precum și a celor aromate, iar durata de macerare pentru toate variantele a fost de șapte zile.

Cu toate că nu există o tehnologie generală specifică vinurilor roze din cauza numărului mare de soiuri și diversității tehnicilor de vinificație, pentru soiurile cu pielea boabelor colorate în roz, durata de macerare este de obicei pentru o perioadă mai scurtă de timp, maxim două–trei zile. Motivația principală care a stat la baza modificării perioadei de macerare a constat în faptul că la obținerea vinurilor de Busuioacă de Bohotin s-a utilizat și o variație genetică a soiului (biotipul roz), care se caracterizează printr-o colorație mai deschisă a pielii bobitelor, având implicit un conținut mai scăzut în antociani și, probabil, și în alți compuși fenolici. Din aceste considerente, s-a urmărit o extracție cât mai bună a compușilor fenolici pentru creșterea probabilității de identificare a acestora prin metode fizico–chimice și utilizarea acestora în diferențierea și clasificarea celor două biotipuri. De asemenea, aplicarea aceleiași durate de macerare (șapte zile) la toate tehnicile de macerare experimentate, s-a efectuat cu scopul eliminării timpului ca variabilă ce poate influența calitativ și cantitativ compușii fenolici și volatili identificați.

Astfel, la obținerea probelor de vinuri de Busuioacă de Bohotin studiate s-au aplicat șapte variante de macerare:

- macerare-fermentare (V0;V1);
- termomacerare (V2);
- macerare cu microunde (V3);
- macerare cu ultrasunete (V4);
- criomacerare (V5);
- criomacerare + microunde (V6);
- macerație carbonică (V7).

Durata de macerare pentru toate variantele a fost de șapte zile, la care s-au adăugat enzimele pectolitice Zymovarietal Aroma G[®] (2–3 g/100 kg/L mustuială/must) și levurile Fermactive Rouge Primeur[®] (10–20 g/hL must).

Enzimele pectolitice Zymovarietal Aroma G[®] și levurile Fermactive Rouge Primeur[®] sunt utilizate pentru valorificarea potențialului aromatic al soiului prin eliberarea aromelor varietale din precursorii acestora.

Pentru variantele de macerare la care a fost necesară utilizarea strugurilor întregi (criomacerare, criomacerare+microunde, macerație carbonică), s-au selectat strugurii care prezentau o bună integritate a boabelor.

3.1.3.1. Varianta 0 – Proba Martor- S-a aplicat tehnologia clasică de macerare peliculară (pe boștină) în care strugurii au fost desciorchinați și zdrobiți, iar mustuiala rezultată a fost introdusă în recipiente din plastic cu un volum de 30 de litri. Durata de macerare a mustuielii a fost de șapte zile, efectuându-se pe parcursul acestei perioade scufundarea căciulii boștinei de 3 ori pe zi pentru o durată de 15 minute, în vederea uniformizării macerării (temperatura de fermentație și raportul dintre must și boștină). La această variantă de macerare nu s-au adăugat enzime și levuri, ea constituind și proba martor față de care s-au raportat celelalte tehnici de macerare.

3.1.3.2. Varianta 1 – Macerare-fermentare. Această variantă de macerare este similară cu proba martor (varianta 0) în care singura excepție a constat în adăugarea enzimelor pectolitice Zymovarietal Aroma G® și însămânțarea levurilor Fermactive Rouge Primeur®.

3.1.3.3. Varianta 2 – Termomacerare. Mustuiala rezultată în urma zdrobirii și desciorchinării strugurilor a fost introdusă într-un recipient din plastic și s-a separat pe cale gravitațională 2/3 din mustul ravac. În continuare, acest must a fost încălzit la temperatura de 70 °C și omogenizat cu restul de mustuială rămasă în recipient. După ce s-a realizat răcirea mustuielii la temperatura de aproximativ 20 °C în întreaga masă, s-au adăugat enzimele pectolitice Zymovarietal Aroma G® în doze de 3 g/100 kg/mustuială și s-a însămânțat cu levurile Fermactive Rouge Primeur® în doze 20 g/hL must. Pe parcursul celor șapte zile de macerație s-a efectuat remontarea mustului timp de 15 minute de 3 ori pe zi.

3.1.3.4. Varianta 3 – Macerare cu microunde. Pentru această variantă de macerare s-a utilizat un cuptor de microunde marca Whirlpool®, modelul JT358/WH (fig. 3.4). Mustuiala rezultată a fost iradiată cu microunde la o putere de 750 de W timp de 15 minute și omogenizată din 3 în 3 minute pentru uniformizarea temperaturii din masa mustuielii. După 15 minute de iradiere, mustuiala a fost încălzită la o temperatură medie de aproximativ 60 °C. Adaosul de enzime și însămânțarea cu levuri s-a realizat după ce mustuiala încălzită a ajuns la temperatura mediului ambiant, fiind urmat de remontarea mustului (timp de 15 minute de 3 ori pe zi) pe parcursul celor șapte zile.



Figura nr. 3.4. Cuptor cu microunde Whirlpool®, modelul JT358/WH (original)
Figure no. 3.4. Whirlpool® microwave oven, model JT358 / WH (original)

3.1.3.5. Varianta 4 – Macerarea cu ultrasunete. S-a efectuat cu ajutorul unei băi de ultrasunete (fig. 3.5.) marca Bandelin Sonorex®, model RK 1028, frecvența 35 kHz, puterea 2000 W, volumul 11 L. Mustuiala a fost tratată cu ultrasunete la o frecvență de 35 kHz pentru o durată de 30 de minute. Datorită fenomenului specific de cavitație al ultrasunetelor, pereții celulari ai strugurilor sunt distruși, favorizându-se astfel extracția sucului celular. După cele 30 de minute de macerare cu ultrasunete, s-au adăugat enzimele pectolitice Zymovarietal Aroma G® în doze de 3 g/100 kg/mustuială și s-a însămânțat cu levurile Fermactive Rouge Primeur® în doze 20 g/hL must, fiind lăsată ulterior pentru o perioadă de șapte zile la macerat, timp în care s-a realizat și remontarea mustului.



Figura nr. 3.5. Baie de ultrasunete Bandelin Sonorex®, modelul RK 1028 (original)
Figure no. 3.5. Bandelin Sonorex® ultrasonic bath, model RK 1028 (original)

3.1.3.6. Varianta 5 – Criomacerare. Strugurii întregi de Busuioacă de Bohotin au fost supuși procesului de congelare la o temperatură de -20°C timp de 24 de ore prin introducerea acestora într-un congelator (fig.3.6). Viteza de congelarea a strugurilor întregi a fost lentă, favorizându-se formarea cristalelor mari de gheață și contribuind la distrugerea pereților celulari din bobitele strugurilor, realizându-se astfel o creștere a randamentului de extracție a sucului celular și eliberarea compușilor chimici specifici.

În urma procesului de congelare, strugurii întregi congelați au fost desciorcinați manual și zdrobiți cu ajutorul unui zdrobitor-desciorchinător. Desciorchinarea strugurilor congelați s-a realizat manual pentru a se evita distrugerea rahisului și integrarea acestuia în mustuiala rezultată.

Mustuiala congelată rezultată în urma zdrobirii (fig. 3.7.) a fost introdusă în recipiente din material plastic în vederea realizării macerării. Adaosul de enzime și însămânțarea cu levuri s-a efectuat după termostatarea mustuiei la 20°C , temperatura inițială a acesteia fiind de -5°C .



Figura nr. 3.6. Struguri de Busuioacă de Bohotin congelați (original)
Figure no. 3.6. Frozen Busuioacă de Bohotin grapes (original)

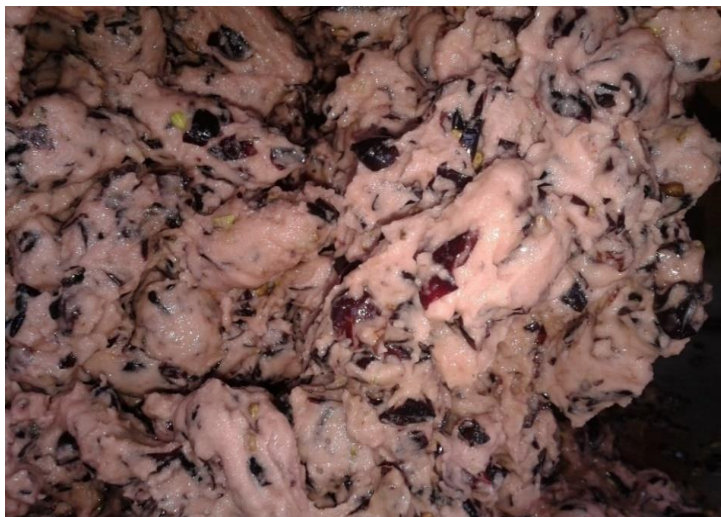


Figura nr. 3.7. Mustuiala congelată de Busuioacă de Bohotin rezultată în urma zdrobirii (original)
Figure no. 3.7. Frozen must of Busuioacă de Bohotin rezultated after crushing (original)

3.1.3.7. Varianta 6 – Criomacerare + Microunde. Această tehnică de macerare se bazează pe cuplarea a două metode de macerare: criomacerare și respectiv macerarea cu microunde. Într-o primă etapă s-a realizat criomacerarea, în care strugurii întregi au fost congelați lent la -20°C timp de 24 de ore. În urma desciorchinării manuale și zdrobirii bobițelor congelate a rezultat mustuiala congelată, ce a fost termostatată la temperatura de -5°C . În cea de-a doua etapă, s-a aplicat metoda macerării cu microunde în care mustuiala congelată (-5°C) a fost iradiată cu microunde la o putere de 750 W timp 15 minute, în acest timp mustuiala fiind omogenizată din 3 în 3 minute pentru uniformizarea temperaturii. În urma aplicării tratamentului cu microunde, temperatura mustuielii congelate a crescut de la -5°C la $+40^{\circ}\text{C}$.

Prin aplicarea acestei variante de macerare s-a urmărit realizarea unui șoc termic, pentru favorizarea distrugerii pereților celulari și a extracției compușilor chimici din pielețele boabelor de struguri. Însămânțarea cu levuri și adaosul de enzime s-a efectuat după ce mustuiala a ajuns la temperatura de 20°C .

3.1.3.8. Varianta 7 – Macerația carbonică. Această metodă de macerare s-a realizat prin introducerea strugurilor întregi, nezdobiți într-un recipient cu volumul de 30 L la care s-a adăugat un grătar din plastic (fig. 3.8.) situat la o înălțime de aproximativ 10 centimetri față de baza vasului. În primul rând, s-a introdus mustul (obținut din același biotip al soiului de Busuioacă de Bohotin) la partea inferioară a vasului și a fost inoculat cu o maia de levuri pentru a se realiza declanșarea mai rapidă a fermentației alcoolice. Strugurii întregi au fost așezați pe grătarul din interiorul vasului din plastic (fig. 3.9), după care acesta a fost închis cu ajutorul unui capac cu filet pentru etanșeizarea recipientului. Macerația carbonică a strugurilor a avut loc în atmosfera dioxidului de carbon eliminat din procesul fermentației alcoolice a mustului aflat la partea inferioară a recipientului.



Figura nr. 3.8. Recipient din plastic cu grilaj pentru realizarea macerației carbonice (original)
Figure no.3.8. Plastic container with grid for carbonic maceration (original)

După cele șapte zile de macerare, mustuiala și respectiv strugurii întregi (pentru varianta la care s-a aplicat macerația carbonică) au fost presați utilizând o presă hidraulică (fig. 3.10.). Mustul ravac rezultat din separarea pe cale gravitațională și cel obținut de la presă au fost introduse în vase de sticlă (damigene) pentru desăvârșirea fermentației alcoolice, asigurându-se un gol de fermentare de 15–20%. Fermentația alcoolică a avut loc la o temperatură constantă de aproximativ 20 °C, vasele din sticlă fiind amplasate într-un spațiu răcoros.

După finalizarea procesului de fermentație alcoolică, s-a efectuat filtrarea vinurilor cu ajutorul unui filtru cu plăci Grifo® (fig. 3.11.) la care s-au utilizat plăci filtrante din fibre de celuloză cu efect de sterilizare la rece (SA 995-Sodinal®).



Figura nr. 3.9. Struguri întregi introduși pe grătarul din plastic (original)
Figure no. 3.9. Whole grapes placed on plastic grid (original)

Vinurile filtrate au fost îmbuteliate prin transvazarea acestora din vasele din sticlă (damigene) în butelii din sticlă cu volumul de 0,75 L și sulfatate cu o soluție lichidă de dioxid de sulf în concentrație de 6 % (1 mL la 0,75 L). După operația de sulfitare, buteliile

au fost dopuite semiautomat cu un dispozitiv Mini T.S.[®] și depozitate într-un spațiu care a asigurat o temperatură constantă de 10 °C (beciul „Vasile Adamachi”).



Figura nr. 3.10. Presă hidraulică cu burdof din cauciuc folosită în microvinificație (original)
Figure no. 3.10. Hydraulic press with rubber bag used in micro-winemaking (original)

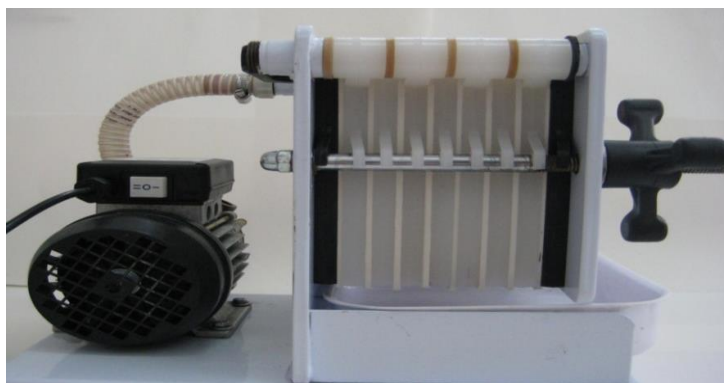


Figura nr. 3.11. Filtru cu plăci Griffo[®] de capacitate mică utilizat în microvinificație (original)
Figure no. 3.11. Low capacity Griffo[®] plate filter used in micro wine-making (original)

3.2. METODELE DE CERCETARE UTILIZATE ÎN REALIZAREA STUDIULUI

3.2.1. Metode fizico-chimice de determinare a principalilor parametri de compoziție ai vinurilor

Pentru determinarea principalilor parametri de compoziție, vinurile de Busuioacă de Bohotin au fost în prealabil filtrate (cu hârtie de filtru) și decarbonatate.

3.2.1.1. Determinarea SO_2 liber și total (Metoda OIV-MA-AS323-04B)

Dioxidul de sulf liber se titrează cu iod în mediu acid în prezență de amidon ca indicator, iar dioxidul de sulf combinat este dozat în continuare prin titrare iodometrică, după tratarea cu hidroxid de sodiu și acid sulfuric.

3.2.1.2. Determinarea acidității volatile (Metoda OIV-MA AS313-02)

Aciditatea volatilă a vinurilor este dată de acizii din seria alifatică prezenți în stare liberă sau combinată și se determină prin antrenarea cu vapori de apă a acizilor volatili din vinul acidulat cu acid tartric urmată de titrarea distilatului obținut cu o soluție standard de hidroxid de sodiu, în prezența fenolftaleinei ca indicator.

3.2.1.3. Determinarea acidității totale (Metoda OIV-MA-AS313-01)

După eliminarea prealabilă a CO_2 , aciditatea totală se determină prin neutralizarea titrimetrică a probei de vin cu o soluție de NaOH de normalitate și factor cunoscut, în prezența albastrului de bromtimol ca indicator.

3.2.1.4. *Determinarea densității și a greutății specifice (densitatea relativă)* (Metoda OIV-MA-AS2-01B) s-a efectuat prin metoda areometrică, utilizând un picnometru cu o precizie de $0,0003 \text{ g/cm}^3$.

3.2.1.5. Determinarea concentrației alcoolice (OIV-MA AS312-01A)

Vinul, alcalinizat cu o soluție de Na OH, s-a distilat (distilatorul Jaulmes) iar determinarea concentrației alcoolice a distilatului s-a efectuat cu ajutorul unui alcoolmetru.

3.2.1.6. *Determinarea zaharurilor reducătoare* (OIV-MA AS311-01A) prin metode chimice

După defecarea cu acetat de plumb s-a aplicat metoda iodometrică de dozare a excesului de ioni cuprici rămași după reducerea de către zaharurile reducătoare în mediu alcalin, la cald. Calculul conținutului de zaharuri reducătoare s-a efectuat pe baza tabelelor și a formulelor de calcul.

3.2.1.7. Determinarea extractului sec total (OIV-MA-AS2-03B)

Extractul sec total se calculează indirect, în funcție de greutatea specifică a vinului fără alcool. Extractul sec total este exprimat în cantitatea de sucroză care se dizolvă în apă și este adusă la un volumul de 1 L, soluția formată prezentând aceeași greutate specifică cu cea a vinului fără alcool determinat.

3.2.1.8. Determinarea extractului nereducător

Se calculează prin diferența dintre extractul sec total și conținutul total de zaharuri reducătoare.

3.2.1.9. Determinarea acidității reale (pH) și a conductivității

Determinarea pH-ului și a conductivității vinurilor studiate s-a realizat cu ajutorul echipamentului WTW® Multi 350i care a fost în prealabil calibrat.

Conductivitatea electrică (σ) [S/m] este mărimea fizică ce caracterizează un mediu/material de a permite transportul sarcinilor electrice și se calculează prin raportul dintre densitatea curentului electric din mediu/material și câmpul electric. Ca unitate de măsură, conductivitatea electrică se exprimă în S/m (Siemens per metru) iar în cazul vinurilor această mărime este de ordinul a mS/cm (milisiemens per centimetru) sau μ S/cm (microsiemens per centimetru).

3.2.2. Metode spectrofotometrice de analiză a vinurilor

La determinarea parametrilor și indicilor fizico-chimici enumerați mai jos s-a utilizat spectrofotometrul Analytic Jena® S 200.

3.2.2.1 Indicele de polifenoli totali (IPT) sau Indicele D280- este un parametru ce descrie conținutul de compuși fenolici totali (acizi fenolici, taninuri, antociani, flavone etc.) din vinuri și se bazează pe absorbția puternică a luminii ultraviolete de către nucleele benzenice, caracteristic compușilor fenolici, și care atinge un maxim de absorbție la lungimea de undă $\lambda = 275 - 280$ nm.

3.2.2.2 Indicele Folin-Ciocalteu (IFC) (Metoda OIV-MA-AS2-10) este specific numai compușilor fenolici cu proprietăți reducătoare și se bazează pe oxidarea compușilor fenolici din vin aflați într-un mediu bazic, de către reactivul Folin-Ciocalteu și formarea culorii albastre care prezintă un maxim de absorbție la 750 nm, și este proporțională cu cantitatea totală de compuși fenolici.

3.2.2.3 Determinarea conținutului total de antociani din vinuri

Metoda se bazează pe existența unui echilibru între formele colorate și formele incolore ale antocianilor aflați într-un mediu acid; conținutul în antociani se calculează prin diferențele de absorbție optică la o lungime de undă de 520 nm obținute în urma adăugării în proba de vin a două soluții tampon (pH 0,6 și 3,5) și a unei soluții alcoolice de HCl 0,1%.

3.2.2.4 Determinarea culorii vinurilor prin metoda CIE Lab76 (Metoda OIV-MA-AS2-11)

Determinarea culorii s-a realizat la spectrofotometru, utilizând cuve de sticlă cu traseul optic de 1 cm. În principiu, metoda CIE Lab76 (CIE, 1986) se bazează pe reprezentarea grafică a culorii unui vin într-un sistem cartezian ortogonal ale cărui axe de coordonate sunt chiar parametrii cromatici L (luminozitatea), a (+roșu; verde-) și b (+galben; albastru-). Acest sistem cartezian este cuprins în spațiul numit solidul culorilor CIE Lab 76.

3.2.3. Determinarea compușilor fenolici prin Cromatografie Lichidă de Întăă Performanță (HPLC)

Cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC) este o tehnică de separare care este utilizată cu succes în determinarea compușilor fenolici din plante. HPLC este o formă de cromatografie pe coloană care pompează proba de analizat într-un solvent (cunoscut ca faza mobilă) la presiune ridicată printr-o coloană cu material de umplură cromatografică (faza staționară).

Determinarea cantitativă a compușilor fenolici din probele de vin studiate s-a realizat cu un lichid cromatograf Shimadzu® seria Prominence LC20.

Sistemul de pompare al aparatului asigură furnizarea unor cantități măsurate de fază mobilă la un debit constant, fluctuațiile de presiune fiind reduse la minim. Probele de analizat au fost introduse în faza mobilă în sau în apropierea capului de coloană, folosind

un sistem bazat pe un design al valvei de injecție ce permite funcționarea la o presiune ridicată. În acest caz modul de injecție folosit a fost unul direct.

Sistemul de cromatografie de lichide tip HPLC producător Shimadzu®, seria Prominence LC20, folosit la realizarea acestui studiu este compus din:

- degazor cu cinci canale DGU-20A_{5R}® cuplat la pompă cuaternară LC-20AD®;
- auto-injector SIL-20A_{CHT}®;
- cuptor de coloane (termostat de coloană): CTO-20AC®;
- detector de tip spectrometru cu bară de diode: Nexera® X2 SPD-M30A;
- controler de sistem CBM-20A® cuplat la un sistem desktop PC prin intermediul softului LabSolution® v. 5.6.

Separarea compușilor fenolici a fost obținută prin divizarea compușilor în soluția de testare între faza mobilă și cea staționară; astfel, separarea pe coloană s-a realizat cu un amestec de solvenți:

- eluentul A: soluție de 0,1% metanol (CH₃-OH) acidulată cu acid trifloracetic (TFA) la un pH de 2,17;
- eluentul B: soluție de 50% metanol (CH₃-OH) acidulată cu acid TFA la un pH de 2,22.

La o temperatură de 20 °C, 10 μL de probă filtrată în prealabil printr-un filtru cu pori de 0,45 μm de nylon a fost injectată în sistem. Separarea s-a realizat printr-o coloană tip Phenomenex având marca Kinetex® cu următoarele caracteristici: lungime (L) × diametru interior (ID) 150 × 4,6 mm, aceasta fiind încărcată cu particule de silan grefate cu octadecil de 2,4 μm cu un volum al porilor de 96 Å și cu o capacitate de grefare de 3 μmol/m².

Din motive de siguranță coloana prezintă o precoloană de tip SecurityGuard ULTRA® cartrige UHPLC C18 pentru coloane ce au un diametru de 4,6 mm și care este conectată printr-un suport universal specific (SecurityGuard ULTRA® cartrige UHPLC columns 2.1 to 4.6 mm ID).

Particulele din coloană sunt realizate după tehnologia de tip Fused-Core®, prezentând un miez solid de silice de 1,9 μm și un strat de adsorbție de 0,35 μm, care sunt cu 85% mai eficiente cu rezoluție înaltă și contrapresiuni pe sistem scăzute.

De asemenea, este necesar să se menționeze că separarea a avut loc la o temperatură de 50 °C în cuptorul de coloană. Presiunea în sistemul de lucru a variat de la 175 la 290 bar la un debit constant de 0,85 mL/min.

Detectorul a înregistrat spectre la o rată de achiziție de 6,25 Hz pe un domeniu de lungimi de undă cuprins între 190–600 nm, acesta fiind dotat cu 512 diode și un slit (apertură sau fantă) de 8 nm. Determinarea cantitativă s-a realizat prin metoda calibrării externe pe anumite lungimi de undă specifice fiecărui compus.

3.2.4. Determinarea compușilor volatili prin Gaz–Cromatografie (GC)

Gaz-cromatografia este o tehnică de separare analitică care oferă cele mai bune rezultate în identificarea compușilor volatili, respectiv a aromelor.

În studiul de față s-a folosit un sistem HS20-GC-MS®, în care gazul purtător este reprezentat de heliu, iar materialul de adsorbție folosit pentru faza staționară este de tipul rășină de 2,6-difenilen-oxid (ITEX).

Sistemul realizează preconcentrarea compușilor volatili cu ajutorul unui robot de tip Headspace (Shimadzu® HS20 trap) iar separarea pe coloană se realizează pe un cromatograf de gaze Shimadzu® GCMS 2010 dotat în plus cu un detector de masă triplucadru pol Shimadzu® TQ 8040, la care s-a folosit doar cuadrupolul al III-lea pentru separarea ionilor.

Pentru concentrarea probelor s-a utilizat atât o metodă care preia compușii volatili din atmosfera de vapori și îi concentrază pe faza staționară, dar și o altă metodă complementară care eliberează prin dezlocuire salină (sărarea) compușii termovolatili din vin.

În cazul metodei fără sare s-au introdus 6 mL de vin într-o fiolă pentru analiza vaporilor (headspace) și s-a realizat concentrarea vaporilor conform programului ITEX®. Aceeași parametri de concentrare s-au folosit și pentru metoda cu sare (sărare – dezlocuire solvolică) doar că, în acest caz, la cei 6 mL de vin s-au mai adăugat și câte 0,8 g de NaCl, Na₂SO₄ și KH₂PO₄ pentru a favoriza eliberarea compușilor volatili.

Coloana de separare folosită este de tipul Phenomenex ZB WAXplus® de 60 m x 0,25 mm ID x 0,15 μm, aceasta fiind conținută de un cuptor la temperatură controlată capabil să mențină temperaturi ce variază de la temperatura ambiantă până la 300 °C. Pentru acest tip de cuptor se poate realiza programarea temperaturii, astfel încât să se asigure o creștere constantă a acesteia pe o perioadă de timp dată. În cazul de față, programul de lucru în cuptor a durat în total 37 de minute, atingându-se o temperatură maximă de 240 °C.

Modul de injecție a probelor de analizat a fost unul direct, asigurându-se o viteză liniară constantă a gazului purtător de 35 cm/s. Presiunea de lucru în coloană a fost de 78 kPa, iar debitul gazului purtător în coloană a fost unul constant de 1,5 mL/min.

În vederea determinării calitative și cantitative a compușilor volatili, gaz-cromatograful utilizat la separarea compușilor a fost cuplat cu un spectrofotometru de masă (detector ideal) cu care s-a realizat identificarea componentelor volatile. Principiul de funcționare al spectrometrului de masă este bazat pe interacția pe care ionii o au cu câmpuri externe de natură electrostatică și magnetică, cu geometrie precisă.

Rezultatele au fost procesate calitativ, comparându-le cu diferite baze de date MS disponibile: NIST® 14, Wiley® 10, FFNSC® și SZTERP®. Pentru rezultatele cantitative, toate probele au fost prelucrate raportându-le la standardul intern 4-metil-pentan-2-ol.

3.2.5. Analiza senzorială a vinurilor

Evaluarea senzorială reprezintă o disciplină științifică ce se ocupă cu evidențierea, cuantificarea, analiza și interpretarea reacțiilor determinate de caracteristicile vinurilor, percepute prin simțurile vizual, olfactiv, gustativ și tactil.

Analiza senzorială permite stabilirea unor legături între caracteristicile senzoriale ale vinului (culoare, miros, gust, aromă) și datele analitice obținute prin metodele fizico-chimice. Din cauza numărului mare de interferențe care pot interveni, evaluarea senzorială se realizează cu ajutorul unor subiecți instruiți în acest scop (degustători) și în condiții controlate [121].

Degustătorii sunt considerați experți în analiza senzorială a anumitor produse și sunt selectați pe baza acuității senzoriale, pentru a oferi rezultate cât mai obiective și consecvente, putând fi comparați cu instrumentele analitice de înaltă tehnologie [96]. Cu

toate acestea, deși analizele senzoriale sunt mult mai rapide în comparație cu analizele fizico-chimice, acest tip de analiză nu oferă mereu rezultate obiective, fiind influențat de o multitudine de factori, în cadrul cărora omul joacă cel mai important rol.

Tehnicile analitice senzoriale au fost utilizate și pentru a sprijini cercetările în viticultură și oenologie, având ca obiectiv major evaluarea impactului senzorial a tratamentelor viticole și oenologice asupra vinurilor obținute [175]. Analiza senzorială permite de asemenea asigurarea calității vinului, satisfacerea cerințelor consumatorilor și dezvoltarea unor noi stiluri de vinuri în funcție de preferințele acestora.

Perceperea vinului prin intermediul simțurilor umane (vizual, olfactiv, gustativ, tactil și auditiv—pentru vinurile efervescente) contribuie la stabilirea conceptului de tipicitate a vinului din perspectivă subiectivă, aparținând dimensiunii conceptuale senzoriale. Astfel, prin analiza senzorială a vinului, se poate stabili măsura în care acesta este tipic (specific) soiului din care se obține, ariei geografice în care este produs (terroir-ul) precum și dacă este caracteristic unei anumite tehnologii de vinificație care s-a aplicat la obținerea acestuia.

Vinurile de Busuioacă de Bohotin studiate au fost degustate de un grup de doisprezece specialiști. În cadrul degustării, au fost utilizate pahare cu un volum de 200 mL în formă de lălea, conform ISO.

Vinurile au fost analizate senzorial în funcție de descriptorii olfactivi și gustativi iar fiecare descriptor a fost notat pe o scară de la 0 la 9 puncte. În acest scop, s-a folosit o fișă de degustare iar notele obținute au fost centralizate și s-au calculat cu ajutorul aplicației MS Excel, media aritmetică și deviația standard a fiecărui descriptor analizat pentru fiecare vin în parte, realizându-se de asemenea și o reprezentare grafică.

CAPITOLUL IV
REZULTATELE OBȚINUTE ȘI DISCUȚII
CHAPTER IV –
RESULTS OBTAINED AND DISCUSSIONS

4.1. PRINCIPALII PARAMETRII DE COMPOZIȚIE AI MUSTURILOR ȘI VINURILOR DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR OBTINUTE

4.1.1. PRINCIPALII PARAMETRII DE COMPOZIȚIE AI MUSTURILOR DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN

Un prim pas important ce trebuie realizat pentru a obține vinuri de calitate, cu caracteristici fizico-chimice echilibrate și proprietăți senzoriale tipice soiului, constă în utilizarea unor struguri care au ajuns la o maturitate corespunzătoare.

Maturarea strugurelui cuprinde 3 etape și se bazează pe un cumul de procese de natură fiziologică și de transformări biochimice în urma cărora, un strugure verde, acid și dur este transformat într-un fruct moale și colorat, bogat în zaharuri și arome.

Într-o primă etapă a dezvoltării, denumită și faza vegetativă, strugurii posedă o activitate metabolică intensă, caracterizată prin procese respiratorii accentuate și prin acumularea rapidă a acizilor, în care prevalează acizii tartric, malic și citric. A doua etapă a creșterii este mult mai lentă, fiind denumită și faza de creștere „întârziată” în timpul căreia activitățile respiratorii și de fotosinteză sunt diminuate, existând de asemenea și o reducere a conținutului de clorofilă, bobul de strugure rămânând verde și tare. Tot în cadrul acestei faze de creștere, și mai precis către finalul acesteia, apare și începutul coacerii fructului (pârگا). Ultima etapă a creșterii corespunde cu perioada de maturare a strugurelui, în care bobul capătă o consistență moale, apare pigmentarea pielitelor, acesta ajungând la dimensiunea maximă, manifestându-se și o corelație pozitivă directă dintre numărul de semințe și dimensiunea bobului. Tot în această perioadă, procesele respiratorii scad în timp ce anumite activități enzimatice cresc brusc conducând la acumularea zaharurilor și scăderea concomitentă a acizilor, în special a acidului malic [84, p.86-87; 186, p.243-244].

Pentru stabilirea momentului optim de recoltare, pe parcursul etapelor de maturare, sunt monitorizați anumiți parametri fizico-chimici, în cadrul cărora, aciditatea totală și conținutul în zaharuri al mustului joacă un rol important în determinarea maturității tehnologice a strugurelui.

Sub aspect cantitativ, există o variabilitate considerabilă în diferenții compuși chimici care se regăsesc în boabele lui și în strugurii aflați pe diferitele zone ale butucului de viță de vie, determinate și de diferitele grade de maturare ale acestora, fiind influențată astfel compoziția fizico-chimică a mustului obținut. Din acest motiv a fost absolut necesară omogenizarea mustuielii obținute după zdrobire-desciorchinare pentru a avea o compoziție fizico-chimică cât mai reprezentativă pentru soiul ce a urmat a fi supus vinificației.

Din mustul obținut s-a prelevat o probă medie iar după filtrarea grosieră (cu pânză de tifon) și fină (cu hârtie de filtru) s-au analizat aciditatea totală și conținutul în zaharuri. Aciditatea totală a mustului a fost determinată prin metoda titrimetrică (OIV-MA-AS313-01) iar rezultatele au fost exprimate în g/L acid tartric în timp ce valorile concentrației în zaharuri au fost obținute prin metoda refractometrică (OIV-MA-AS2-02) cu ajutorul unui refractometru digital și au fost exprimate în g/L de zaharuri.

Valorile celor doi parametri evoluează în sens opus unul față de celălalt în timpul perioadei de maturare a strugurelui, începând cu pârگا și până la maturitatea deplină a

acestui, astfel încât, pe măsură ce bobul acumulează zaharuri, conținutul său în acizi se diminuează.

În tabelul nr. 4.1 sunt prezentați principalii parametri analizați ai mustului pentru strugurii care au fost utilizați în realizarea protocolului experimental și anume: aciditatea totală și concentrația în zaharuri.

Tabelul nr. 4.1/Table no. 4.1

Zaharurile și aciditatea totală a musturilor de Busuioacă de Bohotin

Sugars and Total acidity of Busuioacă de Bohotin musts

Proba	Data recoltării	Aciditatea totală g/L $C_4H_6O_6$	Zaharuri g/L
B.B.R (H)	24.09.2014	5,41	229,7
B.B.V (H)	24.09.2014	6,64	231,4
B.B.V (A)	30.09.2014	7,40	221,6
B.B.R (H)	21.09.2015	5,70	248,7
B.B.V (A)	28.09.2015	4,83	213,6

*B.B.R. (H) – Busuioacă de Bohotin Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși; B.B.V. (H) – Busuioacă de Bohotin Biotipul Vânător din Centrul Viticol Huși; B.B.V. (A) – Busuioacă de Bohotin Biotipul Vânător din Centrul Viticol Averești

Aciditatea mustului reprezintă un element de mare importanță oenologică și este constituit în principal din 3 acizi: acidul tartric, malic și citric, fiind prezenți sub forme de urme și acizii implicați în metabolismul strugurelui precum acidul piruvic, acidul α -cetoglutamic, oxalic, fumaric, galacturonic, shikimic etc. Valorile acidității mustului pot varia de la 4,5 la 15 g/L exprimat în acid tartric și depind de soi, terroir, condițiile climatice anuale și stadiul de maturitate al strugurelui.

Analizând tabelul 4.1 se poate observa că musturile rezultate din strugurii de Busuioacă de Bohotin au înregistrat valori ale acidității cuprinse între 5,41 g/L acid tartric pentru biotipul roz (B.B.R) și 6,64 g/L pentru biotipul vânător (B.B.V), ambele biotipuri provenind din Centrul Viticol Huși (H). Cea mai mare valoare a acidității totale a fost determinată în cazul biotipului vânător recoltat din Centrul Viticol Averești (A), înregistrând 7,40 g/L de acid tartric.

În anul 2015, aciditatea totală a variat de la 5,70 g/L – BBR (H) la 4,84 g/L pentru mustul obținut din biotipul vânător – BBV(A), reprezentând de asemenea și cea mai mică valoare a acidității mustului din cei doi ani.

Principalele zaharuri acumulate în bobul de strugure în timpul maturării acestuia sunt reprezentate de glucoză și fructoză, aflate în proporții aproape egale la maturitate deplină. Zaharoza este prezentă în strugure doar sub formă de urme și reprezintă o formă intermediară a zaharurilor ce migrează din frunze în urma procesului de fotosinteză, fiind ulterior hidrolizată enzimatic în compuși de bază (glucoză și fructoză) de către invertază.

În cazul strugurilor de Busuioacă de Bohotin, concentrația în zaharuri a musturilor obținute au înregistrat valori destul de mari în ambii ani de recoltă (2014, 2015), de peste 200 de g/L zaharuri și au variat între 213,6 g/L – BBV (A) și 248,7 g/L – BBR (H).

Pe baza conținutului în zaharuri a musturilor de Busuioacă de Bohotin s-a calculat tăria alcoolică potențială (T.a.p), reprezentând numărul de volume de alcool (mL) ce poate

fi obținut prin fermentarea totală a zaharurilor conținute în 100 volume (mL) din produsul considerat, respectiv must. Știindu-se că din fermentarea a 17 g de zaharuri rezultă aproximativ 10 mL alcool, tăria alcoolică potențială s-a calculat prin raportarea concentrației în zaharuri a mustului la valoarea 17.

Tabelul nr.4.2/Table no.4.2

Tăria alcoolică potențială (Tap) și Indicele gluco-acidic a musturilor de Busuioacă de Bohotin

Potential alcoholic strength (Pat) and Glucose-acidic index of Busuioacă de Bohotin musts

Proba	Tap* (% vol.alc.)	Indicele gluco-acidic
B.B.R (H) 2014	13,51	42,45
B.B.V (H) 2014	13,61	34,84
B.B.V (A) 2014	13,03	29,94
B.B.R (H) 2015	14,62	43,63
B.B.V (A) 2015	12,56	44,22

*B.B.R. (H)-Busuioacă de Bohotin Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși;B.B.V. (H)-Busuioacă de Bohotin Biotipul Vânător din Centrul Viticol Huși;B.B.V. (A)-Busuioacă de Bohotin Biotipul Vânător din Centrul Viticol Aveleşti

Datorită conținutului ridicat în zaharuri al musturilor de Busuioacă de Bohotin de peste 200 g/L, acestea pot conduce la obținerea unor vinuri cu o tărie alcoolică potențială cuprinsă între 12,56% vol.alcool (BBV – A – 2014) și 14,62% vol.alcool (BBR – H – 2014). Concentrația alcoolică efectivă a viitoarelor vinuri poate însă oscila în funcție de mai mulți factori ai vinificației precum sușa/sușele de levuri care intervin în procesul fermentativ și randamentul acestora de transformare a zaharurilor în etanol, condițiile de fermentație (ex: temperatura), tehnicile de macerare aplicate etc.

Pe baza valorilor obținute în urma determinării zaharurilor și a acidității musturilor s-a calculat raportul dintre cei doi parametri, cunoscut și sub numele de indicele de maturare sau indicele gluco-acidic [23]. Pentru stabilirea momentului optim de recoltare se utilizează valorile raportului dintre zaharuri și aciditatea totală, plecându-se de la constatarea că valorile celor doi parametri evoluează în sens invers în timpul perioadei de maturare a strugurelui [232, p.93]. La maturitatea deplină a strugurilor, valorile indicelui gluco-acidic sunt cuprinse între 15–40 [21, p.50].

Analizând tabelul nr. 4.2., indicele gluco-acidic calculat la musturile de Busuioacă de Bohotin a înregistrat în anul 2014 valori de 29,94 pentru biotipul vânător recoltat din Centrul Viticol Aveleşti, 34,84 pentru biotipul vânător din Centrul Viticol Huși și 42,45 pentru musturile obținute din biotipul roz recoltat din același centru, cel din urmă exprimând și cea mai scăzută valoare a acidității totale.

În anul 2015, valorile indicelui gluco-acidic au variat între 44,22 pentru biotipul vânător recoltat din Centrul Viticol Aveleşti și 43,63 pentru biotipul roz recoltat din Centrul Viticol Huși, acest biotip înregistrând și cea mai mare concentrație în zaharuri, de 248,7 g/L. Conținutul ridicat în zaharuri al acestui biotip indică intrarea lui în perioada de supramaturare a strugurilor, etapă în care are loc concentrarea zaharurilor prin pierderile de apă determinată de deshidratarea bobului.

Din moment ce nu există o corelație biochimică directă între acumularea zaharurilor și scăderea acidității, indexul de maturitate ar trebui analizat cu precauție. Astfel, pentru un anumit conținut în zaharuri, acesta nu corespunde întotdeauna cu aceeași scădere în aciditate [186, p.261].

Corelând valorile celor doi parametri analizați, se observă că în cazul musturilor obținute din ambele biotipuri ale soiului Busuioacă de Bohotin ce au fost recoltate în aceeași perioadă (24.09.2014) și provenite din același Centru Viticol (Huși), deși diferențele în concentrația de zaharuri acumulate nu sunt foarte mari și anume de 229,7 g/L BBR și respectiv 231,4 g/L BBV, biotipul roz a înregistrat o valoare mai mică a acidității, de 5,41 g/L acid tartric față de biotipul vânat (6,64 g/L acid tartric).

Un alt exemplu al variației relative a raportului zaharuri/aciditate este reprezentat de biotipul vânat al soiului Busuioacă de Bohotin recoltat din Centrul Viticol Averești dar în ani diferiți. Astfel, chiar dacă s-au recoltat în aproximativ aceeași perioadă (30.09.2014 și 28.09.2015), strugurii au prezentat valori destul de apropiate ale conținutului în zaharuri, de 221,6 g/L în anul 2014 și 213,6 g/L în anul 2015, în timp ce aciditatea totală a acestora a înregistrat diferențe semnificative, de 7,40 g/L acid tartric (2014) și respectiv 4,83 g/L (2015).

Existența acestor fluctuații s-ar putea datora specificității proceselor fiziologice și biochimice ale celor două variații genetice ale soiului care au intervenit în perioada de maturare a strugurelui dar și de condițiile climatice ale anului, determinând în final un consum mai mare sau mai mic în acizii implicați în procesul metabolic.

De asemenea, s-a mai observat că perioada de maturare a strugurilor de Busuioacă de Bohotin a mai fost influențată și de centrele viticole ale Podgoriei Huși din cadrul cărora au fost recoltați. Astfel, deși datele de recoltare a strugurilor din Centrul Viticol Huși au fost mai timpurii (24.09.2014; 21.09.2015) față de Centrul Viticol Averești (30.09.2014; 28.09.2015), aceștia au acumulat un conținut mai mare în zaharuri.

Variabilitatea topoclimatică a unei regiuni viticole este rezultatul factorilor de relief precum altitudine, aspect și pantă asupra climatului din acea zonă (mezoclimatul) și poate fi un important factor al terroir-ului, care influențează atingerea maturității depline a strugurilor. Este știut faptul că în regiunile viticole cu altitudini mai mari, strugurii ajung mai greu la maturitatea deplină. Astfel, existența acestor diferențe în conținutul în zaharuri a strugurilor de Busuioacă de Bohotin din centrul viticol Averești se poate datora altitudinii acesteia, știindu-se că reprezintă centrul viticol cu cea mai mare altitudine (241 m) din Podgoria Huși.

În concluzie, se poate spune că strugurii de Busuioacă de Bohotin recoltați din Podgoria Huși în anii 2014-2015 au prezentat valori bune ale acidității totale, conținutului în zaharuri și indicelui de maturitate dar și un potențial bun în obținerea unor vinuri cu concentrație alcoolică ridicată și aciditate echilibrată. Variațiile existente ale valorilor parametrilor analizați au fost determinate în principal de influența specificității exprimate de biotipurile soiului Busuioacă de Bohotin și regiunile viticole din care au fost recoltați.

Comparând cele două biotipuri ale soiului Busuioacă de Bohotin, s-a observat că biotipul roz a permis acumularea unui conținut ridicat în zaharuri, egal sau chiar mai mare față de biotipul vânat, prezentând însă valori ceva mai scăzute ale acidității totale.

4.1.2. PRINCIPALII PARAMETRII DE COMPOZIȚIE AI VINURILOR DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN

Determinarea principalilor parametri fizico-chimici de compoziție ai vinurilor prezintă o importanță mare în cadrul vinificației, în funcție de aceștia putându-se stabili: dacă procesul tehnologic s-a desfășurat corect; efectuarea de eventuale corecții de compoziție (ex: aciditate, zaharuri, alcool); evidențierea influenței anumitor practici oenologice aplicate pe parcursul vinificației (ex: tehnicile de macerare); stabilirea autenticității vinurilor prin determinarea conformității compoziției acestuia cu criteriile stabilite prin legislația viti-vinicolă în vigoare *etc.* Parametrii fizico-chimici de compoziție a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute în acest experiment sunt prezentați în tabelele 4.3-4.7.

Alcoolul etilic conferă principalul caracter al vinului, iar obținerea acestuia dintr-un mediu bogat în zaharuri precum este mustul depinde în principal de activitatea levurilor. Levurile sunt microorganisme facultativ anaerobe deoarece posedă echipamentul genetic pentru metabolizarea aerobă și anaerobă a zaharurilor [10].

Primul pas în degradarea zaharurilor din must (glucoza și fructoza) este reprezentat de glicoliză și constă în transformarea intracelulară (citoplasmă) a zaharurilor în piruvat. În funcție de condițiile de aerobioză, levurile pot metaboliza zaharurile prin fermentație (anaerobioză) sau respirație (aerobioză). Fermentația este un proces anaerob în care piruvatul format în urma glicolizei este transformat enzimatic de către piruvat decarboxilaza și alcool dehidrogenaza în alcool etilic. Degradarea zaharurilor de către levuri prin respirație are loc atunci când în mediu există o concentrație scăzută în glucide (< 9 g/L – efectul Crabtree), iar prezența oxigenului este necesară, fiind folosit drept substrat în procesele biochimice. Respirația are loc în mitocondrii și constă în transformarea piruvatului rezultat din glicoliză în acetil-CoA și oxidarea completă a acestuia în CO_2 în urma reacțiilor ciclului lui Krebs. Acest proces este puternic energogenic, în urma acestor reacții biochimice obținându-se de 18-19 ori mai multă energie față de fermentație, energie care poate fi asimilată de levuri, implicit respirația fiind utilizată pentru obținerea industrială a biomasei levuriene. Prin urmare, punctul cheie în reglarea metabolismului levurilor este reprezentat de transformarea piruvatului în etanal sau acetil-CoA [184].

Din cauza represiei catabolice a respirației exercitate de către glucidele din must, degradarea zaharurilor are loc în totalitate prin fermentație. Deși fermentația este un proces anaerob, pentru degradarea completă a zaharurilor levurile au nevoie de un anumit aport de oxigen necesar pentru sinteza unor substanțe chimice precum sterolii și acizii grași nesaturați, compuși ce sunt necesari unei mai bune permeabilizări a membranelor celulare, realizându-se în consecință un transport mai eficient al glucidelor.

Tabelul nr.4.3/Table no.4.3

Parametrii fizico-chimici de compoziție a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși în anul 2014
 Physico-chemical parameters of composition of Busuioacă de Bohotin wines obtained from Pink Biotype of Huși Viticulture Centre in 2014

Probă BBR (H) 2014	SO ₂ liber (mg/ L)	SO ₂ total (mg/L)	Aciditatea volatilă (g/L C ₂ H ₄ O ₂)	Aciditatea totală (g/L C ₄ H ₆ O ₆)	Densitatea relativă	Concentrația alcoolică (% vol. alc.)	Zaharuri reducătoare (g/L)	Extractul Sec Total (g/L)	Extractul Nereducător (g/L)	pH	Conductivitate (mS/cm)
V ₀	36	121	0,37	6,28	0,991	14,12	1,99	23,5	21,51	3,76	2,41
V ₁	43	133	0,35	5,84	0,990	14,31	2,18	22,9	20,72	3,80	2,37
V ₂	34	114	0,33	5,94	0,991	14,01	2,10	23,5	21,4	3,78	2,45
V ₃	35	129	0,37	5,84	0,991	14,41	2,12	25,3	23,18	3,84	2,40
V ₄	14	70	0,31	5,45	0,990	13,91	1,97	21,6	19,63	3,77	2,28
V ₅	25	93	0,33	5,40	0,990	14,23	1,86	21,9	20,04	3,78	2,30
V ₆	27	102	0,33	5,45	0,990	13,88	1,69	21,1	19,41	3,82	2,35
V ₇	23	104	0,41	5,15	0,990	13,88	1,72	19,3	17,58	3,72	2,02

V₀ – Macerare-fermentare (Martor); V₁ – Macerare-fermentare; V₂ – Termomacerare; V₃ – Macerare cu microunde; V₄ – Macerare cu ultrasunete; V₅ – Criomacerare; V₆ – Criomacerare+Microunde; V₇ – Macerare carbonică;

Tabelul nr.4.4/Table no.4.4

Parametrii fizico-chimici de compoziție a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși în 2014
 Physico-chemical parameters of composition of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Huși in 2014

Probă BBV (H) 2014	SO ₂ liber (mg/ L)	SO ₂ total (mg/L)	Aciditatea volatilă (g/L C ₂ H ₄ O ₂)	Aciditatea totală (g/L C ₄ H ₆ O ₆)	Densitatea relativă	Concentrația alcoolică (% vol. alc.)	Zaharuri reducătoare (g/L)	Extractul Sec Total (g/L)	Extractul Nereducător (g/L)	pH	Conductivitate (mS/cm) (μS/cm)
V ₀	50	147	0,35	5,23	0,991	14,75	2,14	24,5	22,36	3,87	2,29
V ₁	43	134	0,36	5,30	0,991	14,85	2,14	25	22,86	3,88	2,37
V ₂	33	130	0,32	5,36	0,991	14,51	1,94	25,5	23,56	3,93	2,49
V ₃	31	117	0,31	5,84	0,991	14,61	1,84	24,8	22,96	3,90	2,39
V ₄	32	119	0,39	4,14	0,991	14,73	2,16	26,3	24,14	3,92	2,46
V ₅	34	124	0,25	3,88	0,991	14,90	1,87	25	23,13	3,86	2,20
V ₆	41	131	0,37	5,84	0,990	14,75	1,96	22,9	20,94	3,89	2,22
V ₇	40	123	0,62	5,55	0,989	14,50	2,17	19	16,83	3,77	1813 μS/cm

Tabelul nr.4.5/Table no.4.5

Parametrii fizico-chimici de compoziție a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești în 2014
 Physico-chemical parameters of composition of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Averești Viticulture Centre in 2014

Probă BBV (A) 2014	SO ₂ liber (mg/ L)	SO ₂ total (mg/L)	Aciditatea volatilă (g/L C ₂ H ₄ O ₂)	Aciditatea totală (g/L C ₄ H ₆ O ₆)	Densitatea relativă	Concentrația alcoolică (% vol. alc.)	Zaharuri reducătoare (g/L)	Extractul Sec Total (g/L)	Extractul Nereducător (g/L)	pH	Conductivitate (μS/cm)
V ₀	43	150	0,35	5,12	0,992	13,92	4,82	24,8	19,98	3,86	2,26
V ₁	41	159	0,32	5,05	0,991	14,06	3,48	22,4	18,92	3,88	2,23
V ₂	31	155	0,32	4,97	0,991	14,02	2,43	24	21,57	3,84	2,23
V ₃	32	143	0,28	5,07	0,990	14,20	1,75	22,4	20,65	3,62	2,24
V ₄	37	147	0,30	4,84	0,991	13,85	2,27	21,9	19,63	3,71	2,27
V ₅	37	155	0,30	5,13	0,991	13,35	2,04	22,7	20,66	3,66	2,26
V ₆	27	125	0,31	5,10	0,992	13,22	7	22,7	15,7	3,65	2,30
V ₇	45	123	0,39	4,11	0,990	13,40	5,41	19	13,59	3,57	1631

Tabelul nr.4.6/Table no.4.6

Parametri fizico-chimici de compoziție a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși în anul 2015
 Physico-chemical parameters of composition of Busuioacă de Bohotin wines obtained from Pink Biotype of Huși Viticulture Centre in 2015

Probă BBR (H) 2015	SO ₂ liber (mg/ L)	SO ₂ total (mg/ L)	Aciditatea volatilă (g/L C ₂ H ₄ O ₂)	Aciditatea totală (g/L C ₄ H ₆ O ₆)	Densitatea relativă	Concentrația alcoolică (% vol. alc.)	Zaharuri reducătoare (g/L)	Extractul Sec Total (g/L)	Extractul Nereducător (g/L)	pH	Conductivitate (μS/cm)
V ₀	16	71	0,42	5,87	0,993	14,68	3,43	30,7	27,27	3,34	1523
V ₁	18	65	0,37	5,87	0,992	15,20	3,10	27,1	24	3,34	1509
V ₂	20	71	0,37	5,82	0,992	15,10	2,51	26,8	24,29	3,34	1450
V ₃	19	65	0,62	6,01	0,992	15,24	2,41	26,8	24,39	3,30	1476
V ₄	13	81	0,37	4,79	0,992	14,78	2,72	25	22,28	3,35	1513
V ₅	18	69	0,31	4,37	0,991	14,55	2,35	22,7	20,35	3,31	1493
V ₆	18	70	0,39	4,56	0,991	14,58	2,24	22,7	20,46	3,34	1490
V ₇	14	82	0,38	3,90	0,992	13,46	5,73	19,3	13,57	3,46	1660

Tabelul nr.4.7/Table no.4.7

Parametrii fizico-chimici de compoziție a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Centrul Viticol Averești în anul 2015

Physico-chemical parameters of composition of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Averești Viticulture Centre in 2015

Probă BBV (A) 2015	SO ₂ liber (mg/ L)	SO ₂ total (mg/ L)	Aciditatea volatilă (g/L C ₂ H ₄ O ₂)	Aciditatea totală (g/L C ₄ H ₆ O ₆)	Densitatea relativă	Concentrația alcoolică (% vol. alc.)	Zaharuri reducătoare (g/L)	Extractul Sec Total (g/L)	Extractul Nereducător (g/L)	pH	Conductivitate (mS/cm) (μS/cm)
V ₀	14	66	0,38	3,94	0,992	12,77	2,35	20,1	17,75	3,67	2.16
V ₁	15	56	0,23	4,25	0,992	11,67	1,40	19,3	17,90	3,64	2.18
V ₂	10	56	0,29	4,37	0,992	12,73	1,60	19,8	18,20	3,66	2.27
V ₃	15	65	0,31	4,37	0,992	12,33	1,41	18,8	17,39	3,58	2.12
V ₄	11	57	0,25	4,44	0,992	12,72	1,59	19,8	18,21	3,57	2.13
V ₅	13	65	0,25	4,37	0,992	11,75	3,16	19,6	16,44	3,47	1915
V ₆	5	59	0,27	5,21	0,992	12,14	2,23	18,3	16,07	3,51	1930
V ₇	5	71	0,46	4,33	1,023	8,8	73,06	83,2	10,14	3,57	1836

Concentrația alcoolică a unui vin depinde în primul rând de conținutul în zaharuri al strugurilor, iar randamentul de transformare a glucidelor în etanol este în funcție de sușele de levuri, compoziția chimică a mustului (conținutul în compuși azotați, vitamine și minerale) și de condițiile fizice din timpul fermentației (temperatura, oxigenarea etc.).

După cum se poate observa în tabelele nr. 4.3–4.7, în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute în acest experiment, concentrația alcoolică a atins valori destul de ridicate, cu câteva variații determinate de tehnicile de macerare aplicate.

Astfel, în anul 2014, vinurilor de Busuioacă de Bohotin au înregistrat valori ale concentrației alcoolice cuprinse între 13,88% vol. alc. (BBR–H–V6;V7) și 14,41% vol. alc. (BBR–H–V3) în cazul biotipului roz, între 14,50% vol. alc. (BBV–H–V7) și 14,90% vol. alc. (BBV–H–V5) pentru biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Huși, iar vinul obținut din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești a prezentat valori ce s-au situat între 13,22% (BBV–A–V6) și 14,20% vol. alc. (BBV–A–V3).

Concentrația alcoolică a vinurilor de Busuioacă de Bohotin din anul 2015 s-a încadrat între 13,46% vol. alc. (BBR–H–V7) și 15,24% vol. alc. (BBR–H–V3) pentru biotipul roz iar în cazul vinurilor obținute din biotipul vânat al soiului Busuioacă de Bohotin recoltat din Centrul Viticol Averești acestea au înregistrat valori ce au variat între 8,8% vol. alc. (BBV–A–V7) și 12,77% vol. alc. (BBV–A–V0).

Corelând valorile tăriei alcoolice potențiale (% vol. alc.) ale musturilor de Busuioacă de Bohotin, calculate pe baza conținutului în zaharuri, se observă că vinurile obținute au prezentat concentrații alcoolice mai ridicate față de cele preconizate. Acest lucru se poate datora în primul rând sușelor de levuri ce au intervenit în cadrul procesului fermentativ și a unui randament mai bun de transformare a glucidelor în alcool etilic, acestea utilizând sub 17 g de zaharuri pentru obținerea a aproximativ 10 g de etanol.

Conținutul în zaharuri reducătoare reziduale al unui vin depinde în primul rând de modul în care s-a desfășurat fermentația alcoolică, iar principalele zaharuri rămase în urma acestui proces sunt reprezentate de fructoză și într-un procent mai mic de glucoză, levurile utilizând cu preponderență glucoza în cadrul glicolizei.

După cum se poate observa, majoritatea vinurilor de Busuioacă de Bohotin au un conținut în zaharuri reducătoare ce se situează sub 4 g/L, acestea putând fi încadrate în categoria vinurilor seci. Singurele excepții din acest punct de vedere au fost reprezentate de vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat din Centrul Viticol Averești din anul 2014 cu 4,82 g/L (BBV–A–V0), 7 g/L (BBV–A–V6) și 5,41 g/L zaharuri reducătoare (BBV–A–V7), acestea putând fi clasificate drept vinuri demiseci. În cazul anului 2015 vinul obținut din biotipul roz a prezentat 5,73 g/L (BBR–H–V7) iar cel mai mare conținut în zaharuri remanente a fost înregistrat de vinul de Busuioacă de Bohotin obținut din biotipul vânat, cu o valoare de 73,06 g/L, încadrându-se în categoria vinurilor dulci.

Analizând conținutul în zaharuri remanente al vinurilor obținute se poate spune că cinetica procesului fermentativ a fost rapidă. Acest lucru se poate datora duratei de macerare de 7 zile, perioadă care a permis un grad mai mare de extracție din părțile solide constituate

ale strugurilor (pielețe, semințe) în compuși azotați, vitamine și minerale, compuși absolut necesari în fazele de multiplicare și supraviețuire a levurilor dar și de o aerare corespunzătoare realizată pe parcursul macerării–fermentării prin scufundarea căciulii boștinei. De asemenea, este știut faptul că musturile cu un conținut mai ridicat în zaharuri obținute din strugurii supramaturați prezintă și o concentrație mai ridicată în compuși azotați (aminoacizi și ioni de amoniu) ce sunt necesari în metabolismul levurilor, influențând astfel multiplicarea celulară.

Conținutul cel mai ridicat în zaharuri reducătoare, de 73,06 g/L, a fost exprimat de vinul de Busuioacă de Bohotin (BBV–A–V7) la care s-a aplicat macerația carbonică, fapt determinat de o stopare prematură a fermentației alcoolice. Posibili factorii care au contribuit la acest fenomen ar putea fi reprezentați de dezvoltarea bacteriilor în timpul macerației carbonice favorizate de CO₂ și prezența acestei populații bacteriene în fază latentă într-un mediu cu un ușor conținut în alcool precum și de prezența acizilor grași (C6, C8, C10) sau a ornitinei. Acești inhibitori contribuie la fermentarea dificilă a zaharurilor și crește riscul blocării fermentației [63]. Un alt factor care a influențat cinetica fermentației poate fi activitatea levuriană insuficientă determinată de deficiențele nutriționale (compuși azotați, factorii de creștere și unele minerale) induse de gradul mic de extracție ai acestor compuși în cadrul macerației carbonice dar și de eventualele șocuri termice produse în perioadele reci de toamnă, temperaturile putând scăde destul de brusc.

Aciditatea totală a vinurilor este dată de suma funcțiunilor acide libere și ia în calcul toate tipurile de acizi (acizi anorganici precum acidul fosforic) acizii organici proveniți din struguri (acizii tartric, malic, citric), acizii specifici vinului rezultați ca produși secundari ai fermentației (acizii piruvic, succinic, ascorbic, lactic, citramalic *etc.*). Aciditatea totală a vinului are o contribuție majoră asupra calității și compoziției acestuia, asigurând conservabilitatea vinului prin distrugerea microorganismelor patogene, influențează proprietățile organoleptice prin determinarea prospețimei acestuia, accentuează astringența taninurilor la degustare și influențează nuanța și stabilitatea culorii, fiind de asemenea responsabilă și de o învechire corespunzătoare a vinurilor.

În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin din anul 2014 s-au evidențiat valori ale acidității totale cuprinse între 5,15 (BBR–H–V7) și 6,28 g/L acid tartric (BBR–H–V0) pentru biotipul roz recoltat din Centrul Viticol Huși, 3,88 (BBV–H–V5) și 5,84 g/L acid tartric (BBV–H–V3 și V6) în cazul biotipului vânat recoltat din același centru viticol, iar vinurile obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești a înregistrat o aciditate totală ce s-a situat între 4,11 (BBV–A–V7) și 5,13 g/L acid tartric (BBV–A–V5). În anul 2015 valorile acidității totale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz recoltat din Centrul Viticol Huși au variat între 3,90 (BBR–H–V7) și 6,01 (BBR–H–V3) iar în ceea ce privește vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești acestea au înregistrat o aciditate totală cuprinsă între 3,94 (BBV–A–V0) și 5,21 g/L acid tartric (BBV–A–V6).

În urma analizei valorilor acidității totale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin s-au observat că acestea au prezentat o eterogenitate pregnantă determinată de procesul

fermentativ ce a intervenit în vinificație, de tehnicile de macerare aplicate pentru fiecare variantă abordată în studiu și de biotipurile utilizate la realizarea vinurilor.

Dacă sunt interpretate valorile acidității totale a vinurilor obținute față de valorile acidității totale inițiale a musturilor din care au rezultat, se observă faptul că aciditatea vinurilor de Busuioacă de Bohotin a prezentat valori mult mai scăzute în general, iar în cazuri particulare valori echivalente sau chiar mai mari.

Una din principalele cauze ale scăderii acidității totale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin este reprezentată de precipitarea tartrică. Precipitarea tartrică se manifestă prin insolubilizarea acidului tartric prin reacția dintre ionii de K^+ și ioni de tartrat acid HT^- , ultimii rezultând din reacția de disociere a acidului tartric și sedimentarea KHT sub formă de cristale incoloro sau albe. Cinetica cristalizării este influențată de o serie de factori precum: temperatura, gradul alcoolic, pH-ul, conținutul în acid tartric, K *etc.*

Precipitarea tartrică intensă a vinurilor de Busuioacă de Bohotin ar putea fi indusă în primul rând de prezența unei cantități mai ridicate de K determinată de o macerare peliculară extinsă de 7 zile la toate variantele de macerare abordate. Această macerare prelungită a permis extracția unei cantități mai mari de K din pielețe și, coroborată cu concentrațiile alcoolice în general ridicate a vinurilor obținute și prezența unei temperaturi scăzute la depozitarea buteliilor de vin, a condus în final la o scădere a conținutului în acid tartric prin precipitarea acestuia sub formă de tartrat acid de K.

După cum se observă, este foarte greu de prevăzut aciditatea totală a unui vin pe baza acidității mustului din care provine din cauza mai multor motive și anume: o parte din acizii strugurelui pot fi consumați de levuri (acidul malic) și în special de bacterii iar pe de altă parte, levurile și bacteriile produc acizi precum acidul succinic, lactic și, nu în ultimul rând, o scădere a acidității vinului este determinată de fenomenul precipitării tartrice amintit mai sus.

Un alt aspect important al acidității este pH-ul, denumit și aciditatea reală, și care reprezintă proporția ionilor de H^+ și OH^- dintr-o soluție apoasă, aceștia fiind determinați de cantitatea de acizi existenți (aciditatea titrabilă) și natura lor, tăria acestora și starea lor de disociere.

pH-ul unui vin este foarte important atât din punct de vedere organoleptic, conferindu-i gustul lor proaspăt, accentuând paleta aromatică a acestuia prin îmbunătățirea producției și stabilității esterilor fructați, asigurând în același timp și o stabilitate microbiologică și reducerea necesarului de SO_2 .

pH-ul vinurilor de Busuioacă de Bohotin din anul 2014 a prezentat valori cuprinse între 3,72 (BBR–H–V7) și 3,84 (BBR–H–V3) pentru biotipul roz recoltat din Centrul Viticol Huși, 3,77 (BBV–H–V7) și 3,93 (BBV–H–V2) în cazul biotipului vânat recoltat din același centru viticol, iar pentru vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat din Centrul Viticol Averești acestea au înregistrat valori situate între 3,57 (BBV–A–V7) și 3,88 (BBV–A–V1). În anul 2015 vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz recoltat din Centrul Viticol Huși au avut valori ale pH-ului ce au variat între 3,30 (BBR–H–V3) și 3,46 (BBR–H–V7) iar în cazul celor obținute din biotipul

vânăt din Centrul Viticol Averești au înregistrat valori cuprinse între 3,47 (BBV-A-V5) și 3,67 (BBV-A-V0).

Analizând pH-ul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute în cei doi ani de experiment (2014 și 2015) s-a observat că valorile acestui parametru au fost destul de mari, atingându-se un maxim de 3,93 (BBV-H-V2). pH-ul ridicat al vinurilor de Busuioacă de Bohotin se poate datora în primul rând gradului ridicat de precipitare tartrică, știindu-se că acidul tartric ($pK_a=3,01$) este unul din cei mai puternici acizi prezenți în vin și care are tendința de a forma săruri și implicit de ocupare a tuturor funcțiunilor acide ale acestuia, scăzându-se în consecință concentrația ionilor de H^+ și crescând pe cea a ionilor de OH^- . De asemenea, pH-ul vinurilor nu a prezentat variații foarte mari nici între diferitele tehnici de macerare aplicate în cadrul aceluiași biotip și nici între biotipurile utilizate la obținerea vinurilor.

Corelând valorile pH-ului cu cele ale acidității totale se observă că, deși aciditatea totală a vinurilor de Busuioacă de Bohotin a prezentat variații între diferitele variante de macerare aplicate, pH-ul acestora a înregistrat valori uniforme. Acest lucru se poate datora capacității tampon acido-bazice a vinurilor, ce presupune o variație limitată a pH-ului atunci când au loc modificări în compoziția chimică.

Efectul tampon este determinat de compoziția fizico-chimică a vinurilor și rezultă ca o consecință a faptului că, pe de o parte, acizii slabi sunt foarte puțin disociați și deci pun în libertate o cantitate mică de ioni H^+ , iar pe de altă parte, sărurile lor formate cu baze sunt practic total disociate [22, p.802]. Capacitatea tampon acido-bazică a vinurilor este în mare parte responsabilă de stabilitatea fizico-chimică și microbiologică precum și de echilibrul de arome.

Conductivitatea electrică este o mărime fizică ce caracterizează capacitatea de transmitere a sarcinilor electrice (conducția) de către o substanță solidă sau lichidă atunci când se află sub influența unui câmp electric și depinde de densitatea purtătorilor de sarcină (ioni) și de mobilitatea acestora. În general, conductivitatea electrică a unui aliment lichid este corelată cu diverși nutrienți precum vitamine, minerale, acizi grași și proteine [135]. Conductivitatea electrică a unui vin este dată de concentrația ionică a compușilor chimici ce se regăsesc în stare disociată sub formă de cationi și anioni. Dintre compușii chimici ce se regăsesc în vin sub formă ionizată fac parte acizi organici și anorganici, substanțe azotate (proteine, aminoacizi), compuși fenolici, minerale (K, Ca, Na *etc.*), vitamine *etc.*

În ceea ce privește vinurile de Busuioacă de Bohotin, valorile conductivității electrice au prezentat în general variații foarte mici între diferitele tehnici de macerare aplicate. Astfel în anul 2014, vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz a înregistrat valori cuprinse între 2,02 mS/cm (BBR-H-V7) și 2,45 mS/cm (BBR-H-V2), respectiv 1813 μ S/cm (BBV-H-V7) și 2,49 mS/cm (BBV-H-V2) pentru biotipul vânăt, iar în ceea ce privește vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânăt recoltat din Centrul Viticol Averești conductivitatea electrică a prezentat valori ce s-au situat între 1631 μ S/cm (BBV-A-V7) și 2,30 mS/cm (BBV-A-V6). Vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz din anul 2015 au înregistrat valori care se aflau în

intervalul 1450 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (BBV-H-V2) și 1660 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (BBV-H-V7), respectiv între 1836 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (BBV-A-V7) și 2,27 mS/cm (BBV-A-V2) pentru cele obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești.

Conductivitatea electrică este utilizată și în stabilirea temperaturii de saturare a unui vin pentru a aprecia gradul de stabilitate față de precipitățile tartrice, test propus de Würdig [22, p.603].

Dacă sunt corelate valorile pH-ului cu cele ale conductivității se remarcă faptul că valorile conductivității electrice mai ridicate sunt asociate în general cu un pH mai mare. Valorile ceva mai ridicate ale pH-ului pot fi corelate cu un grad mai ridicat de precipitare tartrică, fenomen care determină o creștere a concentrației compușilor chimici în stare disociată, conducând la o creștere a conductivității electrice. În ceea ce privește acizii organici produși în timpul fermentației, reprezentați în principal de acizii succinic și acetic, rolul lor asupra conductivității electrice este neglijabil deoarece concentrațiile lor sunt de obicei mai scăzute (în general mai puțin de 1 g/L) și se regăsesc în general sub formă nedisociată.

Analizând conductivitatea electrică a vinurilor obținute prin diferite tehnici de macerare s-a remarcat macerația carbonică (V7), conducând în ambii ani de experiment (2014 și 2015) la obținerea unor vinuri cu cele mai scăzute valori ale conductivității electrice. Conductivitatea electrică scăzută a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute prin macerație carbonică poate fi explicată printr-un grad mai mic de extracție a compușilor chimici (minerale, compuși fenolici *etc.*) din părțile solide ale strugurelui (pielețe și semințe) și implicit prezența unei concentrații mai scăzute a acestor compuși în stare disociată sub formă de ioni.

Extractul sec total al vinului cuprinde totalitatea substanțelor ce nu se volatilizează în condiții fizice bine determinate precum glucidele reziduale, acizii liberi nevolatili și sărurile lor, compușii fenolici, compușii minerali, glicerolul, unii alcooli superiori *etc.* Extractul sec total al unui vin depinde de mai mulți factori precum soiul, terroir-ul, tehnicile de vinificație abordate *etc.* Acest parametru analitic mai este utilizat la identificarea anumitor practici frauduloase realizate la obținerea vinurilor prin adăugarea de alcool sau zaharuri și se determină prin valoarea raportului dintre conținutul de alcool și greutatea extractului. Astfel spus, extractul sec total al unui vin evidențiază categoria de calitate a unui soi și respectiv a vinului obținut, gradul de extractibilitate în diverși compuși chimici determinat de tehnicile de vinificație și susceptibilitatea acestuia de a suporta învechire și nu în ultimul rând poate oferi indicii asupra autenticității și tipicității unui vin.

Valorile extractul sec total al vinurilor sunt exprimate în g/L iar în ceea ce privește vinurile de Busuioacă de Bohotin din anul 2014 acestea au fost cuprinse între 19,3 (BBR-H-V7) și 25,3 g/L (BBR-H-V3) pentru cele obținute din biotipul roz recoltat din Centrul Viticol Huși, între 19 (BBV-H-V7) și 26,3 g/L (BBV-H-V4) în cazul biotipului vânat, iar vinurile obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești au prezentat valori ale extractului ce au variat între 19 (BBV-A-V7) și 24,8 g/L (BBV-A-V0). În anul 2015 vinurile de Busuioacă de Bohotin au exprimat valori ale extractului cuprins între 19,3 (BBR-H-V7) și 30,7 g/L (BBR-H-V0) pentru cele obținute

din biotipul roz recoltat din Centrul Viticol Huși, iar vinurile obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești au înregistrat valori situate între 83,2 (BBV-A-V7) și 20,1 g/L (BBV-A-V0).

După cum se poate observa, vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au evidențiat în general prin valori mari ale extractului sec total determinate în principal de un contact prelungit al mustului cu boștina (7 zile) aplicat la toate variantele de macerare, proces ce a favorizat dizolvarea unei cantități mai ridicate în substanțe organice și minerale, majoritatea fiind prezente în părțile solide ale strugurilor (pielețe, semințe și pereții celulari), având astfel un impact asupra conținutului în substanță uscată.

Dacă este analizată influența anului de producție asupra extractului, vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz recoltat din Centrul Viticol Huși în anul 2015 au înregistrat cele mai ridicate valori ale extractului sec total din cei doi ani de experiment, atingând un maxim de 30,7 g/L (BBR-H-V0). Un factor important în obținerea acestor valori ridicate ale extractului a fost concentrația inițială ridicată în zaharuri a musturilor (248,7 g/L) fapt ce a condus la obținerea unor cantități mai mari de alcool etilic în timpul macerației peliculare, favorizându-se astfel o extracție mai pronunțată în compuși organici și anorganici din pielețe și semințe.

În vinurile dulci, valoare extractului sec total depinde de conținutul în zaharuri, motiv pentru care vinul de Busuioacă de Bohotin obținut din biotipul vânat prin macerație carbonică (BBV-A-V7-2015) a exprimat cea mai ridicată valoare a extractului (83,2), această variantă de macerare având un conținut în zaharuri reducătoare de 73,06 g/L.

Un al factor care influențează extractibilitatea compușilor organici și anorganici și implicit conținutul în extract al unui vin este reprezentat de tehnicile de vinificație aplicate. În cadrul acestui experiment s-au evidențiat în primul rând vinurile obținute prin macerație carbonică (V7), acestea obținând cele mai mici valori ale extractului sec total, indiferent de biotipul utilizat sau anul de producție. Dintre tehnicile de macerare care au condus la obținerea unor vinuri cu extract ridicat se pot menționa: macerare-fermentarea clasică (V0), macerația cu microunde (V3) și termomacerarea (V4).

Extractul nereducător al unui vin se obține prin diferența dintre extractul sec total și conținutul în zaharuri sau alte substanțe cu caracter reducător, iar în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin valorile acestui parametru s-au încadrat între 10,14 g/L (BBV-A-V7-2015) și 27,27 g/L (BBR-H-V0-2015) și au fost proporționale cu valorile extractului sec total al acestora.

Aciditatea volatilă a unui vin este constituită din acizii din seria alifatică prezenți în stare liberă sau combinată și este considerată un parametru fizico-chimic foarte important ce trebuie monitorizat de-a lungul întregului proces al vinificației. Acest parametru a fost întotdeauna asociat cu calitatea unui vin și implicit caracteristicile organoleptice ale acestuia, valorile excesive ale acidității volatile având implicații negative asupra acestor atribute. Aceste caracteristici organoleptice negative sunt corelate în principal cu valorile ridicate ale acidului acetic și a câtorva dintre acizii carboxilici omologi (acidul formic, propionic, butiric).

Conform legislației viti-vinicole în vigoare, vinurile albe și roze nu trebuie să aibă o aciditatea volatilă mai mare de 18 miliechivalenți pe litru sau 1,08 g/L acid acetic. Aciditatea volatilă a vinurilor de Busuioacă de Bohotin a prezentat valori situate sub limita de 1,08 g/L acid acetic, acestea fiind cuprinse între 0,23 și 0,62 g/L acid acetic. Aceste valori ale acidității volatile denotă faptul că vinurile au fost obținute din struguri cu o stare fitosanitară corespunzătoare, cinetica procesului fermentativ a fost rapidă, fără întreruperi, nepermițând astfel multiplicarea microorganismelor nedorite (ex: bacterii acetice), iar întregul proces de vinificație s-a desfășurat într-un mediu cât mai reductiv, fără a interveni o dizolvare exagerată a O_2 .

Dioxidul de sulf (SO_2) reprezintă principala substanță admisă de legislația viti-vinicolă în vigoare care este utilizată în cadrul vinificației datorită proprietăților sale antiseptice, antioxidante și antioxidazice. Prin utilizarea dioxidului de sulf este asigurată o protecție față de proprietățile oxidante ale oxigenului care poate interveni pe parcursul întregului proces al vinificației de la materia primă – struguri și până la obținerea și învechirea produsului finit – vin. De asemenea, această substanță posedă și un rol antiseptic, putând inhiba sau distruge diferite microorganisme cu rol dăunător asupra calității vinului, precum sunt bacteriile acetice, asigurându-se astfel o fermentație continuă și prevenindu-se contaminarea microbiană care poate să survină în timpul depozitării și învechirii vinului.

SO_2 liber reprezintă dioxidul de sulf aflat în diverse combinații minerale (care nu au reacționat cu substanțele organice) și este constituit în principal din dioxidul de sulf solvit fizic și acidul sulfuros nedisociat (H_2SO_3 molecular) fiind forma activă a acestei substanțe, precum și din acidul sulfuros disociat în ionii de bisulfid (HSO_3^-) și sulfid (SO_3^{2-}). Conform caietului de sarcini pentru producerea și comercializarea vinurilor din Podgoria Huși, dioxidul de sulf liber trebuie să fie cuprins între 10–60 mg/L. Majoritatea vinurilor de Busuioacă de Bohotin s-au încadrat în această limită, singurele excepții făcându-le probele obținute din biotipul vânat în anul 2015 la variantele V6 (Criomacerare+Microunde) și V7 (Macerare carbonică) cu 5 mg/L dioxid de sulf liber.

SO_2 total cuprinde dioxidul de sulf liber și cel combinat având o valoare maximă de 200 mg/L pentru vinurilor albe și roze seci, iar în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin valorile SO_2 total s-au situat sub limita maximă admisă, acestea variind între 56 mg/L (B.B.V (A) – V1 – 2015) și 159 mg/L (B.B.V. (A) – V1 – 2014).

4.1.3. INTERPRETAREA REZULTATELOR OBȚINUTE

4.1.3.1. Influența tehnicilor de macerare asupra principalilor parametrii de compoziție ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin

Tehnicile de macerare aplicate în cadrul vinificației reprezintă un factor important care poate avea influențe semnificative asupra compoziției fizico-chimice a vinurilor obținute. Analizând valorile parametrilor fizico-chimici de compoziție a vinurilor rezultate în urma aplicării diferitelor tehnici de macerare, s-a observat că macerarea carbonică (V7) a fost una din variantele de macerare ce s-a evidențiat prin variații mai mari ale acestor parametrii.

Macerația carbonică este o tehnică de vinificație care a fost propusă pentru prima dată de către Flanzky (1935) în care strugurii întregi sunt menținuți în condiții de anaerobioză (atmosferă de CO₂) pentru a promova o serie de transformări interne realizate de către enzimele endogene ale bobului. După 7 zile de anaerobioză (în funcție de temperatură, gradul de maturitate al strugurelui și soi), strugurii sunt zdrobiți, presați și ulterior se inoculează cu levuri pentru a se finaliza fermentația alcoolică.

Metabolismul anaerob specific macerației carbonice se caracterizează printr-o fermentației intracelulară cu formarea unei mici cantități de alcool (1,2 – 2% vol. alc.), a unor produși secundari precum glicerolul și acetaldehida, prin evoluția acizilor organici, degradarea (catabolismul) acidului malic (fără a se forma acid lactic, acesta fiind transformat în etanol și acid succinic), absența degradării acidului tartric; intervin schimbări în conținutul de compuși azotați care determină creșterea conținutului în aminoacizi precum acidul γ -aminobutiric, combinată cu scăderea conținutului în acidul glutamic și aspartic; are loc difuzia compușilor fenolici și a unor compuși de aromă din pielețe în pulpă. Fermentația intracelulară se va opri la un moment dat din cauza etanolului care distruge membranele celulare determinând moartea celulelor [224-225].

Din cauza acestor aspecte specifice, vinurile obținute sunt într-o anumită măsură mai ușoare (cu un grad alcoolic mai scăzut și cu o astringență mai redusă) față de vinurile convenționale, cu arome fructate, iar aceste vinuri trebuie consumate în câteva luni de la producție (tinere).

Probele de vinuri de Busuioacă de Bohotin obținute prin macerație carbonică au prezentat valori mai mici ale extractului sec total și nereducător, fiind astfel mai puțin extractive, cu un conținut mai scăzut în alcool și aciditate totală, iar în ceea ce privește aciditatea volatilă a acestor vinuri s-a observat o tendință de creștere a valorilor acestui parametru (Tarțian ș.a., 2015). Gradul de extractibilitate mult mai mic al vinurilor obținute prin macerație carbonică este determinat de aspectele specifice ale acestei tehnici de macerație, în care este evitat contactul mai intim dintre diferitele părți constitutive ale strugurelui (pielețe, semințe, pulpă) prin menținerea strugurilor întregi pe parcursul procesului, afectând în consecință extracția și difuzia compușilor chimici specifici. De asemenea, gradul alcoolic în general mai scăzut al acestor vinuri se datorează aceluiași factori, în care substanțele chimice necesare metabolismului levurian precum sunt compuși azotați, vitaminele și mineralele, se află în cantități mai mici din cauza unei extracții mai scăzute din părțile solide ale strugurelui, afectând astfel cinetica fermentației.

Aciditatea totală în general scăzută a vinurilor macerate carbonic poate fi legată de procesul de degradare a acizilor organici precum acidul malic în acizi mai slabi, de către enzimele sau levurile asociate cu strugurii întregi [206]. Precipitarea tartrică poate constitui de asemenea un alt factor care a contribuit la scăderea acidității totale, micșorându-se astfel conținutul în acid tartric al vinurilor în urma depozitării acestora la temperaturi scăzute.

Macerația carbonică a determinat de asemenea și o ușoară creștere a acidității volatile a vinurilor obținute, înregistrând în general cele mai ridicate valori față de celelalte tehnici de macerare. Creșterea valorilor acestui parametru se poate datora tendinței de

creștere a microorganismelor în suc eliberat din boabe în timpul macerației carbonice [11]. Acest fenomen are loc din cauza caracteristicilor specifice acestei tehnici de macerație, având loc schimburi de substanțe în urma interacțiunilor dintre struguri, mediul gazos și mustul de la partea inferioară a recipientului, ce conduce la o modificare și stimulare a metabolismului levurian și bacterian.

Aciditatea volatilă a vinurilor de Busuioacă de Bohotin poate fi determinată de dezvoltarea bacteriilor acetice pe suprafața strugurilor striviți în timpul procesului de anaerobioză precum și din cauza formării precoce a bacteriilor lactice favorizate de acest procedeu de macerare, putând conduce la scindarea acidului citric în acid acetic în timpul fermentației malolactice [41].

O altă tehnică de macerare ce s-a evidențiat sub aspectul parametrilor fizico-chimici ai vinurilor obținute este macerația cu microunde (V3). Principiul încălzirii de către microunde se bazează pe impactul direct asupra materialelor/solvenților polari și este guvernată de două fenomene: conducția ionică și rotația dipolului care, în majoritatea cazurilor apar simultan. Conducția ionică se referă la migrarea electroforetică a ionilor sub influența modificării câmpului electric, iar rezistența soluției la migrarea ionilor generează frecare, care în cele din urmă determină încălzirea soluției. Pe de altă parte, rotația dipolului constă în mișcarea moleculelor polare (din soluție sau materialul țintă) determinată de tendința acestora de a-și alinia dipolul odată cu oscilarea rapidă a câmpului electromagnetic al microundelor, transformând energia microundelor în căldură [129]. Prin urmare, încălzirea cu microunde constă în transformarea energiei electromagnetice în energie termică prin contactul direct al radiațiilor incidente cu moleculele materialului țintă [85]. Prin aplicarea microundelor pe materialele biologice precum este strugurele, undele electromagnetice sunt absorbite selectiv de mediul care posedă o constantă dielectrică mare (apa), determinând o încălzire mai eficientă.

Vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute prin macerație cu microunde s-au evidențiat în primul rând prin valori mai ridicate ale concentrației alcoolice. Astfel, în anul 2014, vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz recoltat din Centrul Viticol Huși și biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești au înregistrat cele mai mari valori ale concentrației alcoolice cu 14,41% vol. alc. (V3–BBR–H) și respectiv 14,20% vol. alc. (V3–BBV–A). De asemenea, în anul 2015 vinul de Busuioacă de Bohotin obținut din biotipul roz a exprimat cea mai ridicată valoare a concentrației alcoolice, cu 15,24% vol. alc. (V3–BBR–H).

Microundele au fost asociate cu o descreștere rapidă și substanțială în populația de levuri endogene și o perioadă mai scurtă de așteptare la începutul fermentației alcoolice [39]. De asemenea, Anna L. Carew ș.a., 2014 au observat că macerarea cu microunde aplicată musturilor de Pinot noir a determinat o cinetică mai accelerată a fermentației, cu un conținut mai ridicat în azotul asimilabil de către levuri.

Astfel, în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin, gradul alcoolic mai ridicat poate fi explicat în primul rând prin efectul termic al microundelor de distrugere a încărcăturii microbiene sălbatice specifice strugurelui și favorizarea unei inoculări adecvate de culturi

starter de levuri (de 10^6 celule/mL), iar multiplicarea și menținerea unei populații de levuri viabile pe parcursul fermentației a avut loc datorită prezenței unui aport mai ridicat în elemente chimice benefice acestora (ex: azot ușor asimilabil, vitamine, minerale *etc.*).

Criomacerarea reprezintă o altă tehnică de macerare care constă în scăderea temperaturii mustuielii sau a strugurilor întregi la cel puțin $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ și menținerea acestei temperaturi pentru o anumită durată de timp. Scăderea temperaturii se poate realiza prin utilizarea unui congelator sau a gazelor criogenice (CO_2 sau N_2). În timpul acestui proces, apa intracelulară din struguri este înghețată, iar cristalele de gheață formate determină distrugerea peretelui celular și migrarea compușilor chimici de interes (precursori de aromă, antociani, taninuri *etc.*). La obținerea vinurilor de Busuioacă de Bohotin prin această tehnică de macerare s-au utilizat struguri întregi ce au fost supuși unei congelări lente, promovându-se astfel formarea unor cristale mari de gheață și distrugerea pereților celulari.

Criomacerarea strugurilor de Busuioacă de Bohotin a condus la obținerea unor vinuri ce au înregistrat în general concentrații alcoolice ridicate și o aciditate titrabilă mai scăzută față de celelalte tehnici de macerare utilizate. Un exemplu evident din acest punct de vedere sunt vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Huși (BBV–H) în anul 2014, acestea prezentând cea mai mare valoare a concentrației alcoolice (14,90%) și cea mai scăzută aciditate totală din cei doi ani de experiment (3,88 g/L acid tartric).

Gradul alcoolic ridicat al vinurilor rezultate prin criomacerare se poate datora, conform literaturii de specialitate, temperaturilor scăzute care determină inhibarea microflorei autohtone, favorizând astfel inocularea culturilor starter de levuri [5; 73; 159].

Aciditatea totală foarte scăzută a acestor vinuri poate indica o precipitare semnificativă a bitartratului de potasiu. De fapt, conform lui Ribereau-Gayon ș.a., 2000 [184], aceste schimbări au loc datorită eliberării K din piețile strugurilor și a salifierii parțiale cu acidul tartric, deși alți autori nu au observat să apară precipitări semnificative [110].

O altă tehnică de macerație neconvențională este macerarea cu ajutorul ultrasunetelor. Ultrasunetele sunt definite ca sunetul care are o frecvență ce depășește nivelul de percepție al omului. În funcție de domeniul de frecvență implicat, acestea se pot clasifica în 3 categorii: a) ultrasunetele de putere (20–100 kHz); b) ultrasunete de înaltă frecvență sau domeniul existins al sonochimiei (20 kHz–2 MHz); c) ultrasunete de diagnosticare ($>1\text{ MHz}$). Ultrasunetele de înaltă frecvență sunt aplicate de obicei ca tehnică analitică noninvazivă pentru monitorizarea proceselor fermentative [149], în timp ce ultrasunetele de frecvență joasă s-au utilizat cu scopul îmbunătățirii procesului fermentativ (cineticii de fermentație) [145], pasteurizării [76] și altor procese precum maturarea și învechirea vinului [231], degazarea sau dezaerarea băuturilor alcoolice [51]. Puterea ultrasunetelor reprezintă un punct de interes din moment ce furnizează o formă de energie care este diferită față de cele convenționale precum lumina, căldura și presiunea [127].

Efectele ultrasunetelor se datorează bulelor mici formate (100 de microni) care se colapsează într-un anumit punct (hotspot), generând căldură și presiune, unde de șoc și

accelerarea particulelor în sistemele lichide. Acest proces poartă denumirea de cavitație și are efecte mecanice la frecvențe de până la 20 kHz și efecte chimice la frecvențe mai înalte [138]. Combinarea acestor factori (căldură, presiune și turbulență) accelerează transferul de masă în reacțiile chimice, crează noi căi de reacție, descompune și desface particulele și chiar generează noi produși față de cei obținuți în condiții similare [160].

În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin, acestea au fost obținute prin sonicarea mustuielii la frecvențe de 35 de kHz timp de 30 de minute. Prin comparație cu probele martor, vinurile obținute prin macerarea cu ultrasunete (V4) au exprimat în general valori mai mici ale extractului sec total, extractului nereducător, concentrației alcoolice și acidității totale.

Rezultate contradictorii din punctul de vedere al extractului sec total (E.S.T) și extractului nereducător (E.N) s-au obținut în cazul probelor obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Huși în anul 2014 (BBV-A-V4), acestea prezentând cele mai mari valori ale acestor doi parametri, cu 26,3 (E.S.T) și 24,14 (E.N). În ceea ce privește SO₂ liber, s-a observat că macerația cu ultrasunete a condus în general la un nivel mai scăzut în dioxidul de sulf liber, determinat probabil de o creșterea a concentrației de O₂ dizolvat în timpul sonicării.

Un alt procedeu de macerare aplicat la obținerea vinurilor de Busuioacă de Bohotin este varianta V6 care a constat în cuplarea a două metode de macerare: criomacerarea (V5) și macerarea cu microunde (V3). Prin aplicarea acestui procedeu de macerare a avut loc un șoc termic produs în urma iradierii cu microunde, determinând o creștere a temperaturii mustuielii congelate de la -5 °C la +40 °C.

Comparând cu probele martor, vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute prin această tehnică au înregistrat valori mai scăzute ale extractului sec total și nereducător precum și a concentrației alcoolice. Un exemplu evident este reprezentat de vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești în anul 2014 (BBV-A-V6), acestea prezentând cea mai scăzută valoare a concentrației alcoolice față de celelalte tehnici de macerare cu 13,22% vol. alc. , având de asemenea și un conținut mai ridicat în zaharuri reziduale (7 g/L). Această tehnică de macerare se pare că nu a avut un efect pozitiv asupra cineticii fermentației, șocul termic produs nu a favorizat o inoculare bună a culturilor starter de levuri precum și fazele ulterioare de multiplicare a acestora. Acest lucru se poate explica prin efectul termic produs în urma creșterii rapide a temperaturii mustuielii indusă de microunde, ce ar putea să aibă o influență negativă asupra extracției compușilor chimici ce favorizează fazele de creștere și multiplicare a levurilor (compuși azotați, vitamine, minerale etc.).

Termomacerația sau macerația la cald, denumită impropriu și termovinificație, este un procedeu tehnologic ce presupune încălzirea strugurilor sau a mustuielii la o temperatură cuprinsă între 70–90 °C [30, p.520]. Una din principalele aplicații ale acestei tehnici de macerare constă în reducerea încărcăturii microbiene și a enzimelor specifice strugurilor cu o stare fito-sanitară necorespunzătoare.

Vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute prin termomacerare (V2) au prezentat valori bune din punct de vedere al principalilor parametri fizico-chimici de compoziție, printre care se pot menționa: concentrația alcoolică, aciditatea totală, extractul sec total și extractul nereducător.

Concentrația alcoolică ridicată a vinurilor de Busuioacă de Bohotin se poate datora unei inoculări mai adecvate cu culturi starter viabile și respectiv o cinetică bună a fermentației, determinate de o scădere a microbiotei specifice strugurilor în urma creșterii temperaturii mustuielii (70 °C). În ceea ce privește aciditatea totală, vinurile rezultate prin termomacerare au înregistrat valori mai mari față de alte tehnici de macerare, cauzate probabil de un nivel mai puțin accentuat al precipitării tartrice. De asemenea, termomacerarea a condus la obținerea unor vinuri cu valori bune ale extractului sec total și nereducător. Acest lucru se poate datora temperaturilor înalte (70 °C) atinse de mustuală și favorizarea unei extracții mai bune a compușilor specifici părților solide ale strugurilor (piele și semințe).

Varianta V₀, denumită și proba martor, constituind și referința față de care se pot raporta celelalte tehnici de macerare, a înregistrat valori bune ale concentrației alcoolice, acidității totale, extractului sec total și nereducător. Pentru această variantă de macerare s-a aplicat tehnologia clasică de macerare-fermentare, având aceeași durată de macerare (7 zile) iar principala diferență a constat în faptul că nu s-au adăugat enzime exogene și nu au fost inoculate culturi starter de levuri, fermentația alcoolică fiind astfel spontană. Vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute prin macerație clasică au exprimat valori foarte bune ale concentrației alcoolice chiar dacă nu s-au inoculat culturi starter de *Saccharomyces*. În fermentația alcoolică spontană participă mai multe specii de levuri chiar și atunci când dioxidul de sulf este prezent [42]. De obicei, în stadiile incipiente ale fermentației alcoolice predomină *Kloeckera*, *Hanseniaspora* și *Candida*, ulterior intervenind speciile de levuri *Pichia* și *Metschnikowia*, iar în timpul ultimelor etape ale fermentației predomină *Saccharomyces cerevisiae* datorită rezistenței mai mari față de concentrațiile ridicate în etanol [64].

Se pare că încărcătura microbiană specifică soiului Busuioacă de Bohotin precum și succesiunea diferitelor specii de levuri ce au intervenit în cadrul procesului fermentativ, au condus la obținerea unor vinuri cu un grad alcoolic ridicat și cu un conținut scăzut în zaharuri remanente.

4.1.3.2. Influența biotipurilor soiului Busuioacă de Bohotin utilizate la obținerea vinurilor asupra principalilor parametri de compoziție

Un aspect important ce s-a observat din punct de vedere al influenței biotipurilor utilizate asupra principalilor parametri fizico-chimici este aciditatea totală a vinurilor obținute din acestea. Astfel, în ambii ani de experiment (2014 și 2015) s-a remarcat faptul că la biotipul roz, deși s-a înregistrat o aciditate totală mai scăzută la recoltare, vinurile obținute au exprimat în general o aciditate mai ridicată. Biotipului vânat s-a comportat diferit în ceea ce privește aciditatea totală, vinurile obținute din acesta prezentând o aciditate mai scăzută față de aciditatea inițială observată la recoltarea strugurilor. O

posibilă explicație a acestei situații poate fi compoziția chimică diferită a musturilor celor două biotipuri, compoziție ce a putut determina un metabolism diferit al levurilor ce au intervenit în procesul fermentativ, conducând în final la o producție mai mare de acizi specifici vinului (acizii succinic, lactic *etc.*) în cazul biotipului roz față de biotipul vânat.

De asemenea, aciditatea totală în general mai ridicată a vinurilor obținute din biotipul roz față de cele rezultate din biotipul vânat se mai poate explica printr-un nivel mai puțin accentuat al precipitării tartrice, determinat la rândul lui probabil de un conținut mai scăzut în K și Ca.

În ceea ce privește concentrația alcoolică a vinurilor obținute din cele două biotipuri, acest parametru a fost în primul rând determinat de concentrația inițială în zaharuri a strugurilor la recoltare. Cu toate acestea, în anul 2014 s-a observat că – deși cele două biotipuri au prezentat aproximativ același conținut în zaharuri la recoltare: B.B.R (H) – 229,7 g/L și B.B.V (H) – 231,4 g/L – vinurile de Busuioacă de Bohotin rezultate din biotipul vânat, au înregistrat în general o concentrație alcoolică mai ridicată, indusă probabil de un conținut mai bogat în compuși chimici necesari multiplicării și supraviețuirii levurilor, determinând în final un randament mai bun de transformare a zaharurilor în etanol. Extractul sec total și extractul nereducător al vinurilor de Busuioacă de Bohotin nu au prezentat variații determinate de biotipurile utilizate în vinificație.

4.1.3.3 Influența terroir-ului asupra principalilor parametri de compoziție ai musturilor și vinurilor de Busuioacă de Bohotin

Conceptul de terroir este foarte important în viticultură deoarece proprietățile senzoriale ale vinului sunt în strânsă legătură cu condițiile în care strugurii au fost crescuți, iar calitatea finală a vinului obținut poate fi explicată într-o măsură considerabilă prin terroir. Din punct de vedere științific terroir-ul este dificil de studiat deoarece sunt implicați mulți factori, incluzând clima, solul, soiul de viță de vie și practicile omului, iar acești factori interacționează între ei [40].

Strugurii utilizați la obținerea vinurilor de Busuioacă de Bohotin din acest experiment au fost recoltați din două centre viticole ale Podgoriei Huși: centrul viticol Huși (biotipul roz și vânat) și respectiv centrul viticol Averești (biotipul vânat). Comparând cele două centre viticole, un prim aspect ce s-a evidențiat au fost diferențele în zaharurile acumulate de struguri la recoltare. Astfel s-a observat că strugurii de Busuioacă de Bohotin recoltați din Centrul Viticol Huși au atins maturitatea tehnologică mult mai rapid față de cei recoltați din Centrul Viticol Averești, această spațiu viticol prezentând cea mai mare altitudine din Podgoria Huși (241 m). Știindu-se faptul că în spațiul viticol cu altitudini mai mari strugurii ajung mai greu la maturitate deplină, se poate explica astfel de ce strugurii de Busuioacă de Bohotin recoltați din Centrul Viticol Averești au prezentat un conținut mai scăzut în zaharuri la recoltare.

În cazul vinurilor obținute din cele două spații viticole s-a observat că probele de Busuioacă de Bohotin obținute din strugurii recoltați din Centrul Viticol Huși au înregistrat în general valori mai ridicate ale principalilor parametri fizico-chimici (concentrația alcoolică, extractul sec total, extractul nereducător) față de cele obținute din Centrul Viticol

Averești. Principalul factor care a determinat aceste diferențieri a fost concentrația inițială în zaharuri a strugurilor recoltați din cele două spații viticole.

4.2. ACIZII ORGANICI DETERMINAȚI PRIN HPLC DIN VINURILE DE BUSUIOCĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR OBTINUTE

Acizii organici joacă un rol important în determinarea calității unui vin. În primul rând, acești acizi influențează proprietățile organoleptice ale vinului în care fiecare acid posedă un anumit gust. De exemplu, acidul tartric are un gust acru/dur, acidul malic are un gust acru ce aduce aminte de merele necoapte sau agrișe în timp ce acidul succinic contribuie la gustul plăcut de vinuozitate. În plus, acizii organici și sărurile lor posedă un efect tampon, asigurând astfel menținerea vinului la valori mai scăzute ale pH-ului, protejând astfel de atacurile microbiene și evitând alterările determinate de acestea. Rolul acizilor în menținerea unui pH scăzut este crucial pentru stabilitatea culorii vinului, participând de asemenea și la formarea esterilor, cu impact final asupra aromei vinului.

Strugurii conțin doi acizi principali, acidul tartric și malic plus cantități minore de alți acizi precum acidul citric, oxalic, fumaric, shikimic. În timpul fermentației, cantitățile acestor acizi se schimbă pe parcursul proceselor metabolice ale diverselor microorganisme (levuri, bacterii) obținându-se astfel și alți acizi ce se află în cantități mai mici: acidul lactic, acetic, succinic *etc.* cu o influență mai mică asupra acidității vinului.

În tabelele nr. 4.8 – 4.12 sunt prezentați acizii organici identificați în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din cele două biotipuri (vânăt și roz) și în cei doi ani de experiment (2014 și 2015).

Acidul tartric reprezintă unul dintre principalii acizi organici ai strugurelui, ce variază cantitativ între 2–6 g/L și care poate imprima duritate și asprime la gust atunci când se află în cantități mai ridicate. Spre deosebire de acidul malic, concentrația acestuia nu scade drastic (semnificativ) în timpul coacerii strugurelui, iar pe parcursul fermentației acest acid nu suferă modificări importante sub aspect cantitativ, fiind mult mai stabil din punct de vedere microbiologic. Există însă și excepții în care acidul tartric poate fi metabolizat de anumite bacterii existente în vin (*Bacterium tartarophthorum*, *Bacterium gracile*), fenomen cunoscut sub numele de fermentația tartro-propionică sau boala "tourne".

Tabelul nr.4.8/Table no.4.8

Acizii organici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț (Centrul Viticol Huși) în 2014
Organic acids identified by HPLC in Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype (Huși Viticultural Center) in 2014

Acizii organici B.B.V. (H)	B.B.V (H)-V0	B.B.V (H)-V1	B.B.V (H)-V2	B.B.V (H)-V3	B.B.V (H)-V4	B.B.V (H)-V5	B.B.V (H)-V6	B.B.V (H)-V7
Acid tartric (g/L)	1,99	1,96	2,16	2,09	1,83	2,03	1,88	2,50
Acid malic (g/L)	3,92	4,31	4,14	4,11	4,20	3,86	3,77	3,17
Acid lactic (g/L)	0,61	0,55	0,54	0,54	0,54	0,61	0,58	0,55
Acid acetic (g/L)	0,34	0,39	0,32	0,34	0,35	0,29	0,30	0,70
Acid citric (g/L)	0,62	0,67	0,64	0,64	0,65	0,63	0,63	0,57
Acid succinic (g/L)	1,22	1,33	1,31	1,28	1,30	1,18	1,20	1,28
Acid fumaric (mg/L)	11,63	12,26	12,30	12,38	12,57	12,03	12,10	12,16
Acid oxalic (mg/L)	60,00	70,00	70,00	70,00	70,00	60,00	70,00	60,00
Acid shikimic (mg/L)	14,63	16,56	16,23	18,16	17,28	11,09	10,32	8,94

Tabelul nr.4.9/Table no.4.9

Acizii organici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz (Centrul Viticol Huși) în 2014
Organic acids identified by HPLC in Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype (Huși Viticultural Center) in 2014

Acizii organici B.B.R. (H)	B.B.R (H)-V0	B.B.R (H)-V1	B.B.R (H)-V2	B.B.R (H)-V3	B.B.R (H)-V4	B.B.R (H)-V5	B.B.R (H)-V6	B.B.R (H)-V7
Acid tartric (g/L)	2,09	2,31	2,07	2,07	2,05	2,69	3,40	2,31
Acid malic (g/L)	4,22	3,79	3,94	3,94	3,66	4,71	5,49	2,87
Acid lactic (g/L)	0,61	0,58	0,64	0,64	0,57	0,71	0,79	0,75
Acid acetic (g/L)	0,63	0,35	0,36	0,36	0,33	0,37	0,36	0,39
Acid citric (g/L)	0,62	0,62	0,63	0,63	0,61	0,69	0,76	0,59
Acid succinic (g/L)	1,09	1,16	1,15	1,15	1,14	1,26	1,39	1,16
Acid fumaric (mg/L)	11,71	11,72	11,89	11,89	11,54	12,34	12,91	14,00
Acid oxalic (mg/L)	60,00	70,00	60,00	60,00	70,00	70,00	70,00	60,00
Acid shikimic (mg/L)	9,58	9,42	10,62	10,62	11,23	11,30	11,75	9,54

Tabelul nr.4.10/Table no.4.10

Acizii organici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț (Centrul Viticol Averești) în 2014
Organic acids identified by HPLC in Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype (Averești Viticultural Center) in

2014

Acizii organici B.B.V (A)	B.B.V (A)-V0	B.B.V (A)-V1	B.B.V (A)-V2	B.B.V (A)-V3	B.B.V (A)-V4	B.B.V (A)-V5	B.B.V (A)-V6	B.B.V (A)-V7
Acid tartric (g/L)	2,15	1,97	2,19	2,30	2,10	2,08	2,37	6,07
Acid malic (g/L)	3,47	3,66	3,62	3,81	3,53	3,97	3,51	0,51
Acid lactic (g/L)	1,00	0,51	0,54	0,44	0,54	0,46	0,44	6,01
Acid acetic (g/L)	0,54	0,24	0,24	0,26	0,24	0,26	0,26	0,56
Acid citric (g/L)	0,58	0,58	0,59	0,58	0,57	0,58	0,57	0,72
Acid succinic (g/L)	1,18	1,21	1,25	1,25	1,19	1,20	1,24	1,93
Acid fumaric (mg/L)	11,31	11,66	11,56	11,60	11,51	9,52	11,44	9,96
Acid oxalic (mg/L)	60,00	60,00	60,00	70,00	60,00	70,00	60,00	70,00
Acid shikimic (mg/L)	12,52	13,39	13,38	13,78	13,62	16,75	15,18	19,89

Tabelul nr.4.11/Table no.4.11

Acizii organici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț (Centrul Viticol Averești) în 2015
Organic acids identified by HPLC in Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype (Averești Viticultural Center) in

2015

Acizii organici B.B.V (A)	B.B.V (A)-V0	B.B.V (A)-V1	B.B.V (A)-V2	B.B.V (A)-V3	B.B.V (A)-V4	B.B.V (A)-V5	B.B.V (A)-V6	B.B.V (A)-V7
Acid tartric (g/L)	2,84	2,80	2,91	3,09	3,04	3,50	3,17	3,29
Acid malic (g/L)	2,17	2,28	2,46	2,52	2,47	2,31	1,64	1,88
Acid lactic (g/L)	0,64	0,49	0,53	0,51	0,57	0,51	1,06	0,81
Acid acetic (g/L)	0,26	0,46	0,27	0,25	0,25	0,25	0,48	0,37
Acid citric (g/L)	0,57	0,56	0,59	0,57	0,58	0,56	0,55	0,56
Acid succinic (g/L)	1,18	1,19	1,23	1,24	1,21	1,14	1,17	1,20
Acid fumaric (mg/L)	9,60	10,37	9,61	9,62	9,62	9,54	10,26	9,92
Acid oxalic (mg/L)	64,67	59,33	61,93	57,05	58,40	0,00	36,66	36,89
Acid shikimic (mg/L)	9,47	7,54	8,68	8,32	8,66	9,13	9,47	8,40

Tabelul nr.4.12/Table no.4.12

Acizii organici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz (Centrul Viticol Huși) în anul 2015

Organic acids identified by HPLC in Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype (Huși Viticultural Center) in 2015

Acizii organici B.B.R (H)	B.B.R (H)-V0	B.B.R (H)-V1	B.B.R (H)-V2	B.B.R (H)-V3	B.B.R (H)-V4	B.B.R (H)-V5	B.B.R (H)-V6	B.B.R (H)-V7
Acid tartric (g/L)	4,35	4,32	4,62	4,79	4,52	4,44	3,96	3,81
Acid malic (g/L)	1,21	1,17	1,16	1,13	1,09	1,18	1,23	1,40
Acid lactic (g/L)	0,87	0,83	0,86	0,84	0,84	0,79	0,80	0,91
Acid acetic (g/L)	0,36	0,32	0,35	0,41	0,30	0,32	0,33	0,30
Acid citric (g/L)	0,67	0,66	0,66	0,67	0,65	0,62	0,62	0,56
Acid succinic (g/L)	1,23	1,22	1,23	1,25	1,21	1,17	1,16	1,15
Acid fumaric (mg/L)	10,35	9,95	9,83	9,87	9,88	9,88	9,89	9,51
Acid oxalic (mg/L)	59,54	57,56	57,99	59,32	57,27	56,37	56,74	60,66
Acid shikimic (mg/L)	9,33	7,21	7,40	7,47	7,01	6,89	6,90	9,45

De asemenea, s-a raportat sinteza acestui acid de unele specii de levuri în timpul fermentației atunci când sunt prezenți compuși cu azot (metionină, izoleucină) dar cantitățile formate sunt destul de mici (maximum 0,5 g/L) [250].

Cele mai importante modificări cantitative ale acidului tartric apar datorită precipitării tartrice, proces favorizat de concentrațiile alcoolice ridicate și de existența temperaturilor scăzute în timpul depozitării și păstrării vinurilor, conținutul în acid tartric putând scădea până la circa 50% din concentrația inițială a mustului. În urma depunerilor de tartrați ce au loc pe parcursul vinificației, aciditatea totală se micșorează cu 2–3 g/L și chiar mai mult, dar un vin sănătos rămâne cu o cantitate oarecare de acid tartric. Astfel, în cazul vinurile românești conținutul în acid tartric variază în general între 0,3–4 g/L [21, p.101]. Scăderea conținutului în acid tartric se poate produce și în urma reacțiilor de esterificare cu etanolul, producând o scădere lentă în balanța acizilor vinului pe parcursul învechirii.

În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute în anul 2014, conținutul în acid tartric a variat între 1,83 (BBV–H–V4) și 2,50 g/L (BBV–H–V7) pentru biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Huși, între 1,97 (BBR–H–V0–2) și 3,40 g/L (BBR–H–V6) pentru biotipul roz, iar în cazul vinurilor obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești acestea au înregistrat valori cuprinse între 1,97 (BBV–A–V1) și 6,07 g/L acid tartric (BBV–A–V7). În anul 2015, vinurile de Busuioacă de Bohotin au înregistrat valori cuprinse între 3,81 (BBR–H–V7) și 4,79 g/L (BBR–H–V3) în cazul biotipului roz, iar cele obținute din biotipul vânat a prezentat valori cuprinse între 2,80 (BBV–A–V1) și 3,50 g/L acid tartric (BBV–V5). Comparând cei doi ani de experiment, se observă că probele de vinuri de Busuioacă de Bohotin obținute în anul 2014 au un conținut mai scăzut în acid tartric, aceste diferențe fiind determinate probabil de un nivel mai accentuat de precipitare tartrică ce a intervenit în acel an. Singura excepție identificată în anul 2014 din acest punct de vedere o prezintă proba de Busuioacă de Bohotin obținută prin macerație carbonică (BBV–A–V7), cu 6,07 g/L de acid tartric, reprezentând și cea mai ridicată valoare a acidului tartric din cei doi ani de experiment.

Acidul malic este prezent în vin în cantități mai mici decât acidul tartric, obișnuit între 2 și 4 g/L, constituind aproape jumătate din aciditatea totală a strugurilor și vinului și contribuie la gustul acid al acestora, imprimându-le o savoare specifică, de măr verde, însoțită de un caracter ierbos, strepezitor. Spre deosebire de acidul tartric, acidul malic este mult mai instabil biologic, putând fi metabolizat de diverse levuri din genul *Saccharomyces* sau *Schizosaccharomyces* sau de bacteriile lactice, acestea din urmă putând-l transforma complet în acid lactic și dioxid de carbon. Acidul malic poate fi și de origine exogenă, rezultat în urma sintezei diverselor levuri din genul *Saccharomyces uvarum*, *S. ellipsoideus*, *S. Cerevisiae*, însă cantitățile formate nu prezintă o semnificație foarte mare [21, p.103].

În anul 2014 conținutul în acid malic a variat între 3,17 (BBV–H–V7) și 4,31 g/L (BBV–H–V1) și între 0,51 (BBV–A–V7) și 3,97 g/L acid malic (BBV–A–V5) pentru vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat, iar în cazul biotipului roz, vinurile rezultate au prezentat un conținut de acid malic cuprins între 2,87 g/L

(BBR-H-V7) și 5,49 g/L (BBR-H-V6). Vinurile de Busuioacă de Bohotin din anul 2015 au înregistrat un conținut mai scăzut în acid malic, având valori cuprinse între 1,64 (BBV-A-V6) și 2,52 g/L (BBV-A-V3) pentru biotipul vânat, iar în cazul biotipului roz vinurile au prezentat un conținut de acid malic ce a variat între 1,09 g/L (BBR-H-V4) și 1,40 g/L (BBR-H-V7). Aceste diferențe cantitative observate la vinurile obținute în anul 2015 se pot datora unor procese de combustie (catabolizare) mai intense a acidului malic în perioada de maturare a strugurilor precum și metabolizării acestuia de către levuri și transformării lui în etanol prin procesul de fermentație maloalcoolică.

Dintre tehnicile de macerare utilizate, macerația carbonică (V7) a avut cea mai mare influență asupra conținutului în acid malic, vinurile obținute prezentând în general o concentrație mult mai scăzută față de restul variantelor. Un exemplu evident din acest punct de vedere este proba de Busuioacă de Bohotin din anul 2014 (BBV-A-V7) obținută din biotipul vânat, aceasta înregistrând o concentrație de 0,51 g/L acid malic. Conținutul foarte scăzut în acid malic al acestor vinuri se poate datora fermentației malolactice ce a putut interveni pe parcursul vinificației. De asemenea, este cunoscut faptul că vinurile macerate carbonic prezintă în general o concentrație mai scăzută în acid malic din cauza proceselor de degradare a acestui acid induse de activitatea enzimatică și/sau levuriană asociată cu strugurii întregi.

Acidul citric este un triacid foarte răspândit în natură (ex: lămâi) care joacă un rol foarte important biochimic și metabolic (ciclul lui Krebs). Concentrația acestui acid în strugure este destul de mică și depășește rareori 0,7 g/L. Atunci când nu are loc un atac bacterian, conținutul în acid citric nu se schimbă semnificativ în timpul fermentației, indiferent de sușele de levuri sau de condițiile de fermentație precum temperatura, pH-ul sau concentrația în zaharuri [31]. Concentrația în must și vin înainte de fermentația malolactică este cuprinsă între 0,5–1 g/L [187, p.15].

Conținutul în acid citric al vinurilor de Busuioacă de Bohotin nu a oscilat foarte mult, prezentând valori cuprinse între 0,57 și 0,76 g/L acid citric în anul 2014 și între 0,55 și 0,67 g/L acid citric în anul 2015.

Acidul oxalic se găsește în cantități ridicate în anumite legume precum spanac, rubarbă, măcriș. În struguri, acesta se află sub formă de săruri, mai ales insolubile (oxalatul de Ca), fiind reținut aproape în totalitate de boștină și tescovină, iar în must trecând numai oxalații solubili (ex: oxalatul de K). Conținutul în acid oxalic din vin de până în 60 mg/L se poate datora unei restructurări a acidului tartric, proces favorizat mai ales de tratamentele termice.

În vinurile de Busuioacă de Bohotin, prezența acidului oxalic nu a înregistrat variații foarte mari, prezentând în general valori cuprinse între 0,60 și 0,70 mg/L. Conținutul ceva mai ridicat în acest acid se poate datora tratamentelor termice ce au intervenit la majoritatea variantelor de macerare aplicate în vinificație.

Acidul fumaric sau acidul butendioic prezintă un gust ușor acru și se găsește sub formă de urme în struguri precum și în alte organe ale viței. Prezența acestuia în vin se mai poate datora metabolizării levuriene a acidului malic provenit din struguri precum și în urma

dezaminării pe cale enzimatică a acidului aspartic [21, p.87]. Conținutul în acid fumaric al vinurilor obținute în experimentul de față au exprimat valori destul de apropiate, cuprinse între 9,51 și 14 mg/L, cu influențe foarte mici induse de variantele de macerare, biotipurile utilizate sau anul de producție.

Acidul shikimic își derivă numele din japonezul shi-kimi-no-ki care desemnează planta (*Illicium religiosum*) din care a fost izolat prima dată și reprezintă un precursor cheie în biosinteza diversilor compuși chimici (acizi fenolici, flavonoizi, compuși de aromă). Acest acid este prezent în struguri și în toate organele plantei, iar în vin mai ales în cele obținute prin macerație carbonică [21, p.111]. Din moment ce acest precursor al compușilor fenolici și volatili nu este afectat de metabolismul levurilor [44], acesta a fost utilizat cu succes în discriminarea varietală a vinurilor. Cu toate acestea, acest lucru trebuie confirmat și de alte observații, deoarece conținutul în acid shikimic în vin poate fi afectat și de gradul de maturitate al strugurilor, de macerația carbonică sau de eventualele fermentații malolactice [211].

Conținutul în acid shikimic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin din anul 2014 a variat între 8,94 (BBV-H-V7) și 19,89 g/L (BBV-A-V7), iar în anul 2015 vinurile obținute au prezentat valori ceva mai scăzute, cuprinse între 6,89 și 9,47 mg/L. De asemenea, s-a observat prezența unor cantități mai ridicate de acid shikimic în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat (din ambele centre viticole) față de biotipul roz, acesta din urmă înregistrând un conținut mai scăzut în acest acid. Concentrația cea mai ridicată în acid shikimic a fost înregistrată de vinurile obținute prin macerație carbonică (BBV-A-V7-2014), cu 19,89 mg/L. Această constatare nu este foarte surprinzătoare din moment ce acest acid se formează cu precădere în urma metabolismului anaerob al strugurilor supuși macerației carbonice. Cu toate acestea, această afirmație nu se aplică la toate vinurile obținute prin macerație carbonică, existând și rezultate contradictorii în care s-au obținut valori mai scăzute față de celelalte tehnici de macerație.

Acidul lactic este un produs minor al fermentației levuriene (maximum 0,5 g/L) iar prezența acestuia în concentrație de peste 1 g/L se datorează metabolismului bacterian [177]. Acest acid apare sub două forme izomere și este produs în urma reducerii piruvatului de către lactat L(+)- sau D(-)- dehidrogenaza. Forma izomeră predominantă este cea dextrogiră atunci când rezultă în urma metabolismului levurilor, iar cantități mai importante de acid lactic se regăsesc în vin sub formă levogiră – acid L(+) lactic în urma fermentației malolactice.

Probele de vinuri de Busuioacă de Bohotin obținute în acest experiment au înregistrat în general un conținut în acid lactic ce a variat între 0,4–0,8 g/L, încadrându-se astfel în limitele normale, rezultate în principal în urma metabolismului levurilor din timpul fermentației alcoolice. În contrast cu cele prezentate anterior, s-a evidențiat vinul de Busuioacă de Bohotin obținut prin macerație carbonică din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești în anul 2014 (BBV-A-V7) cu un conținut de acid lactic de 6,01 g/L. De asemenea, tot această probă a prezentat și conținutul cel mai scăzut în acid malic dintre toate probele obținute în cei doi ani de experiment, având o concentrație de

doar 0,51 g/L. Astfel, prezența în această probă a unei cantități ridicate în acid lactic, coroborată cu un conținut foarte mic în acid malic, reprezintă un indicator clar al fermentației malolactice ce a avut loc la această variantă de macerare.

Beneficiul major al fermentației malolactice este conversia acidului malic (dicarboxilic) care are un impact senzorial mai dur în acidul lactic (monocarboxilic), care posedă un gust mai plăcut, ușor. În timpul sau după fermentația malolactică, unele zaharuri din vin pot fi de asemenea metabolizate de către bacteriile lactice mai ales atunci când pH-ul vinului este de peste 3,6, conducând la un conținut mai mare în acid lactic [106].

În afară de vinurile obținute prin macerație carbonică, concentrații mai ridicate în acid lactic s-au mai observat și la vinurile rezultate în urma aplicării variantei de macerare V6 (Criomacerare+Microunde). Astfel, aceste vinuri au exprimat cea mai mare valoare a concentrației în acid lactic în anul 2015 (BBV–A–V6) cu 1,06 g/L, iar în anul 2014 au prezentat 0,79 g/L acid lactic (BBR–H–V6) în cazul probelor obținute din biotipul roz al soiului Busuioacă de Bohotin.

Acidul succinic are un „gust neobișnuit de amar și sărat” și reprezintă principalul acid organic produs în urma metabolismului levurilor [20; 176] și mai puțin ca un produs secundar al metabolismului strugurilor. Sușele de *Saccharomyces cerevisiae* produc acid succinic în cantități destul de variabile care pot ajunge până la 2 g/L în timp ce *Saccharomyces bayanus/uvorum* pot produce cantități ceva mai ridicate [1; 60; 68; 176]. Diversele condiții de fermentație favorizează acumularea acestui acid în timpul fermentației precum temperatura, claritatea și compoziția mustului (conținutul în zaharuri, azotul asimilabil, biotina, pH-ul, aciditatea și SO₂) [20] și este destul de stabil microbiologic în vin.

În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute, nu s-au observat oscilații foarte mari ale concentrației în acid succinic indiferent de biotip, tehnica de macerație aplicată sau anul de producție. Astfel, în anul 2014 conținutul în acid succinic a variat între 1,09 g/L (BBR–H–V0) și 1,93 g/L (BBV–A–V7), respectiv între 1,14 g/L (BBV–V5) și 1,25 g/L (BBR–H–V3) în 2015.

Acidul acetic – reprezintă principalul acid volatil din vin și este produs în special de bacteriile de alterare (bacteriile acetice, lactice) dar este format întotdeauna și de levuri la începutul fermentației alcoolice într-o concentrație care de obicei nu depășește 0,4 g/L și care depinde de concentrația inițială în zaharuri a mustului. Atunci când se află în cantități normale (<300 mg/L), acest acid poate îmbunătăți aroma unui vin, contribuind astfel la complexitatea mirosului și gustului sau poate exprima progresiv un gust acru, denaturându-i astfel aroma atunci când acidul acetic depășește 300 mg/L.

În urma vinificației strugurilor de Busuioacă de Bohotin, procesele biochimice și microbiologice ce au intervenit pe parcursul întregului proces tehnologic au condus în general la obținerea unor cantități moderate de acid acetic, cuprinse între 0,2–0,4 g/L. Cu toate acestea au existat și excepții, evidențiindu-se astfel și vinuri cu un conținut mai ridicat în acest acid volatil, determinate în primul rând de tehnica de macerare utilizată.

Un exemplu concludent din acest punct de vedere este reprezentat de vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute prin macerație carbonică, această tehnică de macerare înregistrând în general un conținut mai ridicat în acid acetic, cu o valoare maximă de 0,7 g/L (BBV-H-V7-2014). Această observație nu este surprinzătoare deoarece probele de vinuri obținute prin această tehnică de macerare au prezentat în general o aciditate volatilă mai ridicată. Macerația carbonică a favorizat probabil formarea și multiplicarea bacteriilor acetice și lactice, contribuind în final la o producție mai mare în acest acid volatil. De asemenea, obținerea unor cantități mai ridicate în acid acetic s-ar mai putea datora și metabolizării acidului citric de către bacteriile lactice [41], vinurile de Busuioacă de Bohotin macerate carbonic prezentând în general un conținut mai scăzut în acid citric față de celelalte tehnici de macerare.

Un conținut ceva mai ridicat în acid acetic s-a mai observat și la două probe martor de Busuioacă de Bohotin din anul 2014, acestea înregistrând valori de 0,63 (BBR-H-V0) și 0,54 g/L (BBV-A-V0). În primul rând trebuie subliniat faptul că fermentația alcoolică pentru probele martor a avut loc spontan, fără a se inocula levuri de origine exogenă. Astfel, un posibil factor ce a contribuit la formarea unor cantități mai mari în acid acetic în aceste probe ar putea fi prezența unor sușe de levuri cu o activitate mai mare a acetaldehid dehidrogenazei în cadrul procesului fermentativ.

Concluzii

După cum se observă, aciditatea vinurilor este dată de o multitudine de acizi organici, reprezentând o versiune mai îmbogățită din punct de vedere a diversității acizilor prezenți față de mustul din care a provenit vinul. Acizii care se formează în timpul fermentației pot varia în funcție de mai mulți factori precum conținutul inițial în acizi ai strugurilor, concentrația de nutrienți, temperatura, gradul de aerare și sușele de levuri utilizate *etc.* Analizând compoziția în acizi organici a vinurilor de Busuioacă de Bohotin s-a observat că profilul general al acestora a fost influențat de o serie de factori printre care cei mai importanți sunt: anul de producție, biotipurile soiului și nu în ultimul rând tehnicile de macerație utilizate în vinificație.

În ceea ce privește influența anului de producție asupra conținutului în acizi, s-au evidențiat vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute în anul 2015 printr-un conținut mai scăzut în acid malic față de anul anterior. Știindu-se faptul că acidul malic este consumat preferențial în perioada de maturare (pârgă) a strugurilor, conținutul mai scăzut în acest acid a vinurilor din 2015 s-ar putea datora unor procese de catabolizare mai intense, determinate probabil de temperaturile mai ridicate din aceea perioadă.

Profilul acizilor vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din cele două biotipuri (vânăt și roz) a evidențiat existența unor diferențe cantitative, biotipul roz conducând în general la obținerea unor vinuri cu un conținut total mai ridicat în acizi față de biotipul vânăt. Această constatare confirmă observația anterioară în urma analizei acidității totale titrabile, acest biotip permițând acumularea unor cantități mai mari de acizi în urma fermentației chiar dacă aciditatea inițială a musturilor rezultate din acesta a fost în general mai scăzută. În ceea ce privește biotipul vânăt al soiului Busuioacă de Bohotin, acesta s-a

evidențiat printr-un conținut mai ridicat în acid shikimic față de vinurile obținute din biotipul roz.

Tehnicile de macerare reprezintă un alt factor important ce a influențat profilul acizilor vinurilor și implicit distribuția lor cantitativă. Astfel, dintre variantele de macerare utilizate în vinificația strugurilor de Busuioacă de Bohotin, macerația carbonică a avut una din cele mai puternice influențe asupra conținutului în acizi a vinurilor obținute, acestea prezentând un conținut mai ridicat în acid acetic, lactic, shikimic și o concentrație mai scăzută în acid malic. Modificările în concentrația acestor acizi determinate de macerația carbonică au fost induse de procesele microbiologice (bacteriile lactice și acetice) și cele de natură enzimatică sau levuriană specifice strugurilor întregi. O altă tehnică de macerare ce a determinat modificări cantitative în acizii formați a fost varianta V6, acest procedeu de macerare constând în cuplarea a două tehnici: criomacerare și microunde. Astfel, vinurile rezultate din această variantă au înregistrat un conținut mai scăzut în acid malic și valori ceva mai ridicate ale acidului acetic și lactic.

4.3. COMPUȘII FENOLICI IDENTIFICAȚI ÎN VINURILE DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR OBTINUTE

4.3.1. COMPUȘII FENOLICI DETERMINAȚI PRIN HPLC

Compușii fenolici reprezintă, după carbohidrați și acizi, clasa chimică care se găsește din abundență în struguri și pot fi clasificați în funcție de scheletul de carbon în două mari grupe: compuși flavonoidici și compuși neflavonoidici. Acești compuși sunt responsabili de profilul senzorial al vinurilor, influențând culoarea vinurilor roșii (antocianii) și a vinurilor albe (flavonolii și acizii cinamici) precum și senzațiile gustative care denotă astringența și amăreala vinurilor (flavanolii). Cantitatea și tipul de polifenoli din vinuri variază considerabil în funcție de soi, factorii de mediu, condițiile și tehnicile de producție [157].

Acizii fenolici sunt substanțe ce derivă din fenol iar în funcție de modul de atașare a grupei carboxil (COOH) la nucleul benzenic acestea se pot clasifica în două categorii: acizii hidroxibenzoici (atașare directă) și acizii hidroxicinamici (indirectă) și fac parte din grupa compușilor neflavonoidici.

Acizii hidroxibenzoici se pot găsi în general în vin sub formă liberă. Conținutul în acizi hidroxibenzoici din vin prezintă o mare varietate în funcție de soi și de condițiile de creștere, iar concentrația acestora poate ajunge în general până la 100 de mg/L în vinurile roșii [21, p.220].

După cum se observă în tabelele nr. 4.13 – 4.15 în vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au detectat următorii acizi hidroxibenzoici: acizi *p*-hidroxibenzoici (acidul galic, protocatehic, *p*-hidroxibenzoic, vanilic și siringic) și acizi *o*-hidroxibenzoici (acidul salicilic și acidul gentisic).

Acidul galic este unul dintre acizii hidroxibenzoici ce se găsește în vin în cantitate foarte mare, întâlnindu-se în stare liberă sub formă de urme în piețițe și în cantități ceva mai ridicate în semințe și ciorchine. Acest acid provine nu numai din struguri, acesta formându-se și în urma hidrolizei taninurilor hidrolizabile și condensate. Conținutul în acid galic din vinurile de Busuioacă de Bohotin s-a situat în intervalul cuprins între 6,42 mg/L (BBV-A-V6) și 32,76 mg/L (BBR-H-V0).

Acidul protocatehic numit uneori impropriu și acidul pirocatehic (pentru că se poate obține din pirocatechină) se găsește în general în cantități mai mari în semințe și ciorchine, iar în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin acesta a înregistrat valori cuprinse între 21,26 mg/L (BBV-A-V7) și 89,55 mg/L (BBR-H-V0₃).

Un alt acid hidroxibenzoic este reprezentat de acidul *p*-hidroxibenzoic, compus ce se găsește sub formă de urme în piețițele bobitelor iar concentrația acestuia în vinurile de Busuioacă de Bohotin a fost cuprinsă între 12,75 mg/L (BBV-H-V3) și 64,12 mg/L (BBR-H-V3).

Tabelul nr.4.13/Table no.4.13

Compușii fenolici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânt din Centrul Viticol Huși
 Phenolic compounds identified by HPLC in Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Huși Viticulture

Centre

Compușii fenolici (mg/L) BBV-H	B.B.V (H)-V0	B.B.V (H)-V1	B.B.V (H)-V2	B.B.V (H)-V3	B.B.V (H)-V4	B.B.V (H)-V5	B.B.V (H)-V6	B.B.V (H)-V7
Acid galic	18,68	16,81	19,55	13,47	19,23	18,37	19,23	17,58
Acid protocatehic	42,37	31,29	56,17	61,07	51,91	46,28	51,91	26,78
Acid <i>p</i> -hidroxibenzoic	27,07	23,69	35,14	12,75	13,33	47,79	13,33	51,72
Acid vanilic	19,88	9,49	25,24	29,79	26,55	23,28	26,55	21,76
Acid siringic	0,84	2,11	4,81	3,70	3,94	2,58	3,94	2,71
Acid salicilic	2,84	4,02	11,12	10,37	9,06	9,04	9,06	0,55
Acid gentisic	8,42	1,26	3,72	3,85	2,87	2,57	2,87	7,16
Acid <i>p</i> -cumaric	1,52	0,57	0,80	1,09	1,11	0,53	1,11	1,13
Acid cafeic	34,18	0,60	0,30	9,84	7,16	0,81	7,16	4,28
Acid ferulic	5,74	4,22	5,81	5,31	5,55	4,46	5,55	3,97
Acid sinapic	0,84	0,78	1,04	1,16	1,07	0,79	1,07	0,41
Acid clorogenic	25,43	0,93	1,44	1,44	1,35	0,73	1,35	0,95
<i>trans</i> -Resveratrol	73,39	16,04	23,81	7,12	20,87	8,47	20,87	26,66
<i>cis</i> -Resveratrol	2,19	2,32	2,39	2,55	2,51	0,51	2,51	1,98
Polidatin (piceid)	0,17	0,07	0,12	0,11	0,14	0,13	0,14	0,03
Acid elagic	0,33	nd	nd	nd	nd	0,05	nd	nd
Catechina	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Epicatechina	4,94	0,52	5,63	1,96	3,54	0,79	3,54	14,25
Procianidina B1	11,92	4,42	7,61	7,58	7,72	9,65	7,72	2,13
Procianidina B2	1,33	22,39	3,21	0,52	1,40	0,74	1,40	13,29
Quercitina	2,02	1,96	2,61	2,28	2,77	1,75	2,77	73,84
Hiperozid	0,03	0,03	11,62	9,33	9,85	10,70	9,85	1,46
Rutin	3,66	2,09	3,85	3,91	2,97	2,92	2,97	0,86
Morin	0,27	0,28	0,30	0,31	0,30	0,35	0,30	0,24

*nd – nedetectat;

Tabelul nr.4.14/Table no.4.14

Compușii fenolici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși
 Phenolic compounds identified by HPLC in Busuioacă de Bohotin wines obtained from Pink Biotype of Huși Viticulture Centre

Compușii fenolici (mg/L) BBR-H	B.B.R (H)-V0	B.B.R (H)-V1	B.B.R (H)-V2	B.B.R (H)-V3	B.B.R (H)-V4	B.B.R (H)-V5	B.B.R (H)-V6	B.B.R (H)-V7
Acid galic	32,76	18,70	14,95	20,09	13,61	16,50	13,94	9,98
Acid protocatehic	89,55	74,84	68,81	83,96	60,88	49,90	43,73	26,64
Acid <i>p</i> -hidroxibenzoic	50,13	51,82	64,12	46,81	60,17	43,72	59,16	45,12
Acid vanilic	58,83	36,15	42,44	54,51	24,34	8,75	3,26	1,64
Acid siringic	2,84	3,25	3,15	3,68	3,11	2,43	2,69	2,23
Acid salicilic	2,14	9,59	7,44	8,71	1,79	3,86	3,87	0,50
Acid gentisic	9,16	9,36	9,29	14,10	8,52	4,12	2,40	2,67
Acid <i>p</i> -cumaric	1,68	1,03	1,74	1,72	1,40	0,69	0,45	0,40
Acid cafeic	75,61	42,10	1,15	61,35	0,08	0,15	7,56	0,22
Acid ferulic	6,40	5,35	6,27	6,51	5,82	4,32	4,01	3,62
Acid sinapic	0,47	0,25	0,46	0,52	0,29	0,56	0,26	nd
Acid clorogenic	2,77	3,18	2,26	3,85	2,51	2,13	2,01	1,44
<i>trans</i> -Resveratrol	128,82	150,84	226,30	6,56	81,44	55,78	74,95	17,47
<i>cis</i> -Resveratrol	0,53	0,41	2,83	1,01	0,27	2,83	2,81	2,26
Polidatin (piceid)	0,38	0,26	0,29	0,03	0,17	0,07	0,06	0,04
Acid elagic	0,02	0,02	0,04	0,04	0,02	0,02	0,02	0,00
Catechina	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Epicatechina	2,54	3,01	0,82	3,72	2,61	2,35	2,14	1,17
Procianidina B1	28,61	29,15	48,05	35,12	25,93	12,88	10,12	3,40
Procianidina B2	22,03	0,31	0,40	0,50	23,05	20,62	20,73	13,38
Quercitina	1,11	1,52	1,20	0,90	1,25	0,77	0,78	0,68
Hiperozid	0,08	3,65	3,02	3,57	0,11	0,10	0,10	0,07
Rutin	3,07	2,88	0,61	3,79	0,50	1,17	0,57	0,89
Morin	0,03	0,34	0,38	0,06	0,36	0,35	0,35	0,27

Tabelul nr.4.15/Table no.4.15

Compușii fenolici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești
 Phenolic compounds identified by HPLC in Busuioacă de Bohotin wines obtained from Dark Violet Biotype of Averești Viticulture
 Centre

Compușii fenolici (mg/L) BBV-A	B.B.V (A)-V0	B.B.V (A)-V1	B.B.V (A)-V2	B.B.V (A)-V3	B.B.V (A)-V4	B.B.V (A)-V5	B.B.V (A)-V6	B.B.V (A)-V7
Acid galic	17,86	11,36	12,23	10,03	9,93	10,58	6,42	11,07
Acid protocatehic	47,53	64,80	52,50	56,47	61,50	37,39	28,19	21,26
Acid <i>p</i> -hidroxibenzoic	42,26	56,17	45,69	61,60	54,58	47,18	50,07	42,24
Acid vanilic	32,12	2,41	15,79	3,93	26,62	3,47	4,07	1,06
Acid siringic	4,90	3,63	4,07	4,18	2,94	0,96	2,36	2,97
Acid salicilic	5,75	8,80	12,52	10,07	21,77	10,67	7,53	1,40
Acid gentisic	11,12	8,65	8,52	9,22	9,52	1,28	0,55	4,76
Acid <i>p</i> -cumaric	1,54	1,05	2,28	1,64	1,52	0,47	11,35	0,82
Acid cafeic	45,83	0,41	25,75	0,82	0,73	1,68	0,75	0,30
Acid ferulic	4,38	4,76	5,27	5,09	5,82	3,95	3,87	3,18
Acid sinapic	0,86	0,76	0,90	0,87	0,59	0,39	0,50	0,33
Acid clorogenic	3,04	0,88	5,31	4,28	5,38	1,28	1,54	1,16
<i>trans</i> -Resveratrol	10,59	86,74	151,05	194,86	33,77	215,33	99,80	13,75
<i>cis</i> -Resveratrol	2,93	0,68	0,96	1,78	7,77	1,13	0,57	0,73
Polidatin (piceid)	0,10	0,09	0,11	0,17	0,11	0,18	0,14	0,03
Acid elagic	nd	nd	0,01	0,02	0,01	0,01	nd	nd
Catechina	nd	nd	nd	nd	nd	205,65	nd	nd
Epicatechina	1,74	0,43	0,39	4,31	4,80	1,32	0,54	0,62
Procianidina B1	7,25	25,97	35,28	45,77	43,57	51,61	46,53	7,48
Procianidina B2	0,75	1,61	0,44	0,43	6,33	1,11	0,63	18,14
Quercitina	0,71	1,30	1,54	0,98	2,17	1,73	0,80	95,47
Hiperozid	0,09	0,08	0,07	0,04	0,09	0,06	0,05	1,73
Rutin	4,03	5,59	1,03	8,17	7,35	2,98	0,86	1,48
Morin	0,36	0,06	0,06	0,11	0,51	0,12	0,35	0,05

Acidul vanilic are drept precursor în biosinteză acidul protocatehic sau acidul gentisic și se găsește în vin și sub formă de ester (vanilat de etil). Acest acid s-a dovedit a avea proprietăți benefice organismului uman prin efectele împotriva grețurilor sau activități antihelminitice fiind de asemenea capabil să suprimă fibroza hepatică în leziunile hepatice cronice [99]. Valorile concentrației în acid vanilic din vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au situat între 9,49 mg/L (BBV-H-V1) și 29,79 mg/L (BBV-H-V3) pentru vinurile obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Huși, între 1,64 (BBR-H-V7) și 58,83 mg/L (BBR-H-V0) în cazul biotipului roz, iar pentru vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești valorile acidului vanilic au fost cuprinse între 1,06 (BBV-A-V7) și 32,12 mg/L (BBV-A-V0).

Acidul siringic este esterul dimetilic al acidului galic ce se formează în urma degradării antocianidelor (malvidină, oenidină) și poate prezenta proprietăți antioxidante, antibacteriene și hepatoprotectoare [99; 109]. Vinurile de Busuioacă de Bohotin au exprimat valori ale concentrației în acid siringic ce s-au situat în intervalul 0,84 mg/L (BBV-H-V0) și 4,90 mg/L (BBV-A-V0).

Acidul salicilic este un acid o-hidroxibenzoic cu o activitate antiseptică slabă ce se regăsește în vin sub formă de urme după fermentația alcoolică. Lin ș.a., 1998 [126] au descris că acidul salicilic are proprietăți analgezice, antipiretice, antiinflamatorii, antiseptice și antifungice. În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin, conținutul în acid salicilic s-a situat între 0,55 mg/L (BBV-H-V7) și 11,12 mg/L (BBV-H-V2) pentru vinurile obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Huși, și între 0,50 (BBR-H-V7) și 9,59 mg/L (BBR-H-V1) în cazul biotipului roz, iar pentru vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești valorile acidului salicilic au fost cuprinse între 1,40 (BBV-A-V7) și 21,77 mg/L (BBV-A-V4).

Acidul gentisic este izomerul acidului protocatehic și se formează ca și acidul salicilic în urma fermentației alcoolice, neregăsindu-se în struguri. Acest acid fenolic a fost descris ca având efecte antiinflamatoare, antireumatice, analgezice și este, de asemenea, un agent citostatic și capabil să inhibe oxidarea lipoproteinelor cu densitate scăzută în plasma umană [2]. Conținutul în acid gentisic în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin a variat de la 0,55 mg/L (BBV-A-V6) înregistrată de proba obținută din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești la 14,10 mg/L, valoarea maximă a concentrației în acid gentisic exprimată de proba de vin obținută din biotipul roz recoltat din Centrul Viticol Huși (BBR-H-V3).

Acizii hidroxicinamici constituie una din cele mai reprezentative clase de acizi fenolici care se regăsesc atât în struguri cât și în vin [6]. Acizii *para*-cumaric, cafeic, ferulic și sinapic reprezintă compușii de referință din această clasă. Acizii cinamici sunt asociați de asemenea cu procesul de îmbrunare a vinului și sunt precursorii compușilor fenolici volatili [107]. În general sunt raportate concentrații de până la 100 mg/L.

Acidul p-cumaric reprezintă un prim derivat al acizilor hidroxicinamici rezultat din fenilalanină sau tirozină prin intermediul căii de biosinteză a acidului shikimic. Acest acid fenolic se poate regăsi sub formă esterificată (cumarilatul de etil) sau acilată (cu antociani) și contribuie la aroma și gustul vinului prin nuanțe balsamice, amărui sau aspre. În vinurile de Busuioacă de Bohotin conținutul în acid p-cumaric a fost destul de scăzut, acesta variind

în general într-un interval situat între 0,40 mg/L (BBR-H-V7) și 2,28 mg/L (BBV-A-V2), iar singura probă care a prezentat un conținut mai ridicat a fost cea obținută din biotipul vânat din Centrul Viticol Averești obținută prin criomacerare și microunde (BBV-A-V6) cu 11,35 mg/L.

Acidul cafeic este un alt compus de referință din această clasă de compuși fenolici care contribuie de asemenea la nuanțele balsamice ale vinului, iar în cazul probelor de Busuioacă de Bohotin acesta a înregistrat un conținut ce a variat foarte mult în funcție de varianta de macerare utilizată cu valori cuprinse între 0,08 mg/L (BBR-H-V4) și 75,61 mg/L (BBR-H-V0₃).

Acidul ferulic are drept precursori acidul cafeic și participă de asemenea la nuanțele balsamice ale vinului, acest compus regăsindu-se în general în cantități mici sub formă de urme atât în struguri cât și în vin. Conținutul în acid ferulic din vinurile obținute în contextul discutat a înregistrat valori cuprinse între 3,18 mg/L (BBV-A-V7) și 6,51 mg/L (BBR-H-V3).

Acidul sinapic are drept precursor acidul ferulic, iar cantitatea acestuia în vinurile de Busuioacă de Bohotin a fost destul de mică, acestea înregistrând valori cuprinse între 0,25 mg/L (BBR-H-V1) și 1,16 mg/L (BBV-H-V3).

Acidul clorogenic este un ester ce se formează în urma reacției dintre acidul cafeic și acidul quinic și care poate prezenta efecte antiinflamatoare asupra organismului uman. Conținutul în acid clorogenic din vinurile de Busuioacă de Bohotin a prezentat în general valori mici cuprinse între 0,73 mg/L (BBV-H-V5) și 5,38 mg/L (BBV-A-V4). Proba martor de Busuioacă de Bohotin obținută din biotipul vânat din Centrul Viticol Huși (BBV-H-V0) a reprezentat o excepție din punct de vedere al conținutului în acid clorogenic, atingând o valoare de 25,43 mg/L.

Stilbenii sunt compușii fenolici care conțin două inele aromatice legate printr-o punte etenică. În vinurile din acest experiment s-au identificat următorii compuși care aparțin acestei clase chimice: resveratrolul (*trans*- și *cis*-) și piceidul (polidatin).

Resveratrolul (3,5,4'-trihidroxistilbena) este cea mai cunoscută stilbenă prezentă în struguri și vin și apare sub două forme izomere *trans* și *cis*, cea dintâi fiind și cea mai stabilă și abundentă. Resveratrolul este considerată de anumiți autori ca fiind drept o fitoalexină – toxină produsă în struguri determinată de infecția fungică (ex: de *Botritis cinerea Pers*; *Plasmopora viticola*) sau un produs obținut în urma factorilor de stres abiotici (prin radiații UV, cataliza metalelor grele etc.). Din moment ce resveratrolul se găsește în pielea strugurilor, concentrația finală a acestuia în vin depinde de tehnicile oenologice utilizate pe parcursul vinificației. Astfel, vinurile la care s-a aplicat o perioadă mai mare de macerare au un conținut mai ridicat în resveratrol [117].

În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin s-au identificat în general cantități destul de ridicate de *trans*-resveratrol, valorile cantitative variind foarte mult în funcție de tehnica de macerare utilizată. Astfel, în anul 2014 conținutul în *trans*-resveratrol s-a situat într-un interval cuprins între o valoare minimă de 6,56 mg/L determinată de varianta de macerare prin microunde (BBR-H-V3) și o valoare maximă de 226,3 mg/L înregistrată de proba de vin obținută prin termomacerare (BBR-H-V2). Conținutul în general foarte ridicat în *trans*-resveratrol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute ar putea fi determinat de

durata mare de macerare (7 zile) aplicată pentru toate variantele. Prolungirea duratei de macerare a condus la o extracție mai bună a *trans*-resveratrolului din piețele strugurilor.

Cis-resveratrolul reprezintă forma izomeră a resveratrolului ce este în general mai puțin stabilă decât *trans*-resveratrolul, iar în cazul probelor de Busuioacă de Bohotin, conținutul acestuia a variat de la 0,27 mg/L (BBR-H-V4) în cazul vinurilor obținute din biotipul roz și 7,77 mg/L (BBV-A-V4) pentru vinurile obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești.

Piceidul (polidatin) este o glucozidă stilbenoidă și este un derivat important al resveratrolului prezent în sucurile de struguri [178]. Vinurile de Busuioacă de Bohotin au înregistrat o concentrație scăzută în acest compus, cantitatea acestuia fiind cuprinsă între 0,03 mg/L (BBV-H-V7; BBV-A-V7; BBR-H-V3) și 0,38 mg/L (BBR-H-V0₃).

Compuși flavonoidici

Acidul elagic este format din două molecule de acid galic și participă la formarea taninurilor hidrolizabile (elagotaninurilor) prin esterificarea cu una sau două molecule de monozaharide. În vinurile de Busuioacă de Bohotin acidul elagic a fost detectat în foarte puține probe și doar sub formă de urme, concentrația acestuia fiind cuprinsă între 0,01 și 0,33 mg/L. Conținutul foarte scăzut în acid elagic observat în aceste vinuri nu este surprinzător deoarece acest compus fenolic se regăsește în general sub forme mai complexe, ale taninurilor hidrolizabile.

Taninurile condensate sunt derivați hidroxilați ai flavanului (flavanoli) din care fac parte catechinele (3-flavanoli) și proantocianidinele (3,4-flavandioli).

Catechinele provin din semințele și piețele strugurilor și ulterior sunt transmise în vin. Conținutul în catechină din vinurile experimentale a fost identificat doar într-o singură probă (BBV-A-V5) cu o valoare de 205,65 mg/L. Lipsa catechinelor monomere (configurația *trans*) din vinurile de Busuioacă de Bohotin ar putea fi explicată prin participarea acestora în diverse reacții de esterificare cu acidul galic și producerea de galocatechine, polimerizarea acestora cu formarea de flavolani, procianidine, flobafene, formarea de compuși policondenșați cu proantocianidinele (flavolani) sau reacția acestora cu antocianidinele sau proteinele *etc.*

Epicatechina reprezintă forma izomeră cu configurație *cis* a catechinei iar în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin aceasta a fost detectată în toate probele, concentrația acesteia fiind cuprinsă între 0,39 mg/L (BBV-A-V2) și 14,25 mg/L (BBV-H-V7).

Proantocianidinele sunt compuși polimerici ce derivă de la 3,4-flavandioli care dau naștere antocianidinelor și se regăsesc în părțile solide ale strugurilor (semințe, piețele), fiind transferate ulterior în must prin operațiile de zdrobire, macerare, fermentare. Acești compuși sunt responsabili de caracteristicile senzoriale ale vinului (culoare, gust, astringență și amăreală) și joacă un rol important în procesul de maturare și învechire datorită participării acestora în reacțiile de oxidare, condensare, polimerizare. În vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au identificat procianidinele B1 și B2. Procianidinele din grupul B sunt oligomeri ai 3-flavanolilor formate din epicatechină și catechină (procianidina B1) și din două molecule de epicatechină (procianidina B2) prin legături C4→C8.

Conținutul în procianidină B1 din vinurile de Busuioacă de Bohotin a variat de la 2,13 (BBV-H-V7) la 51,61 mg/L (BBV-A-V5), iar în cazul procianidinei B2 concentrația

acestui s-a situat în intervalul cuprins între 0,31 (BBR-H-V1) și 23,05 mg/L (BBR-H-V4). Comparând concentrațiile celor două procianidine din vinurile analizate se observă că, conținutul în procianidină B1 este mai ridicat față de cea din tipul B2. Astfel, prin această constatare se poate confirma una din ipotezele care explică scăderea conținutului în catechină, respectiv prin polimerizarea acestora cu epicatechina și formarea unor cantități mai ridicate de procianidine de tip B1.

Flavonolii sunt caracterizați de prezența dublei legături între atomii C2 și C3 și a unei grupări hidroxil în C3, fiind denumite adesea 3-hidroxi flavone. De acești compuși se pot lega diferite zaharuri obținându-se glucozide, glucuronide, galactozide *etc.* Dintre flavonolii identificați în vinurile de Busuioacă de Bohotin se pot menționa quercitina și două derivate ale quercitinei, hiperozidul și rutina.

Quercitina reprezintă unul din flavonolii cei mai cunoscuți și abundenți cu o amăreală pronunțată și care participă la reacțiile de copigmentare cu antocianii, contribuind la stabilitatea culorii roșii a vinurilor. În vinurile de Busuioacă de Bohotin conținutul în quercitină a variat în general de la 0,68 (BBR-H-V7) la 2,77 mg/L (BBV-H-V4; BBV-H-V6), ajungând însă și la concentrații mai ridicate de 95,47 (BBV-A-V7) și 73,84 mg/L (BBV-H-V7).

Hiperozidul (quercitina-3-galactozidul) este un derivat glicozidic al quercitinei cu galactoza ce se regăsește în cantități minore în vinuri iar conținutul acestuia în probele experimentale a variat între 0,03 mg/L (BBH-V0;V1) și 11,62 mg/L (BBH-V2).

Un al derivat glicozidic al quercitinei este **rutina** (quercetina 3-O- (6"-ramnozil)-glucozidul) a cărui prezență a fost detectată în vinurile de Busuioacă de Bohotin, concentrația acestuia fiind cuprinsă între 0,50 (BBR-H-V4) și 8,17 mg/L (BBV-A-V3).

Morinul reprezintă un alt compus chimic care face parte din clasa flavonolilor ce a fost identificat în vinurile de Busuioacă de Bohotin în cantități destul de mici și a cărui concentrație a variat de la 0,03 (BBR-H-V0) la 0,51 mg/L (BBV-A-V4).

După cum s-a observat, concentrația în compuși fenolici identificați în vinurile de Busuioacă de Bohotin depinde de mai mulți factori precum soiul de strugure (biotipurile utilizate), tehnicile de macerare utilizate, terroir-ul, anul de producție *etc.* Prin urmare nu este surprinzător faptul că s-au identificat diferențe mari în concentrațiile acestora din diferitele vinuri studiate.

Analizând compoziția fenolică a vinurilor de Busuioacă de Bohotin prin prisma biotipurilor utilizate, s-au remarcat anumite diferențe. Biotipul roz a prezentat un conținut mai ridicat în acizi fenolici totali față de biotipul vânat, vinurile obținute din acesta înregistrând un conținut mediu de 178,06 mg/L (acizi hidroxibenzoici) și 36,41 mg/L (acizi hidroxicinamici). În schimb, vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat (indiferent de centrul viticol) au exprimat valori mai mici ale conținutului în acizi fenolici, cu un conținut mediu de 128,94 mg/L (acizi hidroxibenzoici) și 19,20 mg/L (acizi hidroxicinamici) pentru biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Huși și respectiv 138,31 mg/L (acizi hidroxibenzoici) și 20,17 mg/L (acizi hidroxicinamici) pentru vinurile obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești.

În ceea ce privește conținutul în compuși stilbenici (*trans* și *cis*—resveratrolul, piceidul) biotipurile soiului Busuioacă de Bohotin nu au exercitat o influență mare, conținutul în acești compuși fiind destul de apropiat.

Examinând conținutul în compuși flavonoidici (taninuri hidrolizate, condensate și flavonoli) nu s-au remarcat diferențe majore între cele două biotipuri, cantitatea acestora fiind mai mult influențată de alți factori precum terroir-ul, tehnicile de macerare *etc.*

4.3.1.1. Profilul antocianilor vinului de Busuioacă de Bohotin

Antocianidinele cunoscute și drept antociani sunt pigmenți flavonoidici (derivați ai 2-fenil- α -cromenei) solubili în apă și care în funcție de pH-ul mediului intracelular și în anumite cazuri în funcție de agenții de complexare (metale) pot contribui la diversele culori precum roșu, violet și albastru [83]. Ei sunt răspândiți în întregul regn vegetal iar în struguri aceștia sunt localizați în principal în pielețe cu excepția soiurilor tinctoriale, care conțin antociani și în pulpa bobului. În pielețe, antocianii sunt prezenți în primele straturi exterioare ale țesutului hipodermic [174] și exclusiv în vacuole [79]. Antocianii din struguri cuprind în general 5 antocianidine (cianidină, peonidină, petunidină, delfinidină și malvidină). Acești antociani pot fi diferențiați în funcție de structura lor în următoarele grupe/clase: antocianii neacilați (antocianii monoglucozilați și diglucozilați), antocianii acilați, piranoantocianii, produșii direcți de condensare flavanoli—antociani, produșii de condensare intermediari (mediate) ai acetaldehidei sau a altor compuși cu antocianii, în fine antocianii polimerici [102; 137]. Tipul, proporția și cantitatea de antociani din strugurii roșii depind în mare măsură de soi și de condițiile de creștere, cum ar fi practicile viticole și caracteristicile climatice regionale [32].

Profilul antocianic al strugurilor și vinului obținut din aceștia este determinat de relațiile dintre diferiți antociani. Profilul antocianilor sau amprenta antocianică poate fi folosit drept criteriu chemotaxonomic, fiind utilizat de mulți autori în diferențierea soiurilor și în stabilirea autenticității vinurilor roșii din moment ce se propune că proporția dintre cei cinci antociani să fie utilizată într-o caracterizare varietală [158]. Cu toate acestea, compoziția antocianică a vinurilor roșii depinde nu numai de profilul antocianic inițial din boabele de struguri, ci și de tehnicile de vinificație utilizate [69]. În plus, antocianii monomeri din vinurile roșii nu sunt foarte stabili, fiind implicați în diferite reacții care conduc la scăderea concentrației acestora [123].

Determinarea antocianilor din vinurile de Busuioacă de Bohotin s-a realizat prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC), iar individualizarea acestora s-a făcut cu ajutorul unui detector în U.V. Pe baza cromatogramelor obținute s-au identificat și calculat procente de participare ale antocianilor monoglucozilați neacilați și acilați: delfinidină-3-monoglucozid (Dp), cianidină-3-monoglucozid (Ci), petunidină-3-monoglucozid (Pt), peonidină-3-monoglucozid (Po), malvidină-3-monoglucozid (Mv), peonidină-3-monoglucozid acetilat (Po-a), malvidină-3-monoglucozid acetilat (Mv-a), peonidină-3-monoglucozid cumarilat (Po-c), malvidină-3-monoglucozid cumarilat (Mv-c).

Tabelul nr.4.16/Table.no.4.16

Profilul antocianic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși (BBV–H) în anul 2014 (procentele de participare, %)
 Anthocyanins profile of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV–H) in 2014 (percentages of participation, %)

Varianta de macerare	Antociani liberi (%)					Antocianii acilați (%)			
						3-gl-acetilat		3-gl-cumarilat	
	Dp	Ci	Pt	Po	Mv	Po-a	Mv-a	Po-c	Mv-c
V0	2,77	1,18	9,39	4,46	80,12	0,56	0,87	nd	0,66
V1	3,89	1,23	10,12	6,16	78,60	nd	nd	nd	nd
V2	2,46	0,89	6,97	5,85	83,26	nd	0,56	nd	nd
V3	3,00	nd	6,10	6,44	84,04	nd	0,42	nd	nd
V4	2,64	1,00	8,12	5,16	82,63	nd	0,46	nd	nd
V5	1,61	0,85	3,91	4,66	87,51	0,70	0,42	nd	0,35
V6	1,60	0,93	5,30	4,15	87,59	nd	0,43	nd	nd
V7	18,19	nd	nd	11,38	70,43	nd	nd	nd	nd

Analizând profilul antocianilor vinurilor din 2014 (tab. nr.4.16) se observă că în cazul celor obținute din biotipul vânăț recoltat din Centrul Viticol Huși (BBV–H) malvidina a prezentat un procent de participare cuprins între 70,43 (V7) și 87,59% (V6), delfinidina între 3,89 (V1) și 18,19% (V7), peonidina între 4,15 (V6) și 11,38% (V7), petunidina între 3,91 (V5) și 10,12% (V1), iar cianidina între 0,85 (V5) și 1,23% (V1). În ceea ce privește antocianii acilați, aceștia au fost identificați în foarte puține probe, iar cumarilatul peonidinei nu a putut fi detectat în nici o probă din ambii ani de experiment. Astfel, acetilatul peonidinei a fost detectat în doar două probe și a oscilat între 0,56 (V0) și 0,70% (V5), acetilatul malvidinei a variat între 0,42 (V3;V5) și 0,87% (V0), iar cumarilatul malvidinei s-a regăsit de asemenea în doar două probe: V5 cu 0,35% și V0 cu 0,66%.

Cu privire la profilul antocianilor liberi din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânăț din Centrul Viticol Averești (BBV–A), la acesta participă: malvidina 38,25 (V7) – 85,64% (V1), delfinidina 4,03 (V1) – 13,02% (V6), peonidina 4,78 (V0) – 8,57% (V2), petunidina 1,24 (V0) – 3,68% (V5) și cianidina 0,95% (V2). Dintre antocianii acilați, acetilatul peonidinei a oscilat între 0,44% (V1) și 0,65% (V4), acetilatul malvidinei între 0,56% (V2) și 31,08% (V7), iar cumarilatul malvidinei a variat între 0,45% (V1) și 30,67% (V7).

În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz (BBR–H), la profilul antocianic au participat: malvidina între 51,62% (V3) – 100% (V6), peonidina între 10,35% (V1) și 24,48% (V2), petunidina între 9,14% (V0) și 16,36% (V1), cianidina 2,58% (V1) – 4,77% (V0), iar delfinidina a oscilat între 1,61 (V1) și 3,40% (V0). În ceea ce privește antocianii acilați au participat doar acetilatul malvidinei 1,68 (V1) – 13,31% (V3) și cumarilatul malvidinei 1,55 (V1) – 22,72% (V3).

Tabelul nr.4.17/Table no.4.17

Profilul antocianic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat provenit din Averești (BBV-A) în anul 2014 (procentele de participare, %)
 Anthocyanins profile of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Averești (BBV-A) in 2014 (percentages of participation, %)

Varianta de macerare	Antociani liberi (%)					Antocianii acilați (%)			
						3-gl-acetilat		3-gl-cumarilat	
	Dp	Ci	Pt	Po	Mv	Po-a	Mv-a	Po-c	Mv-c
V0	6,24	nd	1,24	4,78	84,77	nd	1,53	nd	1,46
V1	4,03	nd	1,81	6,96	85,64	0,44	0,67	nd	0,45
V2	4,80	0,95	1,67	8,57	82,44	0,48	0,56	nd	0,53
V3	6,13	nd	1,61	8,47	81,84	0,63	0,67	nd	0,65
V4	4,85	nd	1,59	6,71	82,04	0,65	0,98	nd	3,17
V5	11,04	nd	3,68	6,71	78,57	nd	0,00	nd	0,00
V6	13,02	nd	3,53	7,67	75,78	nd	0,00	nd	0,00
V7	nd	nd	nd	nd	38,25	nd	31,08	nd	30,67

Tabelul nr.4.18/Table no.4.18

Profilul antocianic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H) în anul 2014 (procentele de participare, %)
 Anthocyanins profile of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR-H) in 2014 (percentages of participation, %)

Varianta de macerare	Antociani liberi (%)					Antocianii acilați (%)			
						3-gl-acetilat		3-gl-cumarilat	
	Dp	Ci	Pt	Po	Mv	Po-a	Mv-a	Po-c	Mv-c
V0	3,40	4,77	9,14	12,88	63,76	nd	6,06	nd	nd
V1	1,61	2,58	16,36	10,35	65,87	nd	1,68	nd	1,55
V2	nd	nd	nd	24,48	75,52	nd	nd	nd	nd
V3	nd	nd	nd	12,35	51,62	nd	13,31	nd	22,72
V4	nd	nd	nd	22,42	77,58	nd	nd	nd	nd
V5	nd	nd	nd	12,65	75,53	nd	nd	nd	11,82
V6	nd	nd	nd	nd	100	nd	nd	nd	nd
V7	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

În anul 2015 profilul antocianilor vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat din Centrul Viticol Averești (BBV-A) este alcătuit din malvidină 40,21 (V7) – 80,99% (V1), delfinidină 8,52 (V1) – 57,79% (V7), petunidină 2,32 (V3) – 9,07% (V6), peonidină 4,86 (V1) – 8,58% (V5). Din punct de vedere al antocianilor acilați, au participat doar derivatele acilate ale malvidinei respectiv acetilatul malvidinei 0,13 (V0) – 7,68% (V5) și cumarilatul malvidinei 0,76 (V5) – 2,21% (V1).

În ceea ce privește vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz (BBR-H) din anul 2015 (tabelul nr. 4.20) nu s-a reușit construirea profilului antocianic, fiind detectate în doar două probe urme ale acestor compuși: V0–proba martor (100% malvidină) și V1–Macerare-fermentare (74,51% malvidină; 12,88% petunidină și 12,88% peonidină).

Tabelul nr.4.19/Table no.4.19

Profilul antocianic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești (BBV–A) în anul 2015 (procentele de participare, %)
 Anthocyanins profile of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV–A) in 2015 (percentages of participation,%)

Varianta de macerare	Antociani liberi (%)					Antocianii acilați (%)			
						3-gl-acetilat		3-gl-cumarilat	
	Dp	Ci	Pt	Po	Mv	Po-a	Mv-a	Po-c	Mv-c
V0	12,03	nd	6,97	5,47	73,85	nd	0,13	nd	1,56
V1	8,52	nd	2,56	4,86	80,99	nd	0,87	nd	2,21
V2	11,20	nd	4,79	6,08	75,39	nd	1,34	nd	1,20
V3	9,36	nd	2,32	7,49	79,00	nd	0,56	nd	1,27
V4	10,38	nd	4,47	7,07	76,17	nd	nd	nd	1,92
V5	17,07	nd	6,41	8,58	59,40	nd	7,78	nd	0,76
V6	22,98	nd	9,07	6,04	54,41	nd	6,71	nd	0,80
V7	59,79	nd	nd	nd	40,21	nd	nd	nd	nd

Tabelul nr.4.20/Table no.4.20

Profilul antocianic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H) în anul 2015 (procentele de participare, %)
 Anthocyanins profile of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR–H) in 2015 (percentages of participation, %)

Varianta de macerare	Antociani liberi (%)					Antocianii acilați (%)			
						3-gl-acetilat		3-gl-cumarilat	
	Dp	Ci	Pt	Po	Mv	Po-a	Mv-a	Po-c	Mv-c
V0	nd	nd	nd	nd	100	nd	nd	nd	nd
V1	nd	nd	12,88	12,88	74,51	nd	nd	nd	nd
V2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
V3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
V4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
V5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
V6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
V7	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

4.3.1.1.1. Influența tehnicilor de macerare asupra profilului antocianilor

După cum se observă, procentele de participare ale celor 5 antociani determinați au oscilat foarte mult în funcție de tehnicile de macerare utilizate în cadrul vinificației. Dintre variantele de macerare care s-au evidențiat a avea o influență pregnantă asupra profilului antocianic al vinurilor obținute a fost macerația carbonică (V7).

Astfel, în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânăț recoltat din Centrul Viticol Huși, această tehnică de macerare a condus la procentul cel mai scăzut de participare al malvidinei (70,43%) și în același timp a determinat valorile procentuale cele mai ridicate ale delfinidinei (18,19%) și peonidinei (11,38%).

Macerația carbonică a determinat de asemenea procentele cele mai scăzute de participare ale malvidinei (38,25% în anul 2014 și 40,12% în 2015) precum și cele mai ridicate valori procentuale ale malvidinei acilate în 2014 (31,08% acetilatul malvidinei și

30,67% cumarilatul malvidinei) și ale delfinidinei (57,79%) în 2015 în cazul vinurilor obținute din biotipul vânat din Centrul Viticol Averești. În ceea ce privește vinurile obținute din biotipul roz, nu s-a reușit detectarea antocianilor, conducând implicit la imposibilitatea construirii profilului antocianic pentru vinurile rezultate din macerație carbonică.

O altă tehnică de macerare ce s-a evidențiat în privința profilului antocianilor a vinurilor obținute a fost varianta V6 (Criomacerare+Microunde). Această variantă de macerare a condus la obținerea unor rezultate variate și contrastante în ceea ce privește malvidina și delfinidina. Astfel, în cazul malvidinei s-a obținut valoarea procentuală cea mai ridicată pentru vinurile obținute din biotipul vânat din Huși (87,59%) și în același timp au rezultat valori mai scăzute în cazul biotipului vânat din Averești (75,78% – în 2014 și 54,41% în 2015). Această variantă a mai determinat valori procentuale mai scăzute ale delfinidinei în cazul vinurilor obținute din biotipul vânat din Huși (1,60%) și cea mai ridicată valoare în cazul biotipului vânat din Averești (13,02%).

4.3.1.1.2. Influența biotipurilor asupra profilului antocianic și diferențierea acestora

Protocolul experimental abordat a presupus utilizarea diferitelor tehnici de macerare în studiul a două biotipuri ale soiului Busuioacă de Bohotin: biotipul vânat și cel roz, cel din urmă reprezentând o variație fenotipică a soiului cu un grad de pigmentare mai scăzut.

Profilul antocianic al vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat (din ambele Centre Viticole) este constituit din următorii compuși în ordinea descrescătoare a participării lor: malvidina-3-monoglucozidul, delfinidina-3-monoglucozidul, peonidina-3-monoglucozidul, petunidina-3-monoglucozidul și cianidina-3-monoglucozidul.

În ceea ce privește formele acilate ale antocianilor (malvidina și peonidina), în biotipul vânat s-au identificat proporții foarte scăzute sau nedetectabile ale acestora în majoritatea probelor, observându-se doar formele acetilate și cumarilate ale malvidinei și forma acetilată a peonidinei.

În cazul biotipului roz a soiului Busuioacă de Bohotin, analiza HPLC a vinurilor obținute a permis construirea profilului antocianic doar în cazul probelor din anul 2014. Astfel, la profilul antocianilor al acestor probe de vin au participat următoarele antocianozide: malvidina-3-monoglucozidul, peonidina-3-monoglucozidul, petunidina-3-monoglucozidul, cianidina-3-monoglucozidul și delfinidina-3-monoglucozidul, iar în cazul antocianilor acetilați s-a observat prezența doar a formelor acetilate ale malvidinei. Este necesar de menționat că antocianii petunidina-3-monoglucozidul, cianidina-3-monoglucozidul și delfinidina-3-monoglucozidul au fost detectați doar în cazul a două probe (V₀ și V₁). Astfel, se poate spune că antocianii cei mai reprezentativi care au participat la profilul antocianic al acestor vinuri au fost malvidina-3-monoglucozidul și peonidina-3-monoglucozidul.

Stabilitatea antocianidelor este determinată de structura chimică a acestora, fiind afectată în mod direct de modul de hidroxilare și metoxilare al nucleului benzenic lateral. Astfel, grupările hidroxil ale *o*-difenolilor sunt mai sensibile la oxidarea enzimatică și non-enzimatică (catalizată de ioni de Cu și Fe) producând *o*-dichinone sau chiar dimerii

difenolilor. Prin urmare, cianidina, delfinidina și petunidina sunt antocianii care posedă o structură *o*-difenolică în nucleul benzenic și sunt în consecință mai sensibile la oxidare. Pe de altă parte, malvidina și peonidina nu posedă grupele hidroxil poziționate *orto*, determinând o rezistență mult mai mare la oxidare a acestor antociani [102]. Astfel, nu este surprinzător faptul că dintre cele 5 antocianidine identificate, malvidina și peonidina au prezentat proporția cea mai ridicată în majoritatea probelor de Busuioacă de Bohotin, iar peonidina a fost a doua antocianidină detectată în biotipul roz al acestui soi.

Din moment ce peonidina-3-monoglucozidul și malvidina-3-monoglucozidul sunt antociani stabili și reprezintă formele finale în cadrul biosintezei antocianilor [181], Monagas ș.a, 2003 [136] au propus raportul dintre acești compuși drept marker varietal. Mai mult decât atât, ambii compuși cresc probabilitatea interacțiunii cu flavonolii și etanolul conducând la pigmentarea roșie mai stabilă a vinului [125]. Raportul dintre malvidină și peonidină (Mv/Po) este legat de activitățile enzimatică din plante ale flavonoid-3'-hidroxilazei (FH) și *o*-dihidroxifenil-O-metiltransferazei (MT) [181]. Prin urmare, s-a calculat raportul dintre acești antociani cu scopul realizării unei diferențieri a celor două biotipuri ale soiului Busuioacă de Bohotin (fig.4.1-4.4).

Astfel, în cazul biotipului vânat recoltat din Centrul Viticol Huși, valorile raportului dintre malvidină și peonidină (Mv/Po) au oscilat între 6,19 (V7) și 21,12 (V6), iar în cazul probelor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat provenit din Centrul Viticol Averești acestea au înregistrat valori cuprinse între 9,62 (V2) și 17,74 (V0) în anul 2014 și între 6,92 (V5) și 16,66 (V1) în 2015.

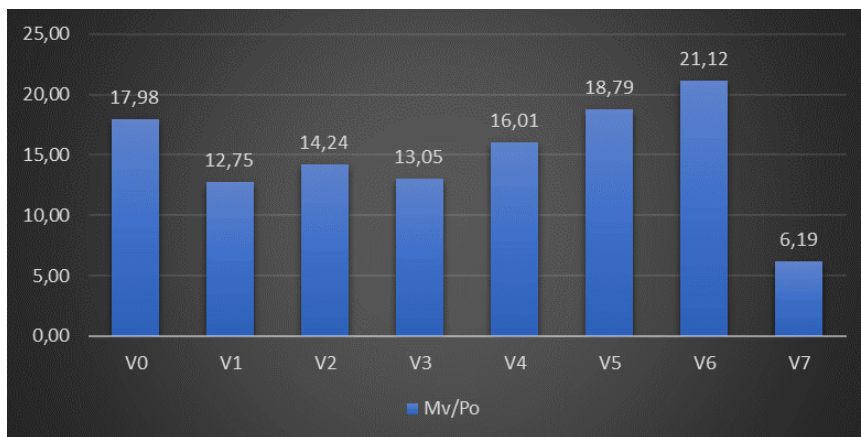


Figura nr.4.1 Raportul dintre Malvidină și Peonidină (Mv/Po) a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV–H) din anul 2014

Figure no.4.1 The ratio between Malvidine and Peonidine (Mv/Po) of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV–H) in 2014

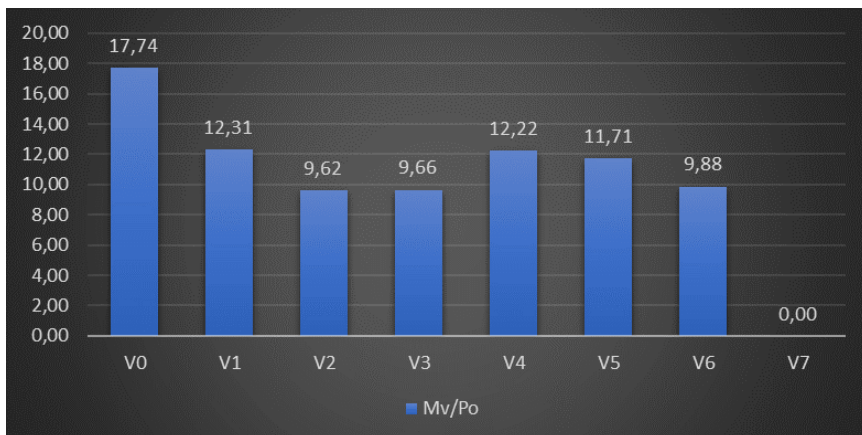


Figura nr.4.2 Raportul dintre Malvidină și Peonidină (Mv/Po) a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV-A) din anul 2014

Figure no.4.2 The ratio between Malvidine and Peonidine (Mv/Po) of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV-A) in 2014

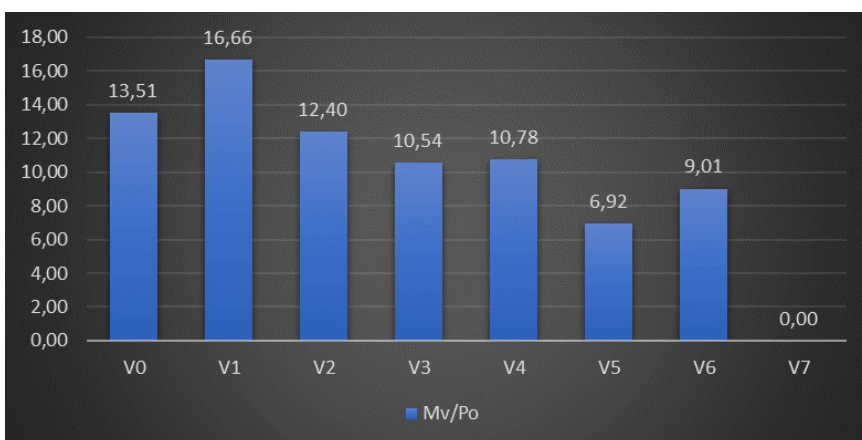


Figura nr.4.3 Raportul dintre Malvidină și Peonidină (Mv/Po) a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul din Centrul Viticol Averești (BBV-A) din anul 2015

Figure no.4.3 The ratio between Malvidine and Peonidine (Mv/Po) of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV-A) in 2015

În ceea ce privește biotipul roz (fig.4.4), vinurile obținute au exprimat valori mult mai scăzute ale raportului dintre malvidină și peonidină, acestea fiind cuprinse între 3,09 (V2) și 6,37 (V1). Altfel spus, în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz, peonidina a prezentat o proporție mai mare de participare la profilul antocianic respectiv între 10,35% (V1) și 24,48% (V2) față de vinurile obținute din biotipul vânat, peonidina înregistrând un procent de participare cuprins între 4,15% și 11,38%.

Într-un alt studiu Lăcureanu, 2015 [120], în urma determinării profilului antocianilor, a reușit o diferențiere a vinurilor de Busuioacă de Bohotin de cele comerciale prin calcularea raportului dintre antocianii acetilați și cumarilați. Astfel, s-a observat că probele de Busuioacă de Bohotin obținute în acel experiment s-au caracterizat printr-o proporție mai ridicată în antociani cumarilați, determinând astfel valori subunitare ale acestui raport. Această constatare este în concordanță cu rezultatele obținute la mai multe soiuri negre românești, fiind considerat un indicator de tipicitate a soiului [223; 256].

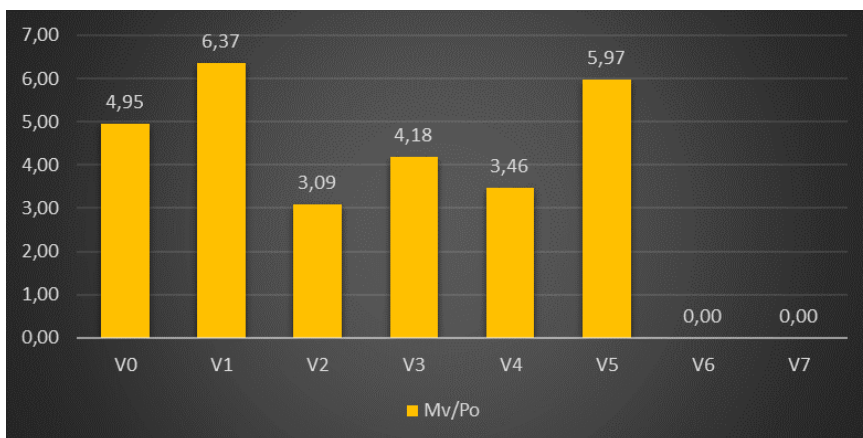


Figura nr.4.4 Raportul dintre Malvidină și Peonidină (Mv/Po) a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H) din anul 2014

Figure no.4.4 The ratio between Malvidine and Peonidine (Mv/Po) of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR–H) in 2014

Cu toate acestea, în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute în acest experiment, antocianii acilați (antocianii acetilați + cumarilați) s-au regăsit în foarte puține probe analizate. Astfel, nu s-a putut lua în calcul raportul dintre antocianii acetilați și cumarilați în realizarea unei clasificări a vinurilor elaborate chiar dacă s-a observat predominanța formelor cumarilate ale antocianilor în probele analizate, confirmând parțial această ipoteză. Raportul dintre antocianii acetilați și cumarilați a mai fost folosit pentru a diferenția vinurile de Cabernet Sauvignon și strugurii hibrizi însă această idee a fost respinsă atunci când s-au analizat o gama mai mare de probe de Cabernet Sauvignon care nu au arătat aceeași proporție în acești compuși conjugați [103].

4.3.1.1.3. Influența terroir-ului

Pe baza procentului de participare a peonidinei la profilul antocianilor s-a observat că în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești s-au înregistrat valori procentuale similare în cei doi ani de experiment (fig. nr. 4.5). Astfel, în anul 2014 peonidina a fost cuprinsă între 4,78 (V0) și 8,57% (V2) și între 4,86 (V1) și 8,58% (V5) în anul 2015, în timp ce vinurile obținute din biotipul vânat provenit din Centrul Viticol Huși valorile peonidinei au fost cuprinse între 4,15% (V6) și 11,38% (V7). Este remarcabil faptul că această antocianidină a prezentat o variație foarte apropiată a procentului de participare la profilul vinurilor obținute prin diverse tehnici de macerare și ani diferiți de recoltă.

Se poate spune astfel că în cazul vinurilor obținute din Centrul Viticol Averești peonidina a prezentat un procent de participare ce a variat în limite mai restrânse față de cele obținute din Centrul Viticol Huși, putând fi considerat și un posibil marker al terroir-ului.

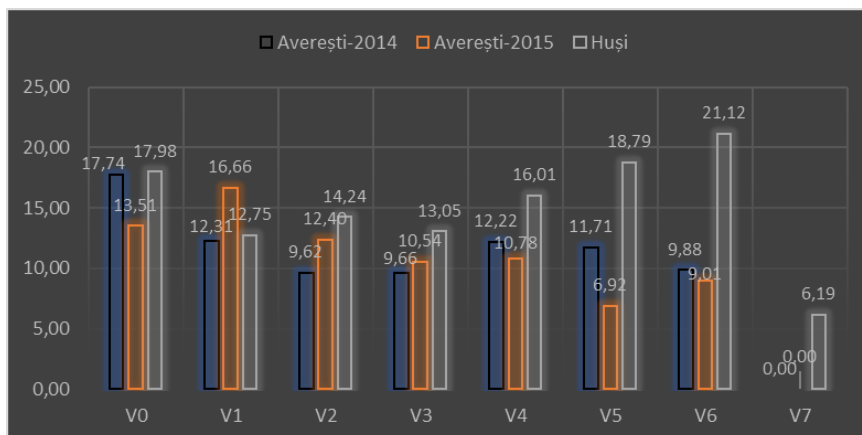


Figura nr.4.5. Raportul dintre Malvidină și Peonidină (Mv/Po) a vinurilor obținute din Biotipul Vânăț din Centrele Viticole Averești și Huși

Figure no.4.5. The ration between Malvidine and Peonidine (Mv/Po) of the wines obtained from the Dark Violet Biotype from Averești and Huși Viticultural Centres

4.3.1.2. Conținutul în antociani prin Cromatografie Lichidă de Înaltă Performanță (HPLC)

Pentru exprimarea cantitativă a antocianilor s-a utilizat malvidina-3-monoglucozidul drept standard extern iar în ceea ce privește ceilalți antociani (delfinidină-3-monoglucozid, cianidină-3-monoglucozid, petunidină-3-monoglucozid, peonidină-3-monoglucozid) exprimarea acestora s-a realizat semicantitativ pe baza ariei lor și raportată la conținutul în malvidină.

Tabelul nr.4.21/Table no.4.21

Conținutul în Antociani determinat prin Cromatografie Lichidă de Înaltă Performanță (HPLC) a vinurilor de Busuioacă de Bohotin

Anthocyanins content determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) of Busuioacă de Bohotin wines

Conținutul în Antociani (mg/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
BBV (H)–2014	22,30	18,56	24,34	21,80	23,83	29,63	27,73	1,50
BBV (A)–2014	15,52	30,94	28,54	23,20	23,61	6,14	5,18	0,39
BBR (H)–2014	3,37	7,41	3,65	1,70	2,56	1,00	0,58	nd
BBV (A)–2015	9,55	16,47	12,30	17,05	12,21	7,72	3,94	0,85
BBR (H)–2015	0,15	0,45	nd	nd	nd	nd	nd	nd

*BBV (H)–Vinuri obținute din Biotipul Vânăț recoltat din Centrul Viticol Huși; BBV (A)–Vinuri obținute din Biotipul Vânăț recoltat din Centrul Viticol Averești; BBR (H)– Vinuri obținute din Biotipul Roz recoltat din Centrul Viticol Huși

Astfel, pentru vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânăț recoltat din Centrul Viticol Huși (BBV–H), conținutul total în antociani (antocianii neacilați și acilați) a oscilat între 1,50 mg/L (V7) și 29,63 mg/L (V5). În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânăț provenit din Centrul Viticol Averești (BBV–A), conținutul în antociani a fost cuprins între 0,39 (V7) și 30,94 mg/L (V1) în 2014 și între 0,85 (V7) și 17,05 mg/L (V3) în anul 2015.

În ceea ce privește vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz (BBR–H), conținutul total în antociani a variat de la 0 mg/L (V0,V7) la 7,41 mg/L (V1) în 2014, iar în anul 2015 nu s-a reușit identificarea antocianilor.

4.3.2. COMPUȘII FENOLICI DETERMINAȚI PRIN SPECTROFOTOMETRIE

Spectrofotometria este o metodă prin care este evaluat gradul de absorbție a luminii de către o substanță chimică prin măsurarea intensității luminii după ce un fascicol de lumină trece printr-o probă de soluție. Principiul de bază constă în faptul că orice compus chimic absoarbe, transmite sau reflectă lumina (radiația electromagnetică) la un anumit interval de lungime de undă. Spectrofotometrul este un instrument care măsoară cantitatea de fotoni (intensitatea luminii) absorbită după ce trece printr-o probă de soluție. Cu ajutorul unui spectrofotometru se poate determina cantitatea (concentrația) unor compuși chimici cunoscuți prin măsurarea intensității luminii detectate. Principalul avantaj al analizelor spectrofotometrice constă în primul rând că se pot analiza atât substanțe organice și anorganice dar și că această metodă de analiză este foarte rapidă și prezintă o reproductibilitate destul de ridicată.

Evaluarea spectrofotometrică a conținutului în compuși fenolici din vinurile de Busuioacă de Bohotin s-a realizat cu ajutorul spectrofotometrului UV-VIS Analytic Jena® S 200 și s-au determinat: indicele de polifenoli totali (IPT), indicele Folin-Ciocalteu (IFC) și conținutul total în antociani.

Indicele de polifenoli totali (IPT) sau D280 evaluează conținutul total în compuși fenolici dintr-un vin și are la bază absorbția puternică a luminii ultraviolete de către nucleele benzenice specifice compușilor fenolici, aceștia având un maxim de absorbție în intervalul 275–280 nm.

Tabelul nr.4.22/Table no.4.22

Indicele de polifenoli totali (IPT) al vinurilor de Busuioacă de Bohotin

Total polyphenols index (TPI) of Busuioacă de Bohotin wines

IPT (D280)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
BBV (H)–2014	15.93	8.44	12.14	13.35	11.65	13.68	10.16	8.52
BBV (A)–2014	14.17	14.59	15.40	17.35	15.15	17.25	18.16	8.30
BBR (H)–2014	14.28	12.25	7.83	7.80	3.89	8.46	10.74	6.16
BBV (A)–2015	16.47	12.85	19.48	18.28	18.66	15.56	16.70	7.36
BBR (H)–2015	17.02	21.38	21.79	24.28	17.44	17.97	18.62	17.80

*BBV (H)–Vinuri obținute din Biotipul Vânăț recoltat din Centrul Viticol Huși; BBV (A)– Vinuri obținute din Biotipul Vânăț recoltat din Centrul Viticol Averești; BBR (H)– Vinuri obținute din Biotipul Roz recoltat din Centrul Viticol Huși

Valorile IPT obținute în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin din anul 2014 s-au situat între 3,89 (BBR–H–V4) și 14,28 (BBR–H–V0) pentru cele obținute din biotipul roz, între 8,30 (BBV–A–V7) și 18,16 (BBV–A–V6) pentru biotipul vânăț recoltat din Centrul Viticol Averești, iar în ceea ce privește vinurile obținute din biotipul vânăț recoltat din Centrul Viticol Huși acestea au înregistrat valori aflate în intervalul 8,44 (BBV–H–V1) și 15,93 (BBV–H–V0).

În anul 2015 valorile indicelui de polifenoli totali au fost ceva mai ridicate, cuprinse între 7,36 (BBV–A–V7) și 24,28 (BBR–V3). În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin

obținute din biotipul roz, valorile IPT s-au încadrat între un minim de 17,02 înregistrat de proba martor (V0) și un maxim de 24,28 înregistrat de proba obținută prin microunde (V3). Biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești a exprimat valori ale IPT cuprinse între 7,36 înregistrată de proba obținută prin macerație carbonică (BBV–A–V7) și o valoare maximă la proba obținută prin termomacerare (BBV–A–V2), de 19,48.

După cum se observă, conținutul în compuși fenolici totali al vinurilor de Busuioacă de Bohotin au prezentat valori variabile, influențate în primul rând de tehnicile de macerare utilizate dar și de anul de producție. Dintre tehnicile de macerare care au prezentat valori ridicate ale indicelui de polifenoli totali s-au remarcat probele obținute prin termomacerare (V2), microunde (V3), criomacerarea (V5) și criomacerarea+microunde (V6). La polul opus, vinurile care au înregistrat valorile cele mai mici ale IPT au fost macerația carbonică (V7) și ultrasunetele (V4) (Tarțian ș.a., 2015).

Dacă este evaluat conținutul în compuși fenolici totali din prisma influenței anului de producție se observă că vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz recoltat din Centrul Viticol Huși din anul 2015 a înregistrat valorile cele mai ridicate ale IPT. Acest biotip a prezentat la recoltare conținutul cel mai ridicat în zaharuri din cei doi ani de experiment (248,7 g/L zaharuri), iar vinurile obținute au înregistrat valori mai ridicate ale concentrației alcoolice, majoritatea probelor încadrându-se în jurul valorii de 15% vol. alc. Astfel, conținutul mai ridicat în compuși fenolici totali al acestor vinuri ar putea fi determinat de o influență mai accentuată a etanolului asupra randamentului de extracție a compușilor fenolici din semințele și piețele strugurilor în timpul macerării.

Indicele Folin–Ciocâlțu (IFC) caracterizează compușii fenolici cu însușiri reducătoare, iar această metodă de analiză spectrofotometrică are la bază oxidarea fenolilor prezenți într-un mediu bazic de către reactivul Folin–Ciocâlțu și reducerea acestora la oxizii albaștri tungsten și molibden. Această colorație albastră are un maxim de absorbție la 750 nm ce corespunde cu cantitatea totală de compuși fenolici, iar valorile acestui indice sunt cuprinse între 2,5 și 11,5 pentru vinurile albe și între 16 și 75 pentru vinurile roșii.

Tabelul nr.4.23/Table no.4.23

Indicele Folin–Ciocâlțu (IFC) al vinurilor de Busuioacă de Bohotin
Folin Ciocâlțu–Index (FCI) of Busuioacă de Bohotin wines

IFC	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
BBV (H)–2014	10.16	7.31	10.38	11.75	9.31	10.33	9.74	6.79
BBV (A)–2014	13.47	15.16	15.25	14.67	13.66	14.93	19.23	6.28
BBR (H)–2014	13.51	15.79	8.95	12.85	4.98	10.21	8.79	11.57
BBV (A)–2015	14.74	12.64	18.45	16.14	20.60	18.28	10.83	17.36
BBR (H)–2015	19.84	25.29	27.77	32.53	22.15	22.36	23.09	15.29

*BBV (H)–Vinuri obținute din Biotipul Vânat recoltat din Centrul Viticol Huși; BBV (A)– Vinuri obținute din Biotipul Vânat recoltat din Centrul Viticol Averești; BBR (H)– Vinuri obținute din Biotipul Roz recoltat din Centrul Viticol Huși

IFC în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute în acest experiment au prezentat în general valori intermediare între vinurile albe și roșii, acestea fiind cuprinse între un minim de 4,98 (BBR–H–V4–2014) și un maxim de 32,53 (BBR–H–V3–2015).

În anul 2014 probele de Busuioacă de Bohotin au înregistrat valori situate în intervalul 4,98 (BBR–H–V4) și 15,79 (BBR–H–V1) pentru biotipul roz, între 6,28

(BBV–A–V7) și 19,23 (BBV–A–V6) în cazul biotipului vânat din Averești și între 6,79 (BBV–H–V7) și 11,75 (BBV–H–V3) pentru biotipul vânat din Centrul Viticol Huși.

Probele de vin din anul 2015 au exprimat în general valori mai ridicate ale IFC, acestea fiind cuprinse între 15,29 (BBR–H–V7) și 32,53 (BBR–H–V3) pentru biotipul roz și între 10,83 (BBV–A–V6) și 20,60 (BBV–A–V4) în cazul vinurilor obținute din biotipul vânat.

Ca și în cazul indicelui de polifenoli totali, s-a observat că valorile IFC au fost mai ridicate în cazul probelor de vin obținute în general prin macerare cu microunde (V3), iar macerația carbonică (V7) a determinat valorile cele mai scăzute. De asemenea, probele de vin obținute din biotipul roz din anul 2015 au înregistrat valorile cele mai ridicate ale indicelui Folin–Ciocâlteu.

Pe baza rezultatelor obținute în urma determinării celor doi indici (D280 și IFC) s-a calculat și raportul dintre aceștia (D280/IFC) cu scopul exprimării proporției compușilor fenolici cu proprietăți reducătoare din cantitatea totală a compușilor polifenolici. Prin urmare, valorile subunitare evidențiază o proporție mai ridicată în compuși fenolici cu însușiri reducătoare și implicit un IFC mai ridicat în timp ce valorile supraunitare caracterizează o probă cu o proporție mai scăzută în compuși cu proprietăți reducătoare.

Tabelul nr.4.24/Table no.4.24

Raportul D280/IFC al vinurilor de Busuioacă de Bohotin
D280/FCI Ratio of Busuioacă de Bohotin wines

D80/IFC	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
BBV (H)–2014	1,57	1,15	1,17	1,14	1,25	1,32	1,04	1,25
BBV (A)–2014	1,05	0,96	1,01	1,18	1,11	1,16	0,94	1,32
BBV (A)–2015	1,12	1,02	1,06	1,13	0,91	0,85	1,54	0,42
BBR (H)–2014	1,06	0,78	0,87	0,61	0,78	0,83	1,22	0,53
BBR (H)–2015	0,86	0,85	0,78	0,75	0,79	0,80	0,81	1,16

*BBV (H)–Vinuri obținute din Biotipul Vânat recoltat din Centrul Viticol Huși; BBV (A)– Vinuri obținute din Biotipul Vânat recoltat din Centrul Viticol Averești; BBR (H)– Vinuri obținute din Biotipul Roz recoltat din Centrul Viticol Huși

Valorile raportului D280/IFC pentru probele de vin din anul 2014 au fost cuprinse între 0,53 (BBR–H–V7) și 1,22 (BBR–H–V6) în cazul biotipului roz, între 0,94 (BBV–A–V6) și 1,32 (BBV–A–V7) pentru biotipul vânat din Averești și între 1,04 (BBV–H–V6) și 1,57 (BBV–H–V0) în cazul biotipului vânat din Centrul Viticol Huși. Vinurile de Busuioacă de Bohotin din anul 2015 au exprimat valori ale raportului D280/IFC ce s-au situat în intervalul 0,75 (BBR–H–V3) și 1,16 (BBR–H–V7) în cazul biotipului roz și între 0,42 (BBV–A–V7) și 1,54 (BBV–A–V6) în cazul biotipului vânat.

Analizând global rezultatele obținute la vinurile de Busuioacă de Bohotin din cei doi ani de experiment s-a observat că în cazul biotipului roz, valorile raportului D280/IFC au fost în general subunitare în timp ce vinurile obținute din biotipul vânat au înregistrat valori supraunitare, existând doar câteva excepții în ambele cazuri.

Conform lui Ribereau-Gayon ș.a., 1972 [183], valorile raportului D280/IFC pentru vinurile roșii se situează în general în intervalul 1,2–1,3. Prin urmare, vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat au exprimat valori ale acestui raport apropiate de cele

specifice vinului roșu. În cazul biotipului roz, valorile subunitare ale vinurilor analizate ar putea fi determinate de mai mulți factori.

În primul rând este cunoscut faptul că reactivul Folin–Ciocâlteu reacționează și cu alte substanțe decât compușii fenolici (proteine, gume *etc.*) [97].

De asemenea, luând în considerare eterogenitatea fenolilor naturali și posibilitatea de a interfera cu alte substanțe susceptibile la oxidare și selectivitate relativ scăzută (datorită reactivității constituenților nefenolici cu reactivul fofosmolibdatului de tungsten) valorile subunitare ale raportului D280/IFC ar putea fi explicate prin prezența în probele analizate și a altor substanțe cu proprietăți reducătoare dar care nu aparțin clasei fenolilor.

4.3.2.1. Conținutul total în antociani prin metoda variației de pH

Această metodă se bazează pe existența unui echilibru între formele colorate și incolore ale antocianilor în funcție de pH și se determină prin calcularea diferențelor de absorbție optică la o lungime de undă de 520 nm a probelor de vin în urma adăugării a două soluții tampon (pH 0,6 și 3,5) și a unei soluții alcoolice de HCl 0,1%.

Observând tabelul nr.4.25, vinurile de Busuioacă de Bohotin din anul 2014 au înregistrat un conținut total în antociani ce s-a situat în intervalul 0 mg/L (BBR–H–V7) și 2,84 mg/L (BBR–H–V1) în cazul biotipului roz, între 0,89 mg/L (BBV–A–V7) și 11,86 (BBV–A–V2;V4) pentru biotipul vânat din Averești și între 0,27 (BBV–H–V6;V7) și 10,08 mg/L (BBV–H–V0) în cazul vinurilor obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Huși. În ceea ce privește conținutul total în antociani din vinurilor de Busuioacă de Bohotin din anul 2015, valorile acestuia s-au situat în intervalul 0 mg (BBV–A–V7) și 8,59 mg/L (BBV–A–V0), iar în cazul vinurilor obținute din biotipul roz nu s-a reușit detectarea antocianilor în nici una din probele analizate.

Tabelul nr.4.25/Table no.4.25

Conținutul în antociani determinat prin spectrofotometrie a vinurilor de Busuioacă de Bohotin

Anthocyanins content determined by spectrophotometry of Busuioacă de Bohotin wines

Conținutul în Antociani (mg/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
BBV (H)–2014	10,08	7,25	9,57	8,27	8,86	9,12	0,27	0,27
BBV (A)–2014	9,06	11,09	11,87	10,54	11,87	8,36	6,69	0,89
BBR (H)–2014	1,18	2,84	1,38	1,12	1,12	0,57	1,37	nd
BBV (A)–2015	8,59	8,21	0,44	6,54	6,20	5,89	5,85	nd
BBR (H)–2015	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

*BBV (H)– Vinuri obținute din Biotipul Vânat recoltat din Centrul Viticol Huși; BBV (A)– Vinuri obținute din Biotipul Vânat recoltat din Centrul Viticol Averești; BBR (H)– Vinuri obținute din Biotipul Roz recoltat din Centrul Viticol Huși

Analizând datele obținute prin metoda variației de pH privind conținutul în antociani (tabelul nr.4.25) se observă că vinurile de Busuioacă de Bohotin au prezentat în general un conținut foarte scăzut în acești compuși. Comparând cele două biotipuri ale soiului Busuioacă de Bohotin s-a evidențiat că biotipul roz a condus la obținerea unor vinuri cu un conținut foarte scăzut în antociani (0 ÷ 2,84 mg/L în 2014) în timp ce în anul 2015 conținutul în antociani nu a putut fi determinat. Această observație nu este suprinzătoare

din moment ce biotipul roz al soiului Busuioacă de Bohotin prezintă din punct de vedere vizual o culoare mult mai deschisă față de biotipul vânat, fiind o variație genetică mai puțin pigmentată (Tarțian ș.a., 2017).

Dacă sunt comparate valorile conținutului în antociani al vinurilor obținute prin diferite tehnici de macerare se observă că variantele de macerare aplicate au prezentat în general o influență foarte mică asupra variației acestora. Totuși, dintre toate variantele de macerare utilizate la vinificația strugurilor de Busuioacă de Bohotin s-au remarcat probele de vinuri obținute prin macerație carbonică, acestea înregistrând conținutul cel mai scăzut în antociani, cu valori apropiate sau egale cu zero. Extracția foarte scăzută a antocianilor indusă de macerația carbonică este determinată în primul rând de caracteristicile specifice acestei tehnici de macerație care presupune menținerea strugurilor întregi într-o atmosferă de dioxid de carbon. Astfel, prin această particularitate a acestei variante de macerare este evitat contactul direct dintre părțile solide ale strugurilor cu mustul, realizându-se o difuzie minimă a antocianilor prezenți în pielețe.

4.3.3. CORELAREA DATELOR OBȚINUTE PRIN HPLC ȘI SPECTROFOTOMETRIE PRIVIND CONȚINUTUL ÎN ANTOCIANI AI VINURILOR DE BUSUIOCĂ DE BOHOTIN

Determinarea cantitativă a antocianilor monomeri prin metoda variației de pH este o procedură rapidă și ușoară și constă în transformarea structurală reversibilă a antocianilor în funcție de pH, manifestându-se prin diferențe spectrale de absorbantă. Forma colorată de oxoniu predomină la pH 1,0 iar forma necolorată de semiacetal la pH 4,5. Această metodă permite determinarea rapidă și precisă a antocianilor totali chiar și în prezența pigmentilor polimerici degradați sau a altor compuși care pot interfera. Conținutul în antociani totali din vinurile de Busuioacă de Bohotin determinați prin această metodă spectrofotometrică a fost cuprins între 0 mg/L și 10,08 mg/L.

Cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC) reprezintă una din cele mai utilizate tehnici analitice în analiza compușilor fenolici din plante datorită rezoluției, sensibilității, vitezei și a gradului de cuantificarea ridicat. Determinarea conținutului total în antociani din vinurile de Busuioacă de Bohotin prin această metodă a evidențiat prezența unor cantități mai ridicate față de metoda spectrofotometrică, concentrația acestora fiind cuprinsă între 0 și 30,94 mg/L.

În urma analizei conținutului în antociani prin metodele menționate mai sus s-a evidențiat faptul că vinurile de Busuioacă de Bohotin au prezentat în general un conținut destul de scăzut în antociani, valoarea maximă fiind de 30,94 mg/L determinată prin HPLC. De asemenea, în cazul biotipului roz s-a observat că antocianii au fost prezenți în cantități mult mai mici, ajungând la un conținut maxim de 7,41 mg/L (BBR-H-V1) iar în anul 2015 nu s-a reușit detectarea conținutului în antociani prin ambele metode. Astfel, analiza HPLC a conținutului în antociani a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz din 2015 a confirmat lipsa acestora în aceste probe.

Absența antocianilor din probele de vinuri de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz s-ar putea datora mai multor cauze. În primul rând, conținutul în antociani al acestui biotip este foarte scăzut, el având o pigmentație mai puțin accentuată. De asemenea,

este cunoscut faptul că antocianii liberi (monomeri) nu sunt foarte stabili iar concentrația acestora scade de obicei foarte rapid pe parcursul evoluției vinului. Astfel, o parte din ei sunt adsorbiți de pereții celulari a levurilor, precipitați odată cu sărurile tartrice și reduse prin filtrare, iar majoritatea antocianilor liberi se vor combina sau vor condensa cu alți compuși fenolici pentru a forma pigmenți mai complecși și mai stabili. În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin este foarte puțin probabil să fi intervenit și reacțiile de auto-asociere și copigmentare a antocianilor datorită concentrației scăzute a acestora, insuficientă pentru agregarea moleculară, știindu-se faptul că pentru a avea loc copigmentația este necesară o concentrație minimă de 250 mg/L.

4.3.4. CORELAREA PROFILULUI ANTOCIANILOR VINURILOR DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN CU CALEA DE BIOSINTEZĂ A ACESTOR COMPUȘI

Culoarea boabelor de strugure este determinată de cantitatea și compoziția antocianilor din pielețe [158]. Soiurile colorate acumulează antociani în timp ce soiurile albe nu îi sintetizează [7]. Variațiile mugurale colorate a viței de vie pot fi grupate în două clase: variații albe și gri-roz provenite din soiuri negre și variații roșii/roz provenite din soiuri albe. Soiurile originare și variațiile mugurale ale acestora pot prezenta o variabilitate a caracteristicilor ampelografice și agronomice, precum diferențele în producție, morfologia frunzei și procesele vinificației. Identificarea fenotipică a mutantelor cu pielețele colorate este destul de dificilă dacă se realizează înainte de coacere; mai mult decât atât, ele sunt identice din punct de vedere genetic cu precursorul acestora (soiul originar) dacă sunt analizate prin utilizarea markerilor microsatelit, unul din cei mai cunoscuți și răspândiți markeri pentru identificarea varietală [98; 200; 228].

Antocianii sunt sintetizați prin întemeziul căii flavonoidelor începând cu fenilalanina drept precursor [92; 218]. Acumularea și proporția acestor compuși în pielețele boabelor depinde de factorii genetici [52; 92; 182], de mediu (lumină, temperatură, irigare, azot etc.), precum și de practicile viticole [53].

Boss ș.a., [7-9], și Kobayashi ș.a., 2001 [113] au evidențiat că expresia genei pentru UDP-glucoză:flavonoid-3-O-glucoziltransferază (UFGT) este critică pentru biosinteza și acumularea antocianilor în struguri. De asemenea, în strugurii de *Vitis vinifera*, factorii precum gena funcțională VvmybA1 (alela VvmybA1, AB111101), sunt exprimați doar la începutul perioadei de coacere (pârgă) și reglementează biosinteza antocianilor din timpul coacerii prin controlul strict al genelor de expresie a biosintezei antocianilor, în special UFGT. VvmybA1 este considerată principala genă care determină sinteza antocianilor și implicit culoarea pielețelor boabelor [4].

În lucrarea de față s-au studiat două biotipuri ale soiului Busuioacă de Bohotin, respectiv biotipul vânat și biotipul roz, ambele având drept precursor principal soiul „*Muscat Blanc à Petits Grains*”. În timp ce biotipul vânat (Busuioacă vânată de Bohotin – „*Muscat Rouge à Petits Grains*”) reprezintă varianta somatică roșie a soiului „*Muscat Blanc à Petits Grains*”, biotipul roz („*Muscat Rose à Petits Grains*”) poate fi considerat o mutație mugurală mai deschisă la culoarea fie a soiului „*Muscat Rouge à Petits Grains*” fie a lui „*Muscat Blanc à Petits Grains*”.

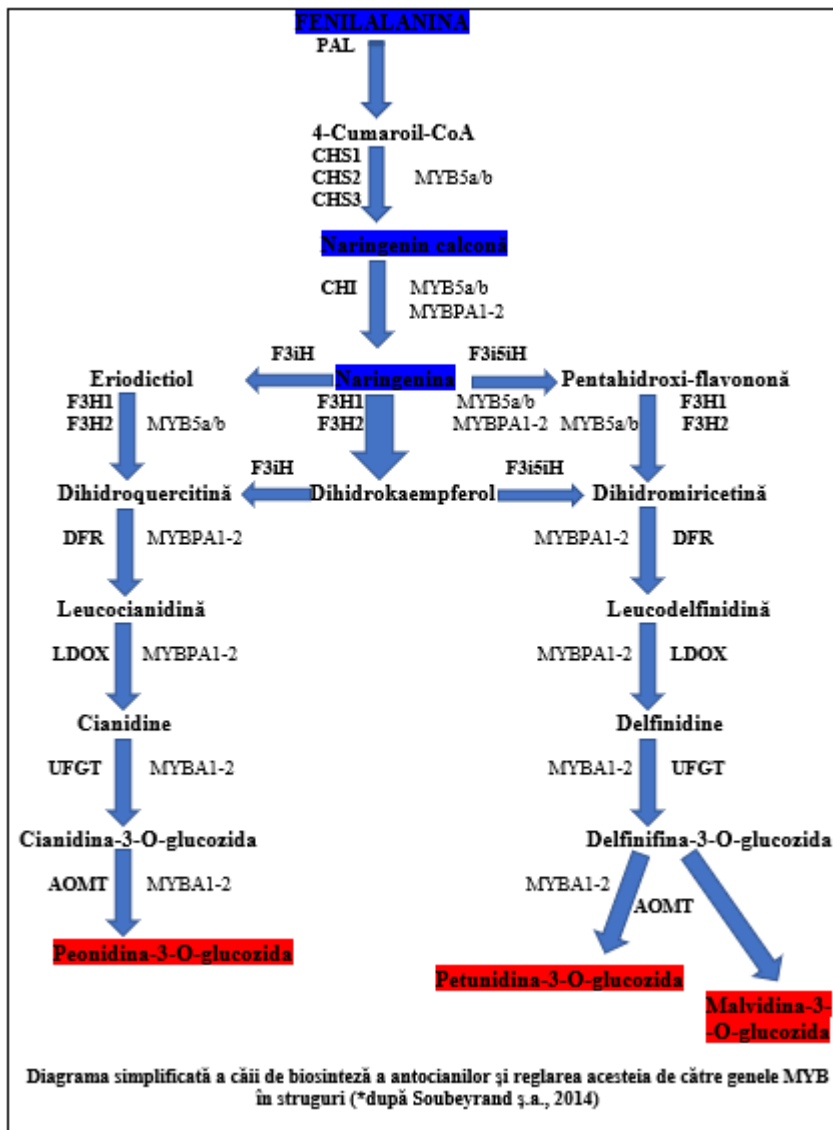


Figura nr.4.6 Diagrama simplificată a căii de biosinteză a antocianilor și reglarea acestora de către genele MYB în struguri

Figure no.4.6 Simplified diagram of the anthocyanins biosynthetic pathway and its regulation by MYB genes in grapes

*PAL – Fenilalanină amonica-liaza; CHS – Calconă sintaza; CHI – Calconă izomeraza; F3H – Flavononă-3b-hidroxi-laza; F3'H – Flavonoid 3'-hidroxilaza; F3'5'H – Flavonoid 3'5' hidroxi-laza; DFR – Dihydroflavonol-4-reductaza; LDOX – Leucoantocianidin dioxigenaza; UFGT – UDP-glucoza:flavonoid-3-O-glucoziltransferaza; AOMT – Antocian O-metiltransferaza.

În urma cercetării realizate de Popescu Carmen Florentina ș.a, 2017 [170], s-a aflat că profilul SSR (Simple Sequence Repeat) al soiului Busuioacă de Bohotin corespunde cu „*Muscat blanc à petits grains*” în timp ce culoarea roșie și descrierea ampelografică a evidențiat că este foarte similar cu soiul „*Muscat Rouge à Petits Grains*”, ajungându-se la concluzia că este varianta somatică roșie a soiului „*Muscat Blanc à Petits Grains*”. Astfel,

se poate spune că Busuioacă vânată de Bohotin (biotipul vânat) reprezintă o variație fenotipică a soiului „*Muscat Blanc à Petits Grains*” din alb în roșu „*Muscat Rouge à Petits Grains*”, datorată probabil unei mutații a genei de reglementare VvmybA1 care controlează expresia genei UFGT [113].

Biotipul roz al soiului Busuioacă de Bohotin ar putea proveni din soiul „*Muscat Rouge à Petits Grains*” prin pierderea culorii determinată de ștergerea unui episod din alela funcțională a VvmybA1 [244; 253] sau din soiul „*Muscat Blanc à Petits Grains*” prin apariția culorii care derivă din soiurile de struguri albi determinată de excizia retrotransponsonului Gret1 din zona promotorului și a unuia din cele două alele nefuncționale ale VvmybA1 [114-115].

În urma analizei profilului antocianilor celor două biotipuri și prin calcularea raportului dintre malvidină și peonidină (Mv/Po) s-a evidențiat destul de clar că peonidina-3-monoglucozidul a fost prezentă în anumite proporții, dependente de aceste variații fenotipice.

Astfel, în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat valorile raportului Mv/Po au fost mai ridicate față de biotipul roz, evidențiindu-se astfel că peonidina a prezentat o proporție mai ridicată de participare în cazul biotipului roz față de cel vânat. Peonidina-3-monoglucozidul provine din „ramura” dihidroxilată de biosinteză a antocianilor, având drept precursor cianidina. Astfel, se poate spune că în cazul biotipului roz, fluxul descendent al ramurii dihidroxilate a căii de sinteză a antocianilor este mai mare, determinând o proporție mai ridicată de participare a peonidinei la profilul antocianilor.

Profilul antocianilor vinurilor de Busuioacă de Bohotin sugerează că activitățile enzimelor din calea de sinteză a antocianilor (ex: flavonoid 3'-hidroxilaza, flavonoid 3'5'-hidroxilaza, dihidroflavonol-4-reductaza) au fost modificate. Astfel, vinurilor obținute din biotipul vânat s-au evidențiat printr-o proporție mai ridicată în malvidină, petunidină și delfinidină și prin urmare activitatea enzimei flavonoid 3'5'-hidroxilaza (F3'5'H) legată de ramura trihidroxilată a căii de sinteză a antocianilor a fost mai pronunțată, având totodată loc și o creșterea a afinității DFR (dihidroflavonol-4-reductaza) pentru dihidroflavonolii trihidroxilați. În același timp, vinurile obținute din biotipul roz au prezentat o proporție mai ridicată de participare a peonidinei, indicându-se astfel o activitate mai accentuată a enzimei flavonoid 3'-hidroxilaza (F3'H) legată de ramura dihidroxilată a antocianilor precum și de o creșterea a afinității DFR pentru dihidroflavonolii dihidroxilați.

Dintre toți antocianii identificați, cianidina-3-monoglucozidul a prezentat proporția cea mai scăzută sau a fost chiar nedetectabilă în probele analizate. Acestă constatare este destul de normală din moment ce acest compus este precursorul peonidinei și în același timp reprezintă unul din antocianii cu cea mai mare instabilitate chimică.

În ceea ce privește antocianii acilați, proporția acestora a fost destul de mică sau nedetectabilă în majoritatea probelor analizate. Probabil acest lucru se datorează modificărilor concentrațiilor și/sau caracteristicilor enzimelor care sunt implicate în adăugarea grupărilor acetil sau cumaril pe 3-monoglucozide. Într-un studiu realizat de Boss ș.a., 1996 [8] în care a cercetat profilul antocianilor mai multor variații somatice a unor soiuri de struguri, a evidențiat faptul că soiul „*Muscat Rouge à Petits Grains*” (Busuioacă vânată de Bohotin) s-a caracterizat printr-un conținut mic în antociani acilați. Astfel, se

poate spune că proporția mică de antociani acilați a vinurilor de Busuioacă de Bohotin elaborate se poate datora în primul rând caracterelor genetice ale soiului dar și degradărilor de natură chimică.

Din punct de vedere cantitativ, biotipul roz s-a evidențiat printr-un conținut mult mai scăzut în antociani față de cel vânăt. Astfel, această variație fenotipică a soiului Busuioacă de Bohotin, ce se distinge de biotipul vânăt printr-un grad de pigmentare mult mai scăzut, se datorează probabil unei expresii mai puțin pronunțate a UDP-glucoză:flavonoid-3-O-glucoziltransferazei (UFGT) și genei funcționale VvmybA1, realizându-se prin urmare o acumulare mai slabă a antocianilor în pielițele boabelor.

4.4. CARACTERISTICILE CROMATICE ALE VINURILOR DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR OBTINUTE

Culoarea reprezintă unul din principalii parametri de calitate ai vinului din moment ce este principala caracteristică percepută în urma evaluării senzoriale. Culoarea furnizează de asemenea informații despre posibilele defecte, corpolență, vârstă sau evoluția vinului în timpul depozitării. Prin urmare, acest parametru are o influență importantă asupra acceptabilității globale a consumatorului, jucând un rol cheie în decizia de cumpărare a acestuia, care preferă de obicei vinuri cu o culoare mai pronunțată și nuanțată.

Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin s-au calculat prin metoda CIE Lab 76, una din cele mai uzuale metode de măsurare a culorii. CIE Lab 76 a fost stabilită de Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) și se bazează pe determinarea valorilor tristimulus, care definesc un spațiu tridimensional numit spațiul CIE-xyz. Aceste valori sunt calculate prin măsurarea valorilor transmitanței la lungimi de undă a întregului spectru vizibil, în condiții specifice, prin utilizarea unui spectrofotometru.

Astfel, pentru fiecare probă de vin s-au înregistrat spectrele de absorbție care au fost ulterior prelucrate cu ajutorul programului VINCOLOR®, obținându-se în final următorii parametri cromatici: L, a*, b*, C, H, Luminozitatea și Tenta. De asemenea, pe baza valorilor tristimulus (L, a*, b*) s-a calculat ΔE (diferența de culoare) (www.brucelindbloom.com) și simularea culorii probelor de vin obținute prin utilizarea programului Digital Colour Atlas® 5.0 Demo. Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute în acest experiment sunt prezentați în tabelele nr.4.26–4.30.

Tabelul nr.4.26/Table no.4.26

Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H) în anul 2014

Chromatic parameters of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR–H) in 2014

CIE Lab 76 BBR–H–2014	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
Claritatea L	97,02	96,22	95,64	95,92	95,65	97,44	97,91	98,66
Cromaticitatea +a	2,12	2,69	2,48	2,17	0,75	0,55	0,25	-0,56
+b	9,00	11,21	11,86	10,71	7,43	6,79	6,35	5,06
Croma (C)	9,25	11,53	12,11	10,92	7,47	6,81	6,35	5,09
Tonalitatea (H)	76,77	76,49	78,21	78,56	84,25	85,41	87,74	83,66
Luminozitatea	0,19	0,24	0,26	0,44	0,15	0,16	0,14	0,10
Tenta	2,41	2,39	2,34	2,35	2,75	2,69	3,03	4,10
ΔE CIE76	5,08	4,87	5,55	4,39	2,57	0,96	1,07	2,55
Simulare culoare								

Parametrul L (Claritatea) caracterizează vizual aspectul mai mult sau mai puțin „strălucitor” al unui vin și poate avea valori cuprinse între 0 (negru–opac) până la 100 (incolor). În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz (BBR–H), acest parametru a prezentat valori aproape de 100, acestea fiind cuprinse între 95,68 (V2) și

98,66 (V7) în anul 2014 și între 92,68 (V3) și 97,44 (V7) în 2015. Mărima acestui parametru în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat au evidențiat existența unor valori mai scăzute, acestea fiind cuprinse între 76,74 (BBV-A-V6-2015) și 97,44 (BBV-A-V7-2014).

Tabelul nr.4.27/Table no.4.27

Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Averești (BBV-A) în anul 2014

Chromatic parameters of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Averești (BBV-A) in 2014

CIE Lab 76 BBV-A-2014	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
Claritatea L	82,44	82,32	83,07	80,99	82,75	83,94	80,19	97,44
Cromaticitatea +a	18,39	17,43	16,85	19,52	16,54	13,95	17,71	1,47
+b	15,91	21,03	19,10	21,46	20,82	19,22	21,88	5,10
Croma (C)	24,31	27,31	25,47	29,01	26,59	23,75	28,15	5,31
Tonalitatea (H)	40,87	50,36	48,59	47,72	51,53	54,03	51,02	73,94
Luminozitatea	0,78	0,85	0,80	0,91	0,84	0,76	0,93	0,14
Tenta	1,16	1,35	1,32	1,28	1,40	1,51	1,45	2,08
ΔE CIE76		5,21	3,60	5,84	5,25	5,73	6,41	25,06
Simulare culoare								

Tabelul nr.4.28/Table no.4.28

Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV-H) în anul 2014

Chromatic parameters of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV-H) in 2014

CIE Lab 76 BBV-H-2014	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
Claritatea L	89,06	93,82	87,78	87,54	90,17	89,40	90,94	97,43
Cromaticitatea +a	10,05	5,04	10,81	11,04	8,18	9,26	7,43	1,03
+b	12,68	9,02	15,07	15,03	12,84	13,01	11,10	5,06
Croma (C)	16,18	10,33	18,55	18,65	15,22	15,97	13,36	5,16
Tonalitatea (H)	51,58	60,81	54,34	53,71	57,52	54,57	56,22	78,50
Luminozitatea	0,50	0,29	0,57	0,58	0,46	0,50	0,42	0,14
Tenta	1,41	1,65	1,48	1,47	1,56	1,50	1,56	2,25
ΔE CIE76		7,81	2,82	2,97	2,18	0,92	3,58	14,46
Simulare culoare								

Parametrul a* reprezintă coordonata culorilor roșu (+) și verde (-), iar în ceea ce privește vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz (BBR-H) s-a observat participarea componentei culorii roșii în proporții foarte mici, acest parametru prezentând valori cuprinse între 0,25 (V6-2014) și 4,89 (V3-2015). A existat însă și o excepție, la o probă de vin obținută prin macerație carbonică (V7-BBR-H-2014) ce a exprimat nuanțe verzi, înregistrând astfel o valoare negativă (-0,56). În cazul vinurilor de Busuioacă de

Bohotin obținute din biotipul vânat, parametrul a^* a prezentat valori mult mai ridicate, acesta oscilând între 1,03 (BBV-H-V7-2014) și 27,97 (BBV-A-V5-2015).

Parametrul b^* reprezintă coordonata culorilor galben (+) și albastru (-) iar pentru vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz acesta a fost cuprins între 5,06 (BBR-V7-2014) ÷ 19,74 (BBR-V3-2015) și între 5,06 (BBV-H-V7-2014) și 21,88 (BBV-A-V6-2014) în cazul biotipului vânat, predominând astfel componenta galbenă specifică vinurilor.

Tabelul nr.4.29/Table no.4.29

Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV-A) în anul 2015

Chromatic parameters of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV-A) in 2015

CIE Lab 76 BBV-A-2015	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
Claritatea L	81,81	89,77	79,72	80,08	78,11	77,62	76,74	94,58
Cromaticitatea +a	20,41	12,82	21,39	23,03	23,37	27,97	27,02	3,68
+b	14,59	7,72	17,25	14,35	18,92	16,18	19,48	6,16
Croma (C)	25,09	14,96	27,48	27,14	30,06	32,32	33,31	7,17
Tonalitatea (H)	35,54	31,04	38,87	31,93	38,99	30,04	35,78	59,12
Luminozitatea	0,79	0,42	0,91	0,85	0,99	0,96	1,04	0,24
Tenta	1,08	1,02	1,20	1,02	1,17	0,95	1,07	1,47
ΔE CIE76		12,96	3,52	3,14	6,41	8,78	9,66	22,67
Simulare culoare								

Tabelul nr.4.30/Table no.4.30

Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H) în anul 2015

Chromatic parameters of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR-H) in 2015

CIE Lab 76 BBR-H-2015	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
Claritatea L	94,81	93,55	93,57	92,68	96,02	95,10	94,55	97,44
Cromaticitatea +a	2,94	3,97	3,72	4,89	2,03	2,57	2,66	1,27
+b	13,67	17,58	18,28	19,74	10,28	13,45	15,59	6,10
Croma (C)	13,98	18,02	18,65	20,34	10,47	13,69	15,82	5,61
Tonalitatea (H)	77,87	77,29	78,49	76,10	78,83	79,17	80,32	76,94
Luminozitatea	0,31	0,39	0,40	0,49	0,24	0,30	0,34	0,15
Tenta	2,41	2,39	2,49	2,35	2,41	2,47	2,59	2,07
ΔE CIE76		4,23	4,84	6,72	3,71	0,51	1,96	8,18
Simulare culoare								

Croma (C) sau saturația este o componentă cantitativă a culorii și descrie puritatea cromatică a unei probe. Valorile ridicate ale Cromei implică o puritate cromatică mai mare datorită unui amestec mai mic de pigmenți în timp ce valorile mai scăzute evidențiază participarea a mai multor compuși chimici pigmentați la formarea culorii.

Acest parametru a variat între 5,09 (BBR–H–V7–2014) și 20,34 (BBR–H–V3–2015) în cazul vinurilor obținute din biotipul roz și între 5,16 (BBV–H–V7–2014) și 33,31 (BBV–A–V6) pentru vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat. S-a observat că valorile mai ridicate ale cromei erau asociate cu valorile mai mari ale parametrilor a^* și b^* și implicit valori mai scăzute ale clarității (L). Astfel, se poate spune că vinurile rezultate din biotipul vânat au prezentat o puritatea cromatică mai mare și implicit o intensitatea a culorii mai ridicată.

Tonalitatea (H) numită și parametru de aspect al culorii reprezintă gradul în care un stimul poate fi descris similar sau diferit de un stimul caracterizat drept roșu, verde, albastru sau galben. Cu alte cuvinte, tonalitatea exprimă diferitele nuanțe ale unei culori prin care se poate distinge de culorile primare care o alcătuiesc sau pot fi similare cu acestea. Tonalitatea poate fi reprezentată cantitativ printr-un număr care corespunde cu poziția unghiulară din jurul unui punct sau ax central sau neutru de pe o diagramă de coordonate a spațiului de culori sau prin lungimea de undă dominantă.

Vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz (BBR) au înregistrat valori ale tonalității cuprinse între 76,09 (V3–2015) și 87,74 (V7–2014) iar cele obținute din biotipul vânat (BBV) au exprimat valori ce au oscilat între 31,93 (V3–2015) și 78,50 (BBV–H–V7–2015). S-a observat că valorile scăzute ale tonalității erau asociate cu probele de vinuri care prezentau valori mai scăzute ale clarității și implicit o creștere a parametrilor a^* (roșu), b^* (galben) și a cromei (C). Majoritatea autorilor afirmă că atunci când H (tonalitatea) crește, are loc o deplasare de la nuanțele violete către nuanțele mai portocalii.

Luminozitatea culorii este în relație directă cu parametrul claritate și împreună evidențiază gradul de strălucire sau intensitate a culorii. Astfel, în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin acest parametru a prezentat valori cuprinse între 0,10 (BBR–H–V7–2014) și 1,04 (BBV–A–V6–2015), observându-se că valorile scăzute ale luminozității sunt corelate cu o claritatea mai ridicată a probelor.

Tenta culorii este în strânsă legătură cu parametrul tonalitate, acesta oscilând între 0,94 (BBV–A–V5–2015) și 4,10 (BBR–H–V7–2014).

De asemenea, pe baza parametrilor tristimulus (L, a^* , b^*) s-a calculat ΔE denumită și diferența de culoare. ΔE încearcă să reproducă diferențele de culoare percepute de ochiul uman între două elemente (probe, eșantioane). În cazul în care valoarea acestui parametru este mai mică de 1 ($\Delta E < 1$) se consideră că percepția senzorial cromatică a acestora este imperceptibilă iar cu cât valorile acestuia sunt mai mari cu atât diferențele sunt mai accentuate și evidente. Pentru probele de Busuioacă de Bohotin, culoarea de referință (etalon) față de care s-a realizat calcularea acestui parametru au fost probele martor (V0).

Astfel, dintre variantele de macerare care s-au evidențiat prin valori subunitare ale acestui parametru a fost criomacerarea (V5) cu valori de 0,96 (BBR–H–2014) și 0,51 (BBR–H–2015) în cazul biotipului roz și 0,92 (BBV–H–2014) pentru vinurile obținute din biotipul vânat. La polul opus, macerația carbonică (V7) a prezentat în general valorile cele mai ridicate ale ΔE , cu un maxim de 25,06 atins de vinurile obținute din biotipul vânat din Averești (BBV–A–V7–2014).

Privind în ansamblu parametrul cromatic analizat la vinurile de Busuioacă de Bohotin elaborate în acest experiment, s-a observat că valorile acestor caracteristici de culoare au fost influențate în principal de doi factori majori: biotipul soiului utilizat la obținerea vinurilor și tehnica de macerare abordată.

Astfel, în cazul biotipului, vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz s-au remarcat printr-o intensitate a culorii mai scăzută, având în general valori foarte ridicate ale clarității (L). Claritatea acestor vinuri este asociată cu o participare mai scăzută a culorii roșii (a+), determinând o valoare mai mică a cromei (C), sugerându-se astfel o puritate cromatică mai scăzută. De asemenea, în cazul parametrului tonalitate s-au evidențiat valori mai ridicate ale acesteia, indicând o deplasare a culorii vinurilor către nuanțele portocalii.

Vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat s-au evidențiat printr-o intensitate mai ridicată a culorii, având valori mai mici ale clarității (L) și implicit o proporție mai ridicată de participare a culorii roșii (a+). În plus, aceste vinuri au prezentat o puritate cromatică mai înaltă (valori ridicate ale cromei) în care au predominat mai mult nuanțele violete (valori mai scăzute ale tonalității-H).

Dintre tehnicile utilizate ce s-au evidențiat a avea un impact asupra caracteristicilor cromatice ale vinurilor obținute s-au remarcat variantele V2 (Termomacerare), V3 (Microunde), V5 (Criomacerare), V6 (Criomacerare+Microunde) și V7 (Macerare carbonică). Astfel, prin aplicarea termomacerării, macerării cu microunde, criomacerării și criomacerării + microunde au rezultat în general vinuri cu o intensitate și puritate cromatică mai ridicată, în care participă într-o proporție mai mare componenta roșie (+a). În plus, valorile scăzute ale tonalității (H) au indicat predominanța nuanțelor violete (Tarțian ș.a., 2017).

La polul opus se află macerația carbonică. Această tehnică de macerare a condus la obținerea unor vinuri foarte clare, cu o intensitate slabă a culorii și predominanța nuanțelor portocalii față de cele violete. De asemenea, macerația carbonică a prezentat cele mai mari valori ale diferențelor de culoare ΔE , fiind și singura variantă de macerare ce a condus la obținerea unor vinuri în care s-a detectat participarea culorii verzi (BBR-H-V7-2014), specifică vinurilor albe.

4.4.1. CORELAREA CARACTERISTICILOR CROMATICE CU COMPUȘII DE CULOARE RELEVANȚI

Pentru a obține o perspectivă asupra etiologiei culorii este necesară corelarea variabilelor cromatice cu compușii chimici relevanți din acest punct de vedere. În cazul vinurilor roșii și roze, culoarea provine în principal din antociani sau din derivații lor care sunt extrași sau formați în timpul procesului de vinificație.

În primul rând, diferențele de culoare dintre vinurile obținute din cele două biotipuri sunt destul de evidente și sunt confirmate și prin simularea culorii. Existența acestor diferențe cromatice este determinată în principal de conținutul diferit în antociani a celor două variații fenotipice ale soiului, evidente confirmate prin analiza cantitativă a antocianilor prin spectrofotometrie și cromatografie lichidă de înaltă performanță.

Prin analiza cromatică CIE Lab 76, vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz s-au remarcat prin participarea într-o proporție foarte mică a culorii roșii (+a) și predominanța nuanțelor portocalii (valori mai mari ale tonalității – H) față de cele violete. Aceste lucru se poate explica și prin analiza profilului antocianilor a acestor vinuri, evidențiindu-se o proporție mai mare de participare a peonidin-3-monoglucozidului față de malvidin-3-monoglucozid, știindu-se faptul că peonidin-3-monoglucozidul (cu doi substituenți din nucleul benzenic) este situată în zona culorii portocalii, în timp ce malvidin-3-monoglucozidul (trei substituenți din nucleul benzenic) este situat în zona roșu ± purpurie. Valorile mai mari ale tonalității (H) exprimate de biotipul roz poate indica și contribuția unor compuși de culoare diferiți de antociani cu o posibilă formare de piranoantociani, ce posedă nuanțe mai portocalii.

În schimb, vinurile obținute din biotipul vânăt au prezentat o intensitate colorantă mai mare, cu valori ridicate ale cromei și valori scăzute ale tonalității. Valorile ridicate ale cromei (C) implică o puritate mai mare cromatică și participarea unui număr mai mic de compuși de culoare din diferite clase chimice, fiind în general asociată cu un grad mai mare de extracție în antociani. Astfel, aceste rezultate se pot datora în primul rând gradului de pigmentare mai ridicat al biotipului vânăt și a unei extracții mai mari de antociani în timpul macerației. De asemenea, valoarea cantitativă a cromaticității (Croma) este legată de numărul de grupări hidroxil din nucleul benzenic, evidențiindu-se delfinidin-3-monoglucozidul ca fiind drept cea mai pură culoare [83], aceasta participând într-un procent destul de ridicat în cadrul profilului antocianilor a biotipului vânăt (3,89–18,19%).

Biotipul vânăt a determinat de asemenea și valori scăzute ale tonalității ce sunt asociate în general cu nuanțele violete. Nuanțele violete mai accentuate ale acestor vinuri sunt induse probabil și de procentul mai mare de participare a malvidin-3-monoglucozidului (maximum 87,59%) și petunidin-3-monoglucozidului (maximum 10,12%), știindu-se că odată cu gradul de metoxilare al antocianilor se amplifică și deplasarea spre culoarea purpurie-violet.

S-a observat de asemenea că pH-ul vinurilor de Busuioacă de Bohotin au prezentat în general valori ridicate, de peste 3,3 unități de pH, fapt ce a condus la scăderea concentrației de antociani în stare de cation flavilium și modificarea densității culorii. Această situație ar putea determina un ușor efect hipsocromic, ce se manifestă prin deplasarea maximumului de absorbție către lungimile de undă mai mici. La analiza parametrilor cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin nu poate fi luat în calcul și efectul copigmentării antocianilor asupra acestor caracteristici de culoare, determinările cantitative ale acestora sugerând imposibilitatea apariției acestui fenomen datorită conținutului foarte scăzut în acești compuși.

4.5. COMPUȘII VOLATILI IDENTIFICAȚI ÎN VINURILE DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR OBTINUTE

Cromatografia gazoasă permite analiza compușilor volatili sau a celor care devin volatili prin derivatizare. Echipamentul constă în principal dintr-un sistem de admisie a probei (headspace), o coloană în care proba este separată și un mijloc de detectare a compușilor volatili. Pentru separarea compușilor volatili de-a lungul coloanei se utilizează un flux controlat de gaz și o creștere graduală a temperaturii. Se poate utiliza de asemenea și un detector de spectrometrie de masă (MS) care permite identificarea compușilor volatili eluați prin potrivirea modelului de fragmentare și ionul molecular obținut prin MS cu bibliotecile de referință specializate ale unor astfel de informații. Determinarea ariei peak-ului prin compararea peak-ului unui compus pur aflată într-o cantitate cunoscută permite cuantificarea compusului aflat în proba de analizat și prin urmare toți compușii detectați din peak-uri. Standardele interne sunt utilizate în mod obișnuit pentru a minimiza erorile de cuantificare.

Pentru determinarea compușilor volatili din vinurile de Busuioacă de Bohotin, toate probele au fost analizate cu un gaz cromatograf cuplat cu un sistem de spectrometru de masă (Shimadzu® HS 20trap-GC 2010plus-MS8040TQ). Sistemul a utilizat heliul drept gaz purtător iar ca material de adsorbție în capcană (faza staționară) s-a utilizat o rășină de oxid 2,6 difenilen (TENAX). Coloana de separare utilizată este Phenomenex® ZB WAXplus 60 m × 0.25 mm ID × 0.15 μm localizată într-un cuptor cu temperatură controlată. Rezultatele au fost procesate calitativ prin compararea lor cu diferite baze de date MS disponibile (NIST® 14, Wiley® 10, FFNSC® și SZTERP®), iar exprimarea cantitativă a acestora s-a realizat în milimoli/litru (mmol/L), toate probele fiind prelucrate prin utilizarea standardului intern 4-metil-pentan-2-ol și raportarea la acesta.

Compușii volatili sunt vitali pentru calitatea strugurilor și a vinului, determinând complexitatea aromatică și caracteristicile unice (tipice) ale strugurelui și produsului elaborat din acesta, vinul. Până acum au fost identificate sute de compuși volatili ce pot fi împărțiți în câteva clase chimice principale: terpenoide, alcooli, ester, aldehide, acizi etc. Caracteristicile odorante și arome ale fiecărui soi și implicit vinului obținut din acesta se datorează compușilor unitari și efectelor cumulative și sinergice dintre acești compuși.

Aroma unui vin are la bază trei surse/origini principale de compuși volatili:

- 1) strugurele, din care rezultă aromele primare și cuprinde compușii volatili și nevolatili (legați glicozidic) deja prezenți în acesta, conferind caracterul varietal al vinului;
- 2) fermentația alcoolică, în urma căreia sunt generați compușii chimici volatili determinați de metabolismul levurian și care constituie aroma secundară a vinului;
- 3) procesele oxidative (maturare) și reductive (învechire) ce au loc în timpul depozitării ulterioare a vinului obținut și care reprezintă aromele terțiare.

Busuioaca de Bohotin face parte din categoria soiurilor arome, tămâioase, având ca origine din punct de vedere genetic soiul „*Muscat Blanc à Petits Grains*” care face parte din varietatea *Muscat* a speciei de viță de vie *Vitis Vinifera*. Vinurile obținute din acest soi prezintă o aromă inconfundabilă ce amintește de parfumul florilor de trandafir, busuioc, coriandru, fragi de pădure și căpșuni sălbatice.

4.5.1. CONȚINUTUL ÎN COMPUȘI TERPENICI DIN VINURILE DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN

Aromele primare sau varietale ale unui vin sunt induse de o serie de compuși volatili ce sunt localizați în exocarp (pielețe), mulți dintre ei fiind depozitați sub formă de conjugați ai zaharurilor și aminoacizilor în vacuolele celulelor exocarpace [65; 74; 207;], acești compuși persistând pe parcursul vinificației.

Cei mai reprezentativi compuși volatili din această categorie, care determină caracterul varietal al unui vin, sunt terpenele. Terpenele și derivații lor (denumite în general terpenoide) sunt foarte răspândite în natură și apar în diferite proporții în struguri, existând sub trei forme: formele volatile care sunt alcoolii monoterpenici liberi sau oxizii acestora, o proporție variabilă, nevolatilă și care este sub formă legată glicozidic sau pot apare ca di- și tri-oli nevolatili, necontribuind la aromă. Terpenele cuprind o gamă largă de substanțe care sunt considerate ca fiind derivate dintr-o structură de bază lineară formată din 5 atomi de carboni așa cum este izoprenul. Principalii compuși de aromă de interes ai vinului sunt hidrocarburile în sine dar mai ales alcoolii lor, ambele cu structuri liniare și monociclice. Compușii din această familie sunt responsabili în mare de caracteristicile odorante fructate (citric) sau florale, cu toate că o parte din aceștia posedă note odorante asemănătoare rășinilor (α -terpinen, *p*-cimen, mircen și farnesen).

Conform lui Ribéreau-Gayon ș.a., 2006 [186], s-au identificat în struguri peste 40 de terpene, dar numai șase compuși (linalool, α -terpineol, citronelol, nerol, geraniol și hotrienol) sunt considerați ca fiind semnificative pentru aroma vinului.

În figurile nr.4.7–4.12 de mai jos sunt prezentați principalii compuși terpenici identificați în vinurile de Busuioacă de Bohotin elaborate în acest experiment.

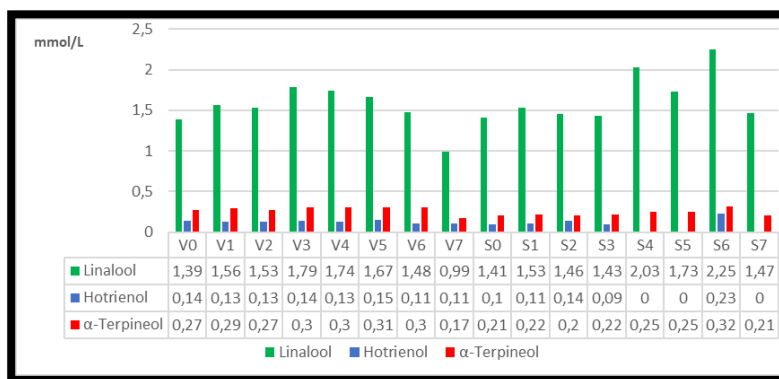


Figura nr.4.7 Conținutul în Linalool, Hotrienol și α -Terpineol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz (BBR-H)

Figure no.4.7 The content in Linalool, Hotrienol and α -Terpineol of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype (BBR-H)

*V–probele obținute în 2014; S–probele obținute în 2015; V0S0–Proba martor; V1S1–Macerare fermentare; V2S2–Termomacerare; V3S3–Macerarea cu microunde; V4S4–Macerare cu ultrasunete; V5S5–Criomacerare; V6S6–Criomacerare+Microunde; V7S7–Macerare carbonică.

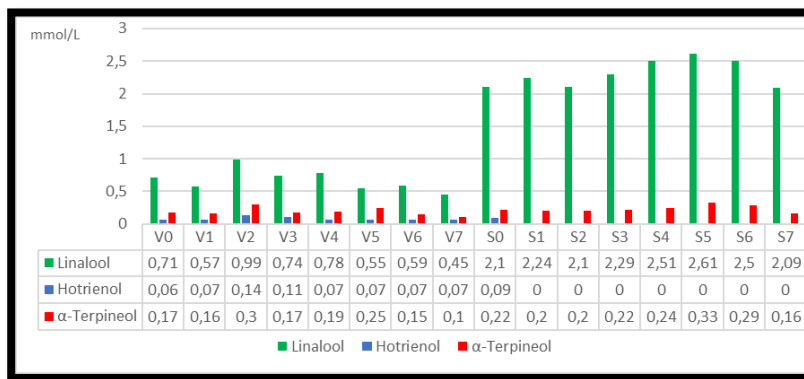


Figura nr.4.8 Conținutul în Linalool, Hotrienol și α -Terpineol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Centrul Viticol Averești (BBV-A)

Figure no.4.8 The content in Linalool, Hotrienol and α -Terpineol of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV-A)

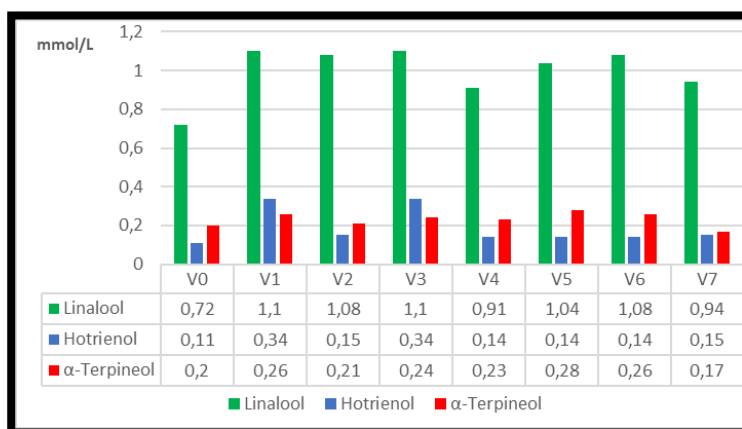


Figura nr.4.9 Conținutul în Linalool, Hotrienol și α -Terpineol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Centrul Viticol Huși (BBV-H)

Figure no.4.9 The content in Linalool, Hotrienol and α -Terpineol of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV-H)

Linaloolul reprezintă unul dintre cei mai odoranți alcooli monoterpenici, a cărui prezență imprimă un miros floral de trandafir și coriandru, având și un prag de percepție olfactiv foarte scăzut.

Prezența acestui compus în vinurile de Busuioacă de Bohotin s-a detectat în toate probele obținute, el aflându-se în cantitățile cele mai mari dintre toți compușii terpenoidici. Astfel, în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz concentrația în linalool a fost cuprinsă între 0,99 mmol/L (BBR-H-V7) și 2,25 mmol/L (BBR-H-V6) și între 0,45 mmol/L (BBV-A-V7) și 2,61 mmol/L (BBV-A-S5) pentru vinurile obținute din biotipul vânător.

Hotrienolul posedă un miros tropical cu caracteristici aromatice florale, acest compus fiind identificat pentru prima dată ca enantiomer S în uleiul extras din frunzele copacului Ho-Sho [254], iar de atunci s-a identificat în multe surse naturale. Acest terpenol aciclic se găsește și în vin și apare cu preponderență mai mare în urma tratamentului termic

al mustului [21, p.338]. În vinurile de Busuioacă de Bohotin acest compus a fost decelat în concentrații mai mici, aceste probe înregistrând valori cuprinse între 0,09 mmol/L (BBR–H–S3) și 0,23 mmol/L (BBR–H–S7) pentru biotipul roz, respectiv între 0,06 mmol/L (BBV–A–V0) și 0,34 mmol/L (BBV–H–V1;V3) în cazul biotipului vânat. S-a observat de asemenea că prezența acestui compus nu a fost detectată în toate probele analizate, în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat din Centrul Viticol Averești din anul 2015 fiind identificat doar în proba martor (BBV–A–S0).

α -Terpineolul este un terpenol terțiar monociclic și izomerul principal al terpineolilor ce prezintă note florale de liliac și crin. Prezența acestuia în vinurile aromate se datorează în principal degradării geraniolului și nerolului, acest compus având un prag de percepție senzorială destul de ridicat (3-4 ori față de linalool), cu o contribuție mică asupra aromei.

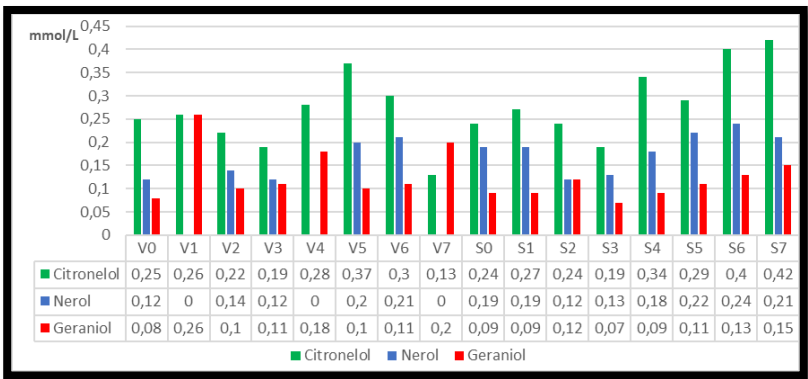


Figura nr.4.10 Conținutul în Citronelol, Nerol și Geraniol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H)

Figure no.4.10 The content in Citronellol, Nerol and Geraniol of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR–H)

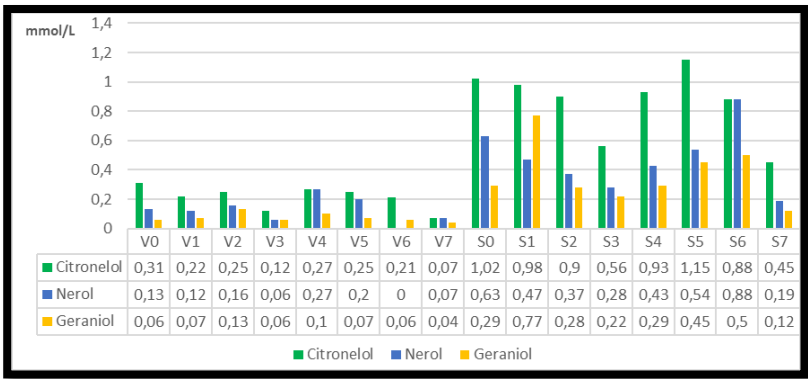


Figura nr.4.11 Conținutul în Citronelol, Nerol și Geraniol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV–A)

Figure no.4.11 The content in Citronellol, Nerol and Geraniol of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV–A)

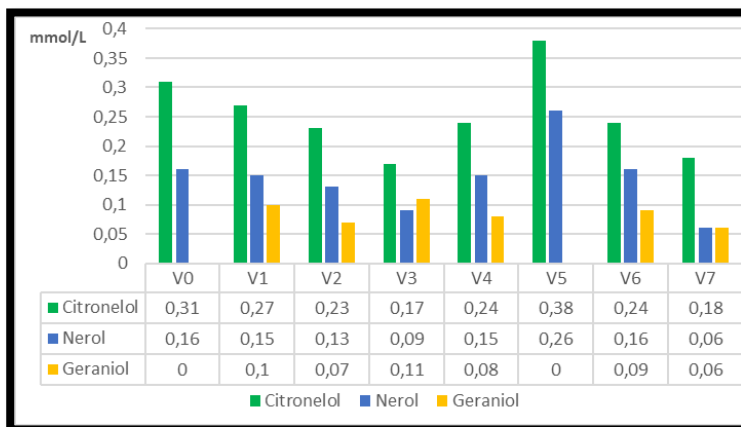


Figura nr.4.12 Conținutul în Citronelol, Nerol și Geraniol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Centrul Viticol Huși (BBV-H)

Figure no.4.12 The content in Citronellol, Nerol and Geraniol of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV-A)

În vinurile de Busuioacă de Bohotin α -terpineolul a fost decelat în concentrații cuprinse între 0,17 (BBR-H-V7) și 0,32 mmol/L (BBR-H-S6) pentru cele obținute din biotipul roz și între 0,1 (BBV-A-V7) și 0,33 mmol/L (BBV-A-S5) în cazul biotipului vânător.

Citronelolul este un terpenol primar aciclic ce prezintă un miros de lămâiță, iar în probele de Busuioacă de Bohotin a fost identificat în concentrații ce au oscilat între 0,13 mmol/L (BBR-H-V7) și 0,42 mmol/L (BBR-H-S7) pentru biotipul roz și între 0,07 mmol/L (BBV-A-V7) și 1,15 mmol/L (BBV-A-S5) în ceea ce privește biotipul vânător.

Geraniolul este un alt alcool monoterpenic ce imprimă vinului note odorante de trandafir, iar importanța acestuia în profilul aromatic este destul de mare având în vedere că acest compus poate juca un rol de precursor pentru diverse terpene (linalool, α -terpineol, citronelol). Concentrația acestui compus în probele experimentale de Busuioacă de Bohotin a înregistrat valori destul de mici, cuprinse între 0,07 mmol/L (BBR-H-S3) și 0,26 mmol/L (BBR-H-V1) pentru cele elaborate din biotipul roz, iar în cazul biotipului vânător cantitatea acestuia a oscilat între 0,04 (BBV-A-V7) și 0,77 mmol/L (BBV-A-S1).

Nerolul reprezintă izomerul trans al geraniolului, având un miros de trandafir similar geraniolului dar cu un prag de percepție mult mai scăzut (la 50% față de geraniol). La fel ca și geraniolul, acest compus contribuie la formarea de noi terpenoide (linalool, α -terpineol, citronelol) găsindu-se de obicei în concentrații destul de scăzute în vin. În vinurile de Busuioacă de Bohotin, nerolul a fost detectat în concentrații ce au oscilat între 0,12 mmol/L (BBR-H-V0;V3) și 0,24 mmol/L (BBR-H-S6) în cazul biotipului roz și între 0,06 (BBV-H-V7) și 0,88 mmol/L (BBV-A-S6) pentru cele obținute din biotipul vânător.

Privind din punct de vedere cantitativ cei 6 alcooli monoterpenici analizați s-a observat că linaloolul a fost cel mai abundent în toate probele evaluate (0,45–2,61 mmol/L), urmat de citronelol (0,07–1,15 mmol/L), nerol (0,06–0,88 mmol/L), geraniol (0,04–0,77 mmol/L), hotrienol (0,09–0,34 mmol/L) și α -terpineol (0,1–0,33 mmol/L).

Prevalența linaloolului față de ceilalți compuși terpenici se explică prin faptul că acest compus este mult mai stabil, fiind sintetizat de obicei în cantități mai ridicate, iar în al doilea rând concentrația acestuia poate să crească la începutul perioadei de învechire, din moment ce se formează din geraniol și nerol. Mai exact, prin ciclizarea nerolului se produce α -terpineol și linalool [146]. Prezența citranelolului în concentrații mai ridicate față de nerol și geraniol se datorează faptului că acești compuși reprezintă precursorii de formare ai acestuia.

Pe lângă acești factori, un rol important îl joacă procesul fermentativ, afectând semnificativ conținutul în monoterpene a strugurilor prin intermediul proceselor chimice și microbiologice. Cea mai importantă transformare se referă la degradarea nerolului și geraniolului de către levura *Saccharomyces cerevisiae* prin reducere enzimatică și formarea ulterioară de citranelol, α -terpineol și linalool [77]. Proporția compușilor menționați mai sus depinde de sușa de levură și compoziția mustului [78]. Aceste rezultate ilustrează schimbările semnificative ale aromei strugurilor, induse de metabolismul fermentativ al levurilor, iar aceste transformări reflectă cel puțin parțial faptul că, caracterul foarte intens al vinului de *Muscat* dispare în timpul învechirii, acesta păstrând note odorante florale mai puțin intense.

Pe lângă alcoolii monoterpenici reprezentativi pentru profilul odorant al vinurilor aromate, în vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au mai detectat mai multe forme polioxigenate ale acestor terpenoide precum și izomerii acestora. Dintre acești compuși, se pot menționa: oxizii furanici și piranici de linalool (*cis* și *trans*), oxidul de nerol și oxidul de roze (tabelul nr.4.31–4.33). Aceștia au un impact olfactiv redus în vinuri datorită pragurilor lor ridicate de percepție, dar pot fi precursorii altor compuși monoterpenici activi odoriferi [234].

Linaloolul are o limită inferioară de percepție în must dar transformarea acestuia în oxizi sau prezența acestora din urmă conduce la percepția mai crescută a linaloolului [188]. Percepția odorantă este de asemenea amplificată de prezența în concentrații mai ridicate a α -terpineolului. Linaloolul are un miros floral de trandafir în timp ce oxizii de linalool posedă note odorante asemănătoare pinului. În vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au detectat oxizi furanici *cis* (*Z*) de linalool cu concentrații cuprinse între 0,01 mmol/L și 0,08 mmol/L, oxizi furanici *trans* (*E*) de linalool (0,01÷0,06 mmol/L), oxizii piranici *cis* (*Z*) de linalool (0,01÷0,06 mmol/L) și oxizii piranici *trans* (*E*) de linalool (0,02÷0,09 mmol/L). Dintre aceste forme ale oxizilor de linalool au predominat oxizii furanici față de cei piranici, iar din punct de vedere al izomerilor acestora s-a observat prevalența formelor *cis* (*Z*) ale oxizilor de linalool.

Oxidul de nerol se poate forma pornind de la nerol printr-o ciclizare simplă sau din descompunerea diendiolului (3,7-dimetilocta-1,5-dien-3,7-diol) cu formarea hotrienolului și a oxidului de nerol. Acest compus posedă un miros verde, vegetal cu note ușoare de mentă, iar prezența sa a fost decelată în vinurile de Busuioacă de Bohotin în concentrații ce au oscilat între 0,01 mmol/L (BBR–V2) și 0,26 mmol/L (BBR–S3) în cazul biotipului roz și între 0,02 (BBV–A–V2;V3;V4) și 0,27 mmol/L (BBV–H–V7) la biotipul vânat.

Tabelul nr.4.31/Table no.4.31

Conținutul în compuși terpenici polioxigenați al vinurilor de Busuioacă de Bohotin
obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H)

The content of polyoxygenated terpenic compounds of Busuioacă de Bohotin wines
obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR–H)

Terpene (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
2014								
<i>Cis</i> -furan-(Z)-Linalool oxid	0,04	nd	0,03	nd	0,04	nd	0,06	nd
<i>Trans</i> -furan-(E)-Linalool oxid	nd	0,09	nd	0,08	0,03	0,07	0,03	0,06
<i>Cis</i> -Roze oxid	0,21	nd	nd	0,001	nd	0,005	0,004	nd
Nerol oxid	nd	0,06	0,01	nd	0,03	0,06	0,19	nd
2015								
<i>Cis</i> -furan-(Z)-Linalool oxid	0,06	0,03	0,05	nd	0,02	0,01	0,05	0,05
<i>Trans</i> -furan-(E)-Linalool oxid	nd	nd	nd	0,03	0,04	0,03	nd	nd
(Z)- <i>Cis</i> -piranic-Linalool oxid	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,02	nd
(E)- <i>Trans</i> -piranic-Linalool oxid	nd	0,02	nd	0,02	nd	0,02	nd	0,07
<i>Cis</i> -Roze oxid	nd	0,01	0,01	0,01	nd	nd	nd	nd
<i>Trans</i> -Roze oxid	0,01	nd	nd	nd	nd	0,02	0,02	0,01
Nerol oxid	nd	nd	0,11	0,26	0,04	0,23	nd	0,05

Tabelul nr.4.32/Table no.4.32

Conținutul în compuși terpenici polioxigenați al vinurilor de Busuioacă de Bohotin
obținute din Biotipul Vânat din Averești (BBV-A)

The content of polyoxygenated terpenic compounds of Busuioacă de Bohotin wines
obtained from the Dark Violet Biotype of Averești (BBV–A)

Terpene (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
2014								
<i>Trans</i> -furan-(E)-Linalool oxid	0,01	0,02	0,04	0,01	0,02	nd	0,01	0,02
(Z)- <i>Cis</i> -piranic-Linalool oxid	nd	nd	nd	nd	0,06	nd	nd	nd
(E)- <i>Trans</i> -piranic-Linalool oxid	0,03	nd	0,09	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Cis</i> -Roze oxid	0,00	nd	nd	nd	0,01	nd	nd	nd
Nerol oxid	0,04	nd	0,02	0,02	0,02	nd	nd	nd
Epoxi-linalool (Oxidul Etilenic)	nd	0,03	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Citronelol Epoxid (R sau S) (Etilenic)	nd	nd	nd	0,02	nd	nd	nd	nd

Terpene (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
2015								
<i>Trans</i> -furan-(E)-Linalool oxid	0,02	nd	nd	0,06	nd	0,04	nd	nd
<i>Cis</i> -furan-(Z)-Linalool oxid	nd	0,03	0,02	nd	0,02	nd	0,03	0,06
(E)- <i>Trans</i> -piranic-Linalool oxid	0,02	0,03	nd	nd	0,03	nd	nd	0,05
Roze oxid	0,03	0,02	0,02	0,01	0,03	0,04	0,03	0,01
Nerol oxid	0,24	0,06	0,06	0,06	0,07	0,09	0,07	0,16

Tabelul nr.4.33/Table no.4.33

Conținutul în compuși terpenici polioxigenați al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Centrul Viticol Huși (BBV-H)

The content of polyoxygenated terpenic compounds of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Huși (BBV-H)

Terpene (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
<i>Cis</i> -furan-(Z)-Linalool oxid	0,03	nd	nd	0,03	0,03	nd	nd	nd
<i>Trans</i> -furan-(E)-Linalool oxid	nd	0,04	0,03	nd	nd	0,04	nd	nd
(Z)- <i>Cis</i> -piranic-Linalool oxid	nd	0,01	nd	nd	nd	nd	nd	0,03
(E)- <i>Trans</i> -piranic-Linalool oxid	0,02	0,04	0,02	0,03	0,03	0,03	nd	0,02
<i>Trans</i> -Roze oxid	nd	nd	0,003	nd	nd	nd	nd	nd
Nerol oxid	nd	nd	0,16	nd	nd	nd	nd	0,27

Oxidul de roze (*cis* și *trans*) este un al compus terpenic oxigenat a cărui biosinteză ar putea fi explicată prin reducerea stereoselectivă a geraniolului în S-citronelol și restructurarea ulterioară a acestuia în condiții acide [251], fiind considerat un compus chimic cu un impact odorant destul de mare asupra aromei varietale de Gewürztraminer [153]. Oxidul de roze prezintă note odorante de trandafir, iarbă/verde, având un prag de percepție olfactivă foarte scăzut (de ordinul nanogramelor/L) iar prezența acestuia a fost decelată și în vinurile de Busuioacă de Bohotin. Astfel, s-a observat prezența izomerului *cis* al oxidului de roze în concentrații cuprinse între 0,001 (BBR-H-V3) mmol/L și 0,21 mmol/L (BBR-H-V0) și a *trans* oxidului de roze cu valori cuprinse între 0,01 și 0,03 mmol/L.

Prezența terpenelor polioxigenate în vin se poate datora proceselor oxidative care au loc în timpul vinificației sau activității enzimactice a strugurelui în timpul maturării acestuia, conținutul acestora putând varia în funcție de tehnologia aplicată, durata de învechire sau soiul utilizat. De exemplu, este cunoscut faptul că oxizii de linalool se întâlnesc cu preponderență în soiul „*Muscat de Frontignan*” sau „*Muscat Blanc à Petits Grains*”. Astfel, prevalența oxizilor de linalool întâlnită în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin nu este surprinzătoare, acest lucru fiind determinat în primul rând de caracteristicile

genetice ale acestui soi, știindu-se că Busuioaca de Bohotin aparține aceleiași filon genetic cu Muscat de Frontignan, respectiv soiul „*Muscat Blanc à Petits Grains*”.

4.5.2. COMPUȘII SECUNDARI DE AROMĂ IDENTIFICAȚI

În urma fermentației alcoolice produse de către levuri, zaharurile din must sunt convertite în alcool etilic și dioxid de carbon ca produși principali, generând în același timp o diversitate de metaboliți volatili (alcooli superiori, esteri, acizi, aldehide, cetone *etc.*) care contribuie esențial la aroma vinului. Formarea acestor compuși volatili și cantitățile acestora sunt condiționate de compoziția mediului de fermentare (must), condițiile de fermentare și speciile de levuri ce intervin în acest proces [86]. S-a evidențiat rolul semnificativ al levurilor asupra dezvoltării aromei vinului, interacțiunile dintre levuri și compușii strugurilor influențând multe valențe ale calității vinului de la aspect, aromă până la „structura” acestuia. Atât aromele secundare (compuși tipici rezultați din procesul fermentativ și care nu sunt corelați neapărat cu soiul utilizat) cât și caracterul varietal (compuși chimici tipici soiului folosit în vinificație) este influențat de levuri. Mai mult decât atât, aroma finală a unui vin mai depinde și de procesele oxidative și reductive care au loc în timpul maturării și învechirii acestuia, compușii de aromă fiind supuși unor serii de reacții biochimice și/sau microbiologice ce modifică profilul volatil atât din punct de vedere cantitativ cât și calitativ.

4.5.2.1. Conținutul în alcooli superiori din vinurilor de Busuioacă de Bohotin

Alcooli superiori sau alcooli de fuzele reprezintă din punct de vedere cantitativ cea mai importantă clasă de compuși volatili formați de levuri în timpul fermentației alcoolice a zaharurilor. Sunt caracterizați de un conținut mai mare de doi atomi de carbon și includ alcooli cu catenă ramificată precum: 2-metilpropanol (izobutanol), 2-metilbutanol (alcool amilic), 3-metilbutanol (alcool izoamilic), alcooli aromatici ca 2-feniletanol, alcool benzilic *etc.* Potrivit lui Rapp ș.a., 1996 [190], concentrațiile de alcooli superiori de sub 300 mg/L adaugă o complexitate dorită a vinului în timp ce concentrațiile mai ridicate pot influența negativ calitatea senzorială.

În ceea ce privește conținutul în alcooli superiori din vinurile de Busuioacă de Bohotin (fig. 4.13–4.21), proporția cea mai ridicată a avut-o 3-metilbutanolul (alcoolul izoamilic) cu concentrații cuprinse între 2,29 mmol/L (BBV–H–V7) și 8,69 mmol/L (BBV–A–S4), urmat de 2-metil-1-propanol (alcoolul izobutilic) 0,39 (BBV–H–V4) ÷ 1,19 mmol/L (BBV–A–S7) și 1-propanol între 0,09 (BBV–A–S0) și 1,06 mmol/L (BBR–H–S4). Din categoria alcoolilor amilici s-a mai detectat și 2-metil-1-butanol (alcoolul amilic activ), însă acesta s-a regăsit în foarte puține probe și în concentrații destul de mici. Acești compuși prezintă în general un miros fructat, alcoolic, vinos și eteric.

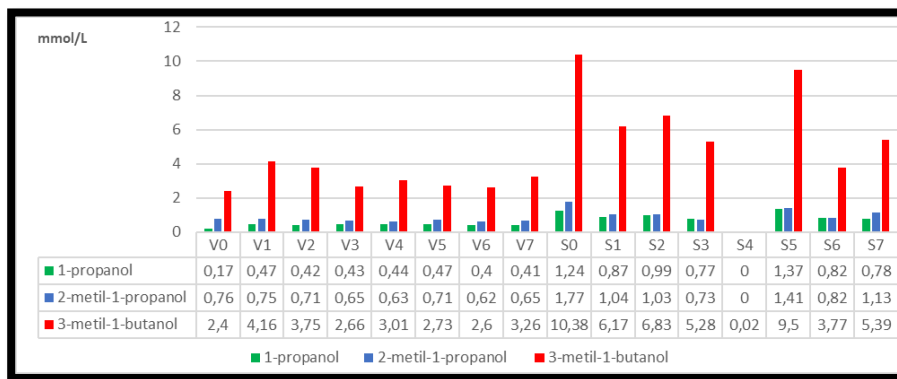


Figura nr.4.13 Conținutul în 1-propanol, 2-metil-1-propanol și 3-metil-1-butanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centru Viticol Huși (BBR-H)

Figure nr.4.13 The content in 1-propanol, 2-methyl-1-propanol and 3-methyl-1-butanol in Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR-H)

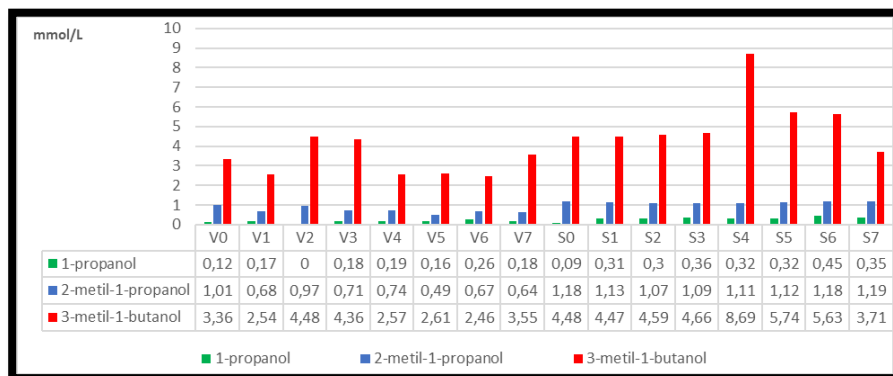


Figura nr.4.14 Conținutul în 1-propanol, 2-metil-1-propanol și 3-metil-1-butanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Verești (BBV-A)

Figure no.4.14 The content in 1-propanol, 2-methyl-1-propanol and 3-methyl-1-butanol in Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Biotype of Verești Viticulture Centre (BBV-A)

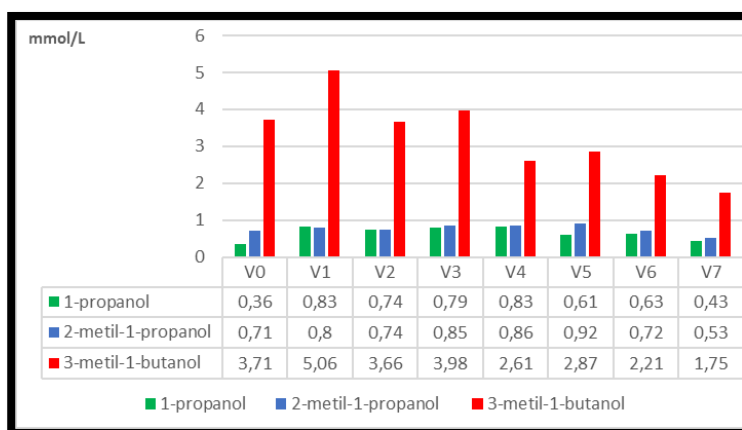


Figura nr.4.15 Conținutul în 1-propanol, 2-metil-1-propanol și 3-metil-1-butanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV-H)

Figure no.4.15 The content in 1-propanol, 2-methyl-1-propanol and 3-methyl-1-butanol in Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV-H)

În vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au identificat și alcooli superiori cu 5 atomi de carbon (cu miros de fuzel, alcoolic, eteric) precum: 1-pentanol, 3-metil-1-pentanol, 4-metil-1-pentanol, aceștia fiind prezenți în cantități destul de mici. Astfel, în cazul 1-pentanolului acesta a înregistrat valori cuprinse între 0,02 și 0,30 mmol/L, 3-metil-1-pentanolul între 0,03÷0,19 mmol/L și 4-metil-1-pentanolul între 0,01÷0,08 mmol/L.

Tabelul nr.4.34/Table no.4.34

Conținutul în alcooli superiori C5 din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din
Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H)

The content in C5 Higher Alcohols from Busuioacă de Bohotin wines obtained from the
Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR–H)

Alcooli C5 (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
2014								
1-pentanol	0,05	0,03	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,02
3-metil-1-pentanol	0,05	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
2015								
1-pentanol	0,13	0,11	0,12	0,10	0,30	0,10	0,13	0,06
3-metil-1-pentanol	0,08	0,07	0,08	0,07	0,17	0,11	0,16	0,09

Tabelul nr.4.35/Table no.4.35

Conținutul în alcooli superiori C5 din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din
Biotipul Vânător din Centrul Viticol Averești (BBV–A)

The content in C5 Higher Alcohols from Busuioacă de Bohotin wines obtained from the
Dark violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV–A)

Alcooli C5 (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
2014								
3-metil-1-pentanol	0,07	0,04	0,19	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04
4-metil-1-pentanol	0,02	0,01	0,04	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01
2015								
1-pentanol	0,07	0,06	0,06	0,06	0,11	0,06	0,06	0,10
3-metil-1-pentanol	0,16	0,14	0,16	0,14	0,16	0,17	0,15	0,07
4-metil-1-pentanol	0,08	0,06	0,07	0,06	0,07	0,08	0,08	0,02

Tabelul nr.4.36/Table no.4.36

Conținutul în alcooli superiori C5 din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din
Biotipul Vânător din Centrul Viticol Huși (BBV–H)

The content in C5 Higher Alcohols from Busuioacă de Bohotin wines obtained from the
Dark violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV–H)

Alcooli C5 (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
1-pentanol	0,13	0,15	0,05	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03
3-metil-1-pentanol	0,05	0,03	0,03	0,03	0,03	0,06	0,04	0,03
4-metil-1-pentanol	0,02	0,01	0,01	0,01	nd	0,01	0,01	0,01

Pe lângă alcoolii amilici au fost detectate concentrații ridicate de alcooli cu 6 atomi de carbon (1-hexanol, trans-3-hexen-1-ol, cis-3-hexen-1-ol).

Alcoolii cu șase atomi de carbon (C6) se formează în urma acțiunii levurilor prin reducerea aldehydelor C6 de către enzima alcool dehidrogenază. Aldehydele C6 derivă din acidul linoleic și linolenic în urma acțiunii enzimelor strugurelui lipoxigenază (LOX), hidroxiperoxid liaza (HPL) și (3Z)-(2E) enal izomeraza. Compușii C6, cu note odorante de verde și iarbă, depind nu numai de conținutul în acizi grași nesaturați, dar și de activitatea enzimatică a strugurelui, observându-se diferențe între anumite soiuri [236]. S-a constatat importanța compușilor C6 din struguri și vin în determinarea tipicității varietale și diferențelor varietale în calea LOX–HPL, acesta fiind utilizat drept criteriu chemotaxonomic. Cu toate acestea, activitatea enzimatică a strugurelui depinde și de stadiul de maturitate al acestuia.

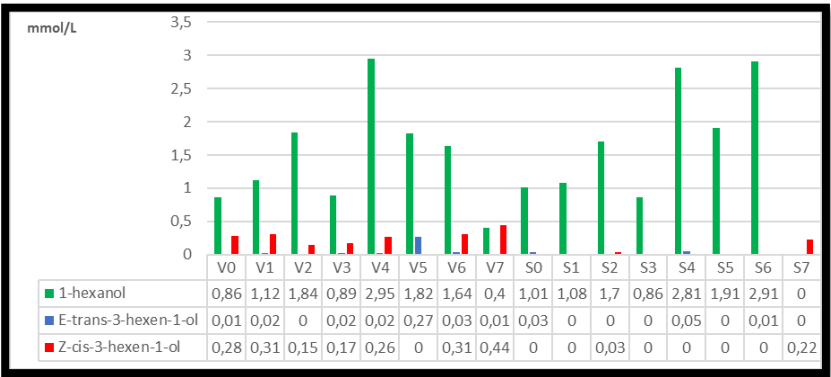


Figura nr.4.16 Conținutul în 1-hexanol, (E) *trans*-3-hexen-1-ol și (Z) *cis*-3-hexen-1-ol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H)

Figure no.4.16 The content in 1-hexanol, (E) *trans*-3-hexene-1-ol and (Z) *cis*-3-hexene-1-ol of Busuioacă de Bohotin wines obtained from Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR-H)

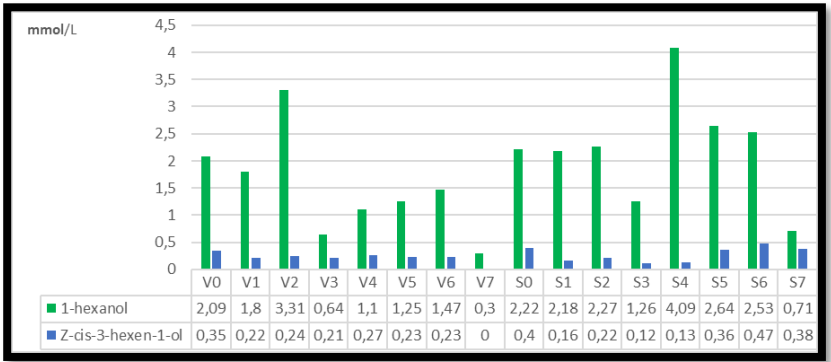


Figura nr.4.17 Conținutul în 1-hexanol și (Z) *cis*-3-hexen-1-ol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vănat din Centrul Viticol Averești (BBV-A)

Figure no.4.17 The content in 1-hexanol and (Z) *cis*-3-hexene-1-ol of Busuioacă de Bohotin wines obtained from Dark Violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV-A)

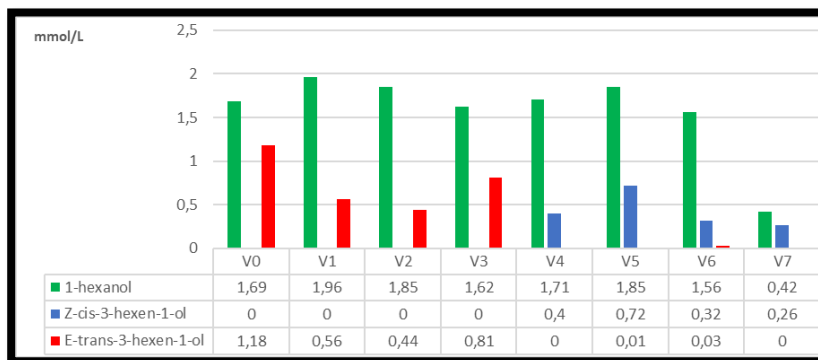


Figura nr.4.18 Conținutul în 1-hexanol, (Z) *cis*-3-hexen-1-ol și (E) *trans*-3-hexen-1-ol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV-H)

Figure no.4.18 The content in 1-hexanol, (Z) *cis*-3-hexene-1-ol and (E) *trans*-3-hexen-1-ol of Busuioacă de Bohotin wines obtained from Dark violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR-H)

Dintre alcooli C6 identificați în probele de Busuioacă de Bohotin, 1-hexanolul a prezentat concentrația cea mai ridicată. Astfel, în vinurile obținute din biotipul roz cantitatea acestuia a oscilat între 0,40 mmol/L (BBR-H-V7) și 2,95 mmol/L (BBR-H-V4), respectiv între 0,30 (BBV-A-V7) și 4,09 mmol/L (BBV-A-S4) în cazul biotipului vânat. Pe lângă 1-hexanol s-au mai detectat și (Z) *cis*-3-hexen-1-olul (0,03÷0,72 mmol/L), (E) *trans*-3-hexen-1-olul (0,01÷0,27 mmol/L) și 2-hexanolul, acesta din urmă fiind prezent în doar o singură probă în concentrație de 0,68 mmol/L. Acești compuși au o putere odorantă mai ridicată față de hexanol dar apar de obicei în cantități mult mai mici și nu contribuie la aroma vinului, dar generează uneori mirosuri neplăcute ierbacee [104].

Prin compararea conținutului în 1-hexanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin se observă că în cazul celor obținute din biotipul roz concentrația acestuia a atins un prag maxim mai mic față de biotipul vânat, fapt datorat probabil unei activități mai puțin intense a enzimelor strugurelui lipoxigenaza (LOX) și hidroxiperoxid liaza (HPL), conducând la formarea unor cantități mai scăzute de aldehide C6 (hexanal) și implicit de hexanol. De asemenea s-a mai remarcat faptul că macerația carbonică (V7) a condus la un conținut foarte scăzut sau nedetectabil de hexanol.

Un alt alcool superior ce s-a detectat în cantități mari în vinurile de Busuioacă de Bohotin este 2-feniletanolul. Acest alcool aromatic prezintă caracteristici odorante asemănătoare trandafirului, ce contribuie pozitiv la aroma vinului și reprezintă în general o componentă majoră de aromă a soiurilor de *Muscat*.

Deoarece Busuioacă de Bohotin face parte din categoria soiurilor aromate, compusul volatil în discuție a prezentat în general cantități destul de ridicate, valorile înregistrate oscilând între 1,01 mmol/L (BBR-H-V3) și 2,89 mmol/L (BBR-H-S6) în cazul vinurilor obținute din biotipul roz și între 0,73 mmol/L (BBV-H-V2) și 6,15 mmol/L (BBV-A-V2) pentru cele rezultate din biotipul vânat.

Tot din categoria alcoolilor superiori aromatici, cu note odorante florale de trandafir, s-a mai observat prezența alcoolului benzilic în concentrații de 0,03÷0,24 mmol/L și a 1-nonanolului (0,01÷0,17 mmol/L), acesta din urmă fiind detectat în mai puține probe.

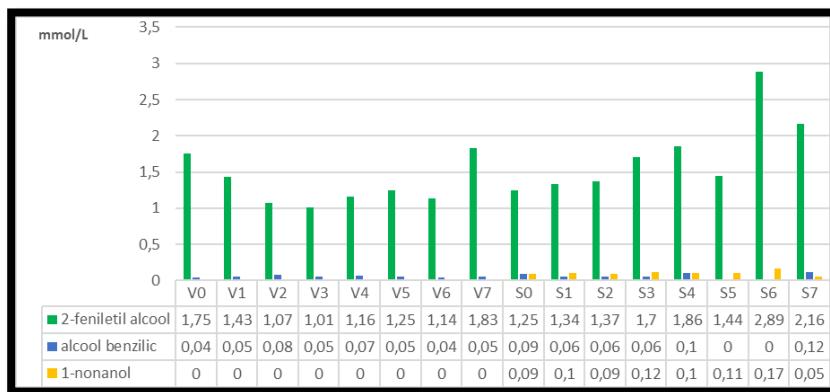


Figura nr.4.19 Conținutul în 2-feniletanol, alcool benzilic, 1-nonanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H)

Figure no.4.19 The content in phenylethyl alcohol, benzyl alcohol and 1-nonanol from Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR–H)

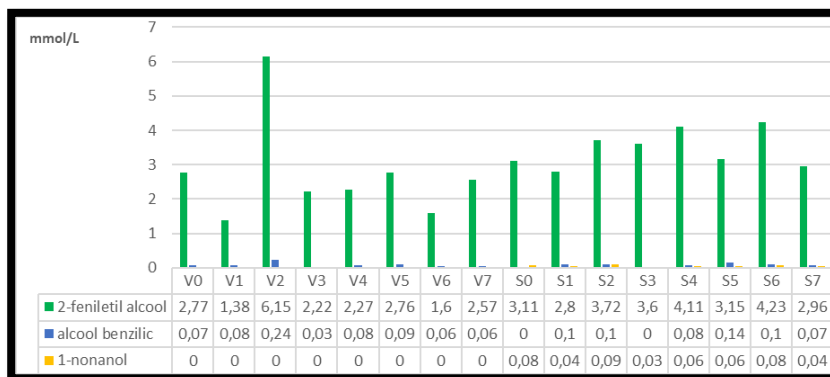


Figura nr.4.20 Conținutul în 2-feniletanol, alcool benzilic, 1-nonanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânt din Centrul Viticol Averești (BBV–A)

Figure no.4.20 The content in phenylethyl alcohol, benzyl alcohol and 1-nonanol from Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV–A)

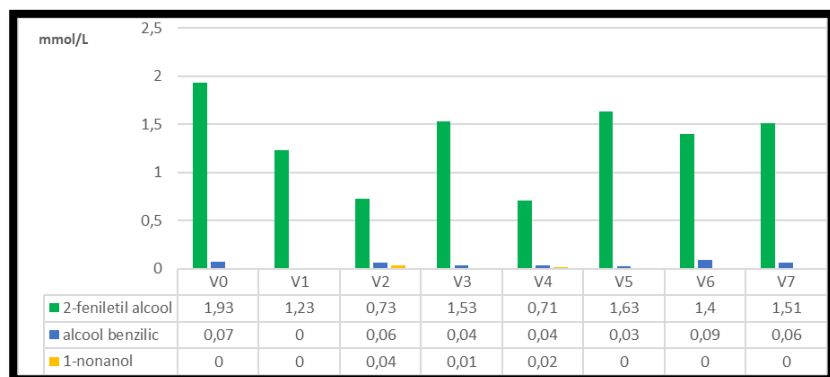


Figura nr.4.21 Conținutul în 2-feniletanol, alcool benzilic, 1-nonanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânt din Centrul Viticol Huși (BBV–H)

Figure no.4.21 The content in phenylethyl alcohol, benzyl alcohol and 1-nonanol from Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV–H)

În vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au mai identificat și alți alcooli superiori, cu o masă moleculară mare și implicit cu un număr mai mare de atomi de carboni (C7–C16), acești compuși exprimând în general note odorante ceroase, grase, verzi *etc.* iar contribuția acestora la profilul aromatic este în general minimă, ei aflându-se în concentrații foarte scăzute, participând însă sub formă de esteri. Astfel, din această categorie s-a detectat 1-heptanolul (0,03÷0,53 mmol/L) ce prezintă un miros verde – cu nuanțe vegetale și fructate de mere și banane; 1-octanolul (0,01÷0,15 mmol/L) – miros ceros, verde, citric, aldehydic și floral cu nuanțe de nucă de cocos; 1-octen-3-olul (0,01-0,09 mmol/L) cu miros pământiu, de ciuperci, verde; 2-etil-hexanolul (0,03÷0,43 mmol/L) – miros de citrice; 1-decanolul (0,01÷0,07 mmol/L), 1-tetradecanolul (0,01÷0,14 mmol/L) și 1-hexadecanolul (0,03÷1,56 mmol/L) ce prezintă un miros gras, ceros.

Tabelul nr.4.37/Table no.4.37

Conținutul în Alcoolii superiori (C7–C16) din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H)

The content in Higher alcohols (C7–C16) of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR–H)

Alcoolii C7-C16 (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
2014								
1-heptanol	0,12	0,17	0,14	0,14	0,11	nd	0,11	0,04
1-octanol	0,04	0,03	0,04	0,04	0,05	0,03	0,03	0,03
1-octen-3-ol	0,01	0,04	nd	0,04	nd	nd	0,01	nd
2-etilhexanol	0,06	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,05
1-decanol	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02
1-tetradecanol	0,03	nd	nd	0,05	nd	0,01	0,09	0,06
2015								
1-heptanol	0,37	0,44	0,42	0,30	0,44	0,40	0,53	0,08
1-octanol	0,08	0,10	0,09	0,07	0,12	0,10	0,15	0,08
1-octen-3-ol	nd	0,05	nd	0,05	0,07	0,06	0,09	nd
2-etilhexanol	0,03	0,05	0,03	0,05	nd	0,03	nd	0,09
1-decanol	0,04	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,07	nd
1-tetradecanol	nd	nd	0,11	0,13	nd	0,04	nd	0,14
1-hexadecanol	nd	0,77	0,58	0,94	0,91	0,88	1,56	0,90

Tabelul nr.4.38/Table no.4.38

Conținutul în Alcoolii superiori (C7–C16) din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV–A)

The content in Higher alcohols (C7–C16) of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV–A)

Alcoolii C7–16 (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
2014								
1-heptanol	0,05	0,07	0,18	0,15	0,10	0,04	0,00	0,03
1-octanol	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01
1-octen-3-ol	0,01	0,02	0,01	nd	nd	0,01	0,02	0,01
2-etilhexanol	0,04	0,06	0,06	0,04	0,03	0,05	0,05	0,05
1-decanol	0,01	nd	nd	0,01	0,01	nd	nd	0,01
1-tetradecanol	0,07	0,08	0,05	0,16	0,06	0,10	0,02	0,06
2015								
1-heptanol	0,31	0,30	0,29	0,23	0,24	0,15	0,31	0,05
1-octanol	0,08	0,07	0,06	0,06	0,08	0,07	0,08	0,13
1-octen-3-ol	0,02	nd	nd	nd	0,02	nd	nd	nd
2-etilhexanol	0,12	0,06	0,08	0,03	0,03	0,03	0,13	0,43
1-decanol	nd	nd	nd	0,02	0,03	0,04	0,07	nd
1-hexadecanol	1,05	0,45	0,96	1,15	1,50	1,51	1,09	1,07

Tabelul nr.4.39/Table no.4.39

Conținutul în Alcoolii superiori (C7–C16) din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV–H)

The content in Higher alcohols (C7–C16) of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV–H)

Alcoolii secundari (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
1-heptanol	0,11	0,26	0,30	0,28	0,20	0,09	0,15	0,05
1-octanol	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03
1-octen-3-ol	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,04	0,01
2-etilhexanol	0,14	0,18	0,12	0,15	0,10	0,17	0,11	0,17
1-decanol	nd	nd	nd	0,02	0,01	nd	nd	0,02
1-tetradecanol	0,07	0,06	0,06	0,06	0,03	0,03	0,06	nd
1-hexadecanol	0,53	0,18	nd	nd	0,07	nd	nd	0,06

Analizând în general conținutul în alcoolii superiori al vinurile de Busuioacă de Bohotin, s-a observat prezența unor concentrații destul de ridicate în acești compuși. Alcoolii superiori se formează în urma decarboxilării și reducerii ulterioare a α -cetoacizilor, ei fiind produși intermediari de biosinteză și catabolizare a aminoacizilor (calea Ehrlich) sau se mai pot obține din produși intermediari formați la metabolizarea glucidelor (acizi cetonici).

Formarea alcoolilor superiori în timpul fermentației este influențată de o diversitate de factori precum speciile și tulpinile de levuri, conținutul inițial în zaharuri, temperatura de fermentație, pH-ul și compoziția mustului, azotul asimilabil, aerarea, proporția părților solide, soi și durata macerării. Conținutul în azot asimilabil al mustului are o mare influență asupra formării alcoolilor superiori în timpul fermentației (concentrații ridicate în azot asimilabil conduc la obținerea unor cantități mai ridicate de alcooli superiori). De asemenea, turbiditatea ridicată a mustului conduce la o producție mai mare în alcooli superiori, fiind legată de producția de biomasă [111].

Astfel, conținutul ridicat în alcooli superiori al vinurilor de Busuioacă de Bohotin s-ar putea datora conținutului în general ridicat în zaharuri al mustului (de peste 200 de grame/L), duratei mari de macerare peliculară (7 zile) și unei aerări corespunzătoare (scufundarea căciunii boștinei de 3 ori pe zi), factori ce au condus la o extracție mai bună din părțile solide ale strugurelui a azotului asimilabil, determinând o creștere și multiplicare eficientă a levurilor și o cinetică bună a fermentației.

4.5.2.2. CONȚINUTUL ÎN ESTERI DIN VINURILE DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN

Esterii reprezintă clasa chimică cea mai diversă de compuși volatili din vinuri, această diversitate fiind determinată în primul rând de numărul mare de alcooli și de acizi și posibilitatea unor combinații variate dintre acești compuși. Rapp ș.a., 1988 [191] a enumerat peste 300 de esteri și lactone detectate în struguri, must și vin. Esterii sunt responsabili în mare de aromele fructate asociate cu vinul, mai ales în cazul vinurilor tinere [192]. Deși o parte semnificativă a acestora sunt hidrolizate în timpul învechirii, majoritatea esterilor derivați din fermentație sunt încă prezenți în vinurile vechi de 1–2 ani, în concentrații mai mari de limita de percepție [193], sugerând astfel implicarea acestor compuși și în caracteristicile senzoriale a vinurilor învechite. Existența sinergiei organoleptice dintre diferiții esteri determină caracteristicile senzoriale de ansamblu a acestei clase de compuși.

În vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au identificat peste 60 de esteri, iar dintre aceștia au predominat esterii etilici și metilici ai acizilor grași, identificându-se și prezența într-o proporție mult mai mică a esterilor acetati și lactonelor.

Caprilatul de etil este un ester ce se formează în urma reacției dintre acidul octanoic și etanol, iar prezența acestuia în vinuri imprimă caracteristici odorante grase, de ceară cu note fructate, dulci, de caise, banane, pere și ananas. Acest ester a fost decelat în probele experimentale în concentrații destul de ridicate cuprinse între 0,07 mmol/L (BBR–H–V7) și 7,54 mmol/L (BBR–H–S7) în vinurile obținute din biotipul roz și între 0,05 (BBV–A–V7) și 10,76 mmol/L (BBV–A–S4) pentru cele obținute din biotipul vânat.

Capratul de etil (decanoatul de etil) prezintă note odorante uleioase, florale și fructate, acesta regăsindu-se în concentrații ridicate ce au variat între 0,07 (BBR–H–V7) și 4,50 mmol/L (BBR–H–S7) în vinurile obținute din biotipul roz și între 0,02 (BBV–H–V1) și 4,43 mmol/L (BBV–A–S6) în cazul biotipului vânat.

Caproatul de etil (hexanoatul de etil) este un ester ce prezintă caracteristici odorante fructate de ananas, banane, mure, căpșuni și a fost identificat în concentrații mai mici de $0,02 \div 0,07$ mmol/L (biotipului roz) și $0,01 \div 0,09$ mmol/L (biotipul vânăt).

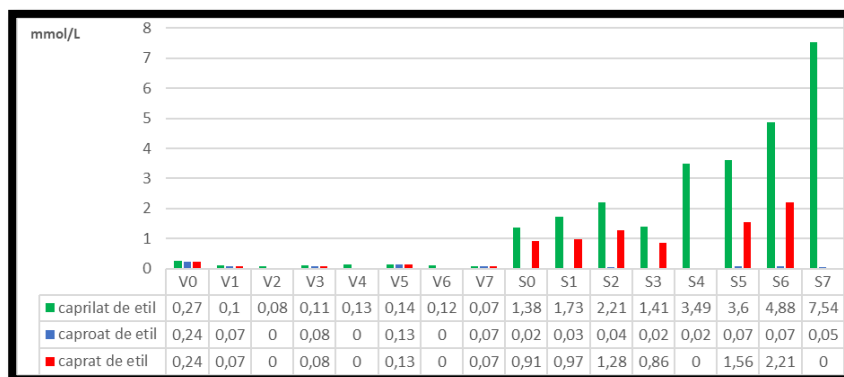


Figura nr.4.22 Conținutul în Caprilat de etil, Caproat de etil și Caprat de etil din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H)

Figure no.4.22 The content in Ethyl Caprylate, Ethyl Caproate and Ethyl Caprat from Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR-H)

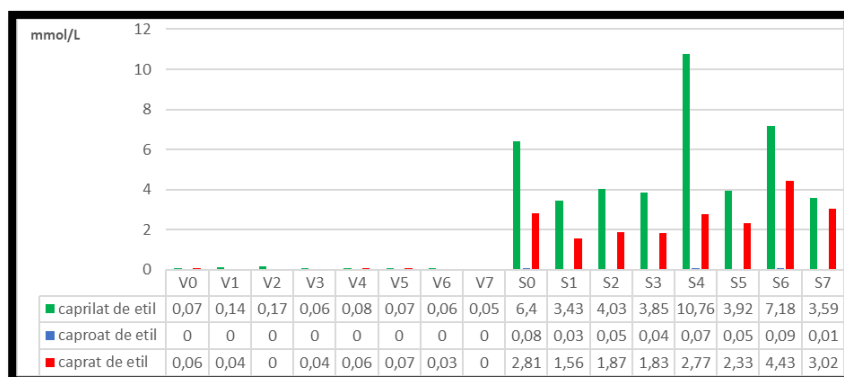


Figura nr.4.23 Conținutul în Caprilat de etil, Caproat de etil și Caprat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăt din Centrul Viticol Averești (BBV-A)

Figure no.4.23 The content in Ethyl Caprylate, Ethyl Caproate and Ethyl Caprat from Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV-A)

Lactatul de etil prezintă caracteristici odorante de unt, cremă cu accente fructate de căpșuni, zmeură iar acest ester apare de obicei în cantități relativ mari, mai ales după învechire atunci când acidul lactic a fost format în timpul fermentației malolactice și/sau din cauza apariției bacteriilor lactice. Prezența acestui ester a fost decelată în probele experimentale în concentrații ce au variat între $0,73$ (BBR-H-S5) și $4,54$ mmol/L (BBR-H-S6) pentru cele obținute din biotipul roz și între $0,23$ (BBV-A-V5) și $9,84$ mmol/L (BBV-A-V7) în cazul biotipului vânăt. Astfel, se observă că lactatul de etil a prezentat concentrațiile cele mai ridicate în probe obținute prin macerație carbonică (V7) și cele la care s-a aplicat criomacerarea și microundele (V6).

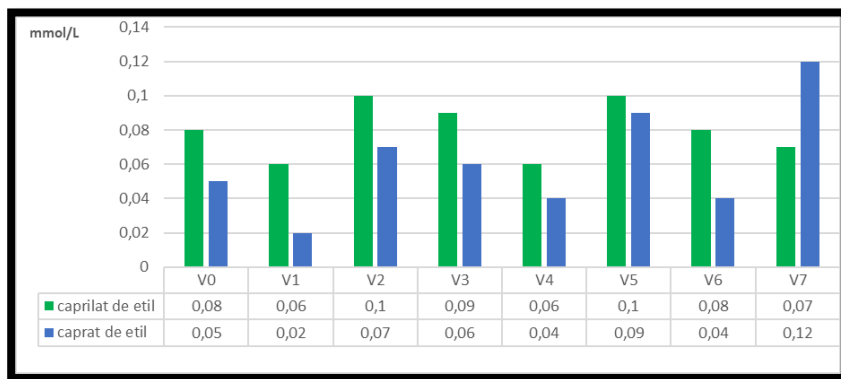


Figura nr.4.24 Conținutul în Caprilat de etil și Caprat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Centrul Viticol Huși (BBV-H)

Figure no.4.24 The content in Ethyl Caprylate and Ethyl Caprat from Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV-H)

Această constatare nu este surprinzătoare din moment ce în urma analizei HPLC a acizilor organici s-au evidențiat probele obținute prin macerație carbonică (BBV-A-V7-2014), cu conținutul cel mai ridicat în acid lactic de 6,01 g/L, în timp ce vinurile obținute prin criomacerare+microunde (BBR-H-V6-2015) au prezentat un conținut de 0,79 g/L acid lactic. Prin urmare, toate aceste constatări confirmă desfășurarea unei fermentații malolactice în cazul probelor obținute prin macerație carbonică și într-o măsură mai mică pentru cele obținute prin criomacerare și microunde, conducând în final la un conținut mai ridicat în acid lactic și implicit în esterul etilic al acestuia, lactatul de etil. De asemenea, s-a mai observat că vinurile obținute prin criomacerare (V5) au prezentat concentrații scăzute în acest ester.

Succinatul de dietil este un ester ce prezintă note odorante fructate și, similar cu lactatul de etil, concentrația acestuia crește semnificativ după învechirea vinului, regăsindu-se în procente ridicate în aroma distilatului de vin [237]. În vinurile de Busuioacă de Bohotin acest ester s-a identificat în concentrații destul de mici cuprinse între 0,08 (BBR-H-S0) și 0,46 mmol/L (BBR-H-V7) pentru biotipul roz și între 0,04 (BBV-A-S7) și 0,65 mmol/L (BBV-A-V2) în cazul biotipului vânător.

Benzoatul de etil este un ester ce prezintă caracteristici odorante florale și fructate (vișine, strugure), iar prezența acestuia a fost decelată în concentrații de 0,13 (BBR-H-V7) și 0,21 mmol/L (BBR-H-S1) în vinurile obținute din biotipul roz și între 0,12 (BBV-H-V0;V3) și 0,28 mmol/L (BBV-A-S5) în cazul biotipului vânător.

Lauratul de etil se formează în urma reacției dintre etanol și acidul dodecanoic și prezintă note odorante uleioase, fructate și florale. Acest ester s-a regăsit în general în concentrații ridicate ce au oscilat între 0,04 (BBR-H-V7) și 5,40 mmol/L (BBR-H-S7) în vinurile obținute din biotipul roz și între 0,01 (BBV-H-V1) și 7,23 mmol/L (BBV-A-S7) pentru cele obținute din biotipul vânător.

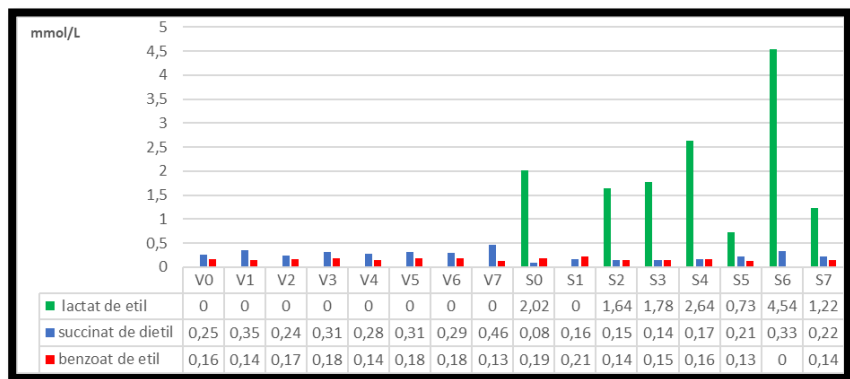


Figura nr.4.25 Conținutul în Lactat de etil, Succinat de dietil și Benzoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H)

Figure no.4.25 The content in Ethyl Lactate, Diethyl Succinate and Ethyl Benzoate of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR-H)

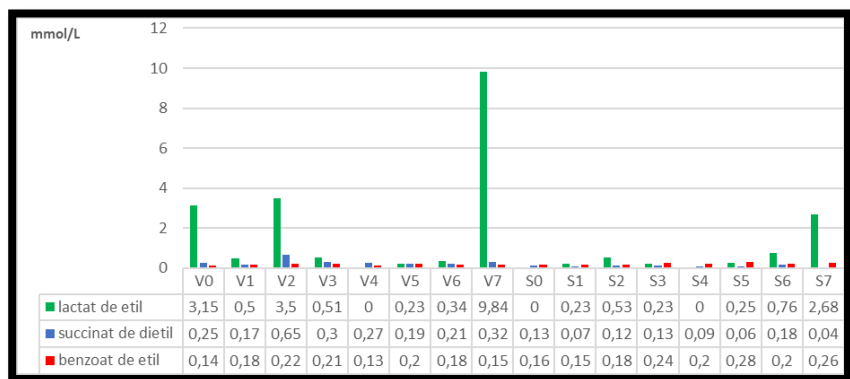


Figura nr.4.26 Conținutul în Lactat de etil, Succinat de dietil și Benzoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești (BBV-A)

Figure no.4.26 The content in Ethyl Lactate, Diethyl Succinate and Ethyl Benzoate of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV-A)

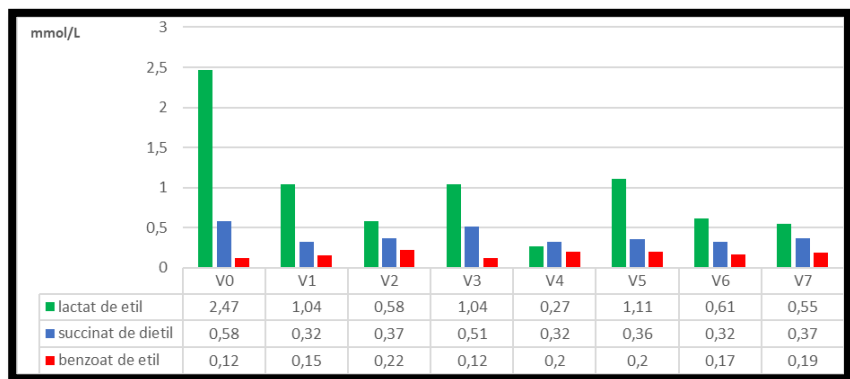


Figura nr.4.27 Conținutul în Lactat de etil, Succinat de dietil și Benzoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși (BBV-H)

Figure no.4.27 The content in Ethyl Lactate, Diethyl Succinate and Ethyl Benzoate of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV-H)

Miristatul de etil este un alt ester ce prezintă caracteristici odorante uleioase, de ceară și florale ce se formează din acidul gras tetradecanoic și etanol, iar prezența acestuia a fost detectată în concentrații ceva mai scăzute de 0,09 (BBR–H–V1) și 1,90 mmol/L (BBR–H–S7) în vinurile rezultate din biotipul roz și între 0,09 (BBV–H–V4) și 2,75 mmol/L (BBV–A–S6) în cazul biotipului vânat.

Pentadecanoatul de etil prezintă note odorante dulci, de miere de albine, iar concentrația acestui în vinurile de Busuioacă de Bohotin a înregistrat valori ce au oscilat între 0,07 mmol/L (BBR–H–V1) și 0,67 mmol/L (BBR–H–V4) pentru cele obținute din biotipul roz și între 0,05 mmol/L și 0,85 mmol/L (BBV–A–S4) în cazul biotipului vânat, fiind prezent în cantități mai ridicate în probele obținute prin macerare cu ultrasunete(V4S4).

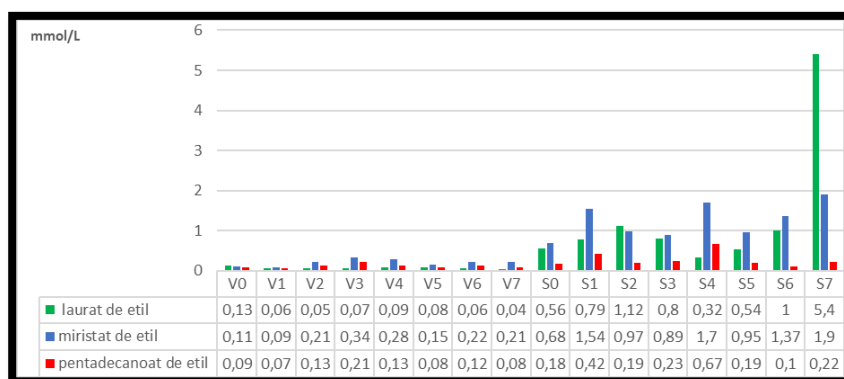


Figura nr.4.28 Conținutul în Laurat de etil, Miristat de etil și Pentadecanoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H)

Figure no.4.28 The content in Ethyl Laurate, Ethyl Myristate and Ethyl Pentadecanoate of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink biotype of Huși Viticulture Centre (BBR–H)

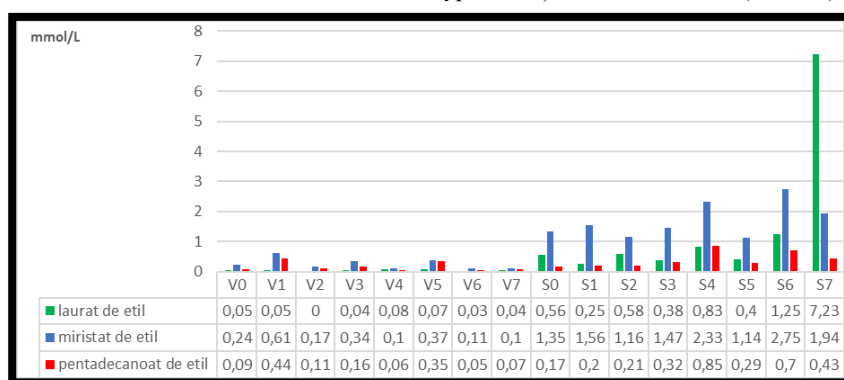


Figura nr.4.29 Conținutul în Laurat de etil, Miristat de etil și Pentadecanoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul ViticolAverești (BBV–A)

Figure no.4.29 The content in Ethyl Laurate, Ethyl Myristate and Ethyl Pentadecanoate of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV–A)

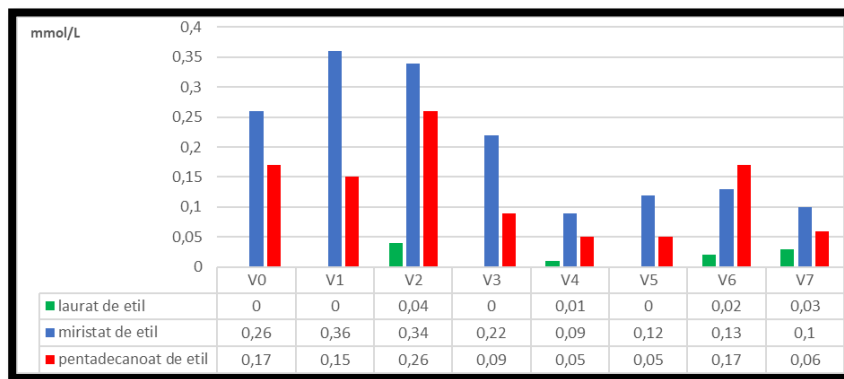


Figura nr.4.30 Conținutul în Laurat de etil, Miristat de etil și Pentadecanoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV-H)

Figure no.4.30 The content in Ethyl Laurate, Ethyl Myristate and Ethyl Pentadecanoate of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV-H)

9-hexadecenoatul de etil (palmitoleatul de etil) reprezintă un alt ester cu caracteristici odorante de ceară ce s-a detectat în concentrații mai ridicate în probele elaborate prin macerație carbonică, valorile înregistrate ale acestui ester oscilând între 0,13 (BBR-H-V0) și 2,59 mmol/L (BBR-H-S7) în vinurile obținute din biotipul roz și între 0,03 (BBV-H-V3) și 3,98 mmol/L (BBV-A-S7) pentru biotipul vânat.

Palmitatul de etil (hexadecanoatul de etil) prezintă un miros specific de ceară cu note fructate, cremoase, balsamice, iar acest compus a fost identificat în vinurile de Busuioacă de Bohotin în concentrații foarte ridicate, cuprinse între 0,42 (BBR-H-V5) și 4,78 mmol/L (BBR-H-S7) pentru cele rezultate din biotipul roz și între 0,20 (BBV-A-V6) și 3,46 mmol/L (BBV-A-S6) în cazul biotipul vânat.

Stearatul de etil (octadecanoatul de etil) este un ester ce se găsește în cantități ridicate în coriandru, prezentând note odorante ceroase, iar prezența acestuia a fost detectată în cantități mai ridicate în probele elaborate prin macerare cu microunde, concentrațiile sale fiind cuprinse între 0,03 (BBR-H-V0;V7) și 0,58 mmol/L (BBR-H-V3) în vinurile elaborate din biotipul roz și între 0,01 (BBV-H-V0) și 0,23 mmol/L (BBV-A-V3) pentru cele rezultate din biotipul vânat.

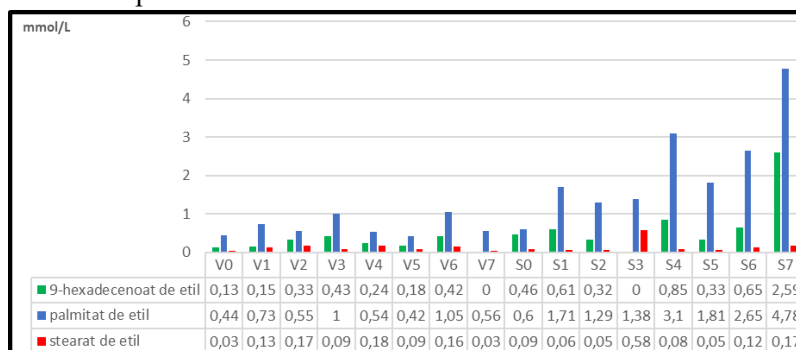


Figura nr.4.31 Conținutul în 9-hexadecenoat de etil, palmitat de etil și stearat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H)

Figure no.4.31 The content in ethyl 9-hexadecenoate, ethyl palmitate, ethyl stearate of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR-H)

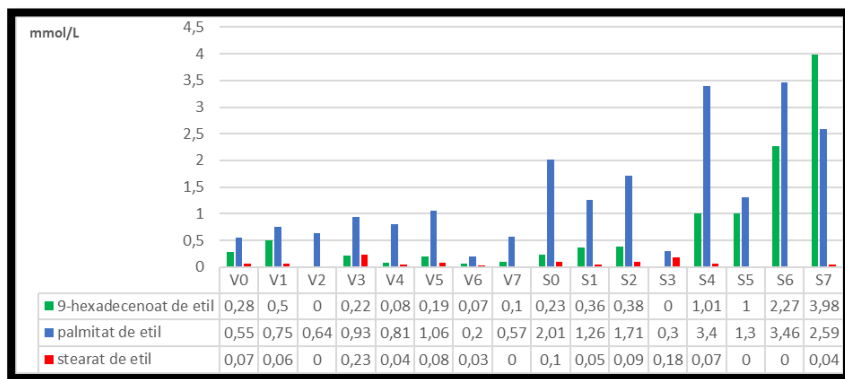


Figura nr.4.32 Conținutul în 9-hexadecenoat de etil, palmitat de etil și stearat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Centrul Viticol Averești (BBV-A)

Figure no.4.32 The content in ethyl 9-hexadecenoate, ethyl palmitate, ethyl stearate of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV-A)

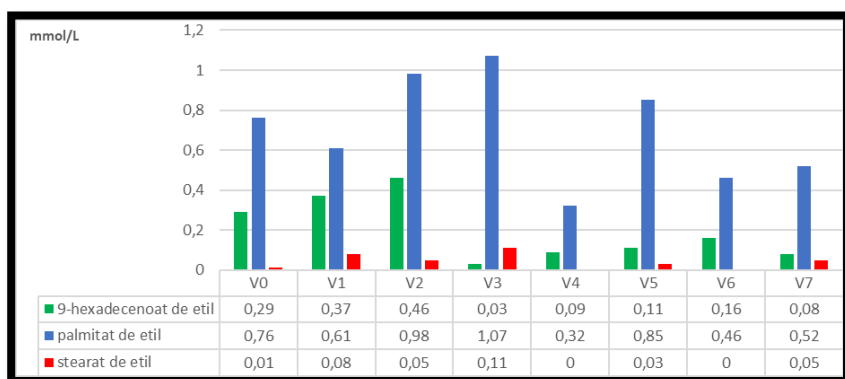


Figura nr.4.33 Conținutul în 9-hexadecenoat de etil, palmitat de etil și stearat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Centrul Viticol Huși (BBV-H)

Figure no.4.33 The content in ethyl 9-hexadecenoate, ethyl palmitate, ethyl stearate of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV-H)

4.5.2.2.1. Conținutul în lactone din vinurile de Busuioacă de Bohotin

O subcategorie specială a esterilor este reprezentată de lactone. Acești compuși se formează prin esterificarea intramoleculară dintre grupările carboxil și hidroxil ale hidroxiacizilor cu formarea de esteri ciclici. Lactonele pot proveni din strugure, sintetizate în timpul fermentației și învechirii sau pot fi extrase din lemnul butoaielor. Majoritatea lactonelor provin din fermentația alcoolică, deși unele pot fi sintetizate și în strugurii supuși macerației carbonice [54].

În vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au detectat o gamă destul de variată de lactone dar care s-au regăsit în general în concentrații scăzute și în foarte puține probe. Dintre acești compuși putem menționa: γ -butirolactona, γ -nonalactona, γ -decalactona, γ -undecalactona, γ -dodecalactona.

Tabelul nr.4.40/Table no.4.40

Conținutul în lactone a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H)

Lactones content of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR–H)

Lactone (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
2014								
γ-butirolactona	0,02	0,02	0,01	0,02	0,03	0,01	nd	0,03
γ-nonolactona	nd	0,03	nd	nd	nd	nd	nd	nd
γ-dodecalactona	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,03	nd
2015								
γ-butirolactona	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,01	0,02	0,02
γ-nonolactona	0,06	0,14	0,09	0,11	nd	0,10	0,14	nd

Tabelul nr.4.41/Table no.4.41

Conținutul în lactone a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Centrul Viticol Averești (BBV–A)

Lactones content of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV–A)

Lactone (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
2014								
γ-butirolactona	0,03	0,03	nd	0,02	0,00	0,02	0,01	0,02
γ-decalactona	0,01	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
γ-dodecalactona	nd	nd	nd	nd	0,03	nd	nd	nd
2015								
γ-butirolactona	0,01	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,02
γ-decalactona	0,06	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Tabelul nr.4.42/Table no.4.42

Conținutul în lactone a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Centrul Viticol Huși (BBV–H)

Lactones content of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV–H)

Lactone (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
γ-butirolactona	0,03	0,02	0,02	nd	0,01	0,01	nd	0,03
γ-nonolactona	nd	nd	0,04	0,06	nd	0,04	nd	nd
γ-dodecalactona	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,09	nd
γ-undecalactona	0,04	nd	nd	nd	nd	nd	0,03	nd

γ-butirolactona se caracterizează prin note odorante cremoase, uleioase, grase și de caramel și a prezentat preponderența cea mai mare din această clasă de compuși, acesta identificându-se în majoritatea probele de vin obținute, în concentrații cuprinse între 0,01÷0,03 mmol/L.

γ -nonalactona prezintă un miros de nucă de cocos, cremă, dulce, lapte și cumarină și a fost identificată în concentrații de 0,03 mmol/L (BBR-H-V1-2014) și 0,14 mmol/L (BBR-H-V6-2015) în vinurile obținute din biotipul roz, iar cele obținute din biotipul vânat au înregistrat concentrații de 0,04 mmol/L (BBV-H-V2;V5-2014) și 0,06 mmol/L (BBV-H-V3-2014).

γ -decalactona este o lactonă ce prezintă caracteristici odorante fructate cu nuanțe proaspete, uleioase, ceroase, piersică, nucă de cocos și unt și a fost decelată în două probe martor (V0) în concentrații de 0,01 mmol/L (BBV-A-V0-2014) și 0,06 mmol/L (BBV-A-V0-2015).

γ -undecalactona exprimă caracteristici odorante fructate cu nuanțe de piersici, cremoase, grase, lactonice, cetone, caise, și nucă de cocos și a fost identificată în două probe de vin în concentrație de 0,03 (BBV-H-V6-2014) și 0,04 mmol/L (BBV-H-V0-2014).

γ -dodecalactona prezintă de asemenea un miros fructat cu nuanțe grase, de piersică, dulci iar prezența acestora a fost detectată în 3 probe de vin în concentrație de 0,03 mmol/L (BBR-H-V6-2014) în cazul biotipului roz iar biotipul vânat a înregistrat concentrații de 0,03 (BBV-A-V4-2014) și 0,06 mmol/L (BBV-H-V6-2014).

În ceea ce privește influența tehnicilor de macerare asupra conținutului în lactone, s-a observat prezența unui număr mai mare de lactone și în concentrații ceva mai ridicate în probele de vinuri obținute prin criomacerare+microunde (V6).

Analizând în ansamblu conținutul în esteri al vinurilor de Busuioacă de Bohotin, acesta s-a evidențiat prin prezența unui număr mare de compuși, cu o diversitate mare chimică. Dintre acești compuși s-a constatat preponderența esterilor etilici a acizilor grași ce exprimă în general note odorante grase, fructate și într-o proporție mai mică a acetaților (note odorante fructate) și lactonelor (note odorante cremoase, de lapte și fructate).

4.5.2.3. CONȚINUTUL ÎN ACIZI ORGANICI DIN VINURILE DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN

Majoritatea acizilor identificați în vinurile de Busuioacă de Bohotin (fig.4.34–4.36) fac parte din categoria acizilor grași precum acidul izovalerianic, acidul caproic (hexanoic), acidul caprilic (octanoic), acidul capric (decanoic), acidul miristic (tetradecanoic) și un acid carboxilic simplu (acidul acetic)

Acidul izovalerianic reprezintă izomerul acidului valerianic și este un acid gras ce prezintă un miros asemănător valerianei, iar acesta a fost identificat în vinurile de Busuioacă de Bohotin în concentrații cuprinse între 0,02 mmol/L (BBR-H-S0) și 0,36 mmol/L (BBV-A-V2).

Acidul caproic reprezintă un precursor de bază în formarea alcoolilor superiori C6 (hexanolii) și a esterilor acestora, prezentând un miros gras cu nuanțe de acru, brânză, transpirație, iar prezența acestuia a fost identificată în concentrații aflate în intervalul 0,08 mmol/L (BBV-A-V7) și 0,51 mmol/L (BBV-A-V2).

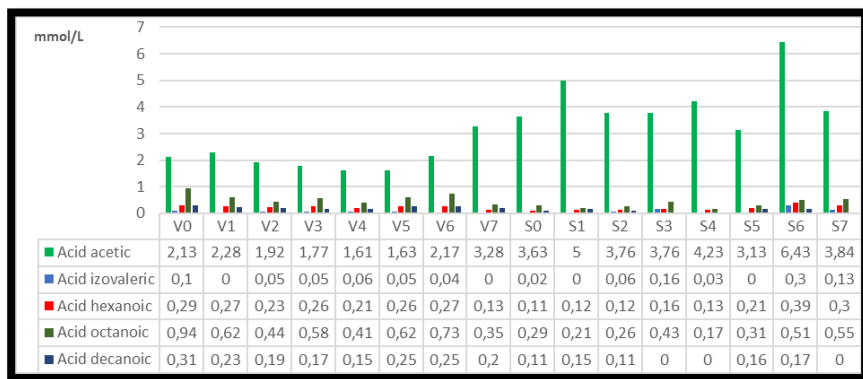


Figura nr.4.34 Conținutul în acizi din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H)

Figure no.4.34 The content in acids of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși Viticulture Centre (BBR-H)

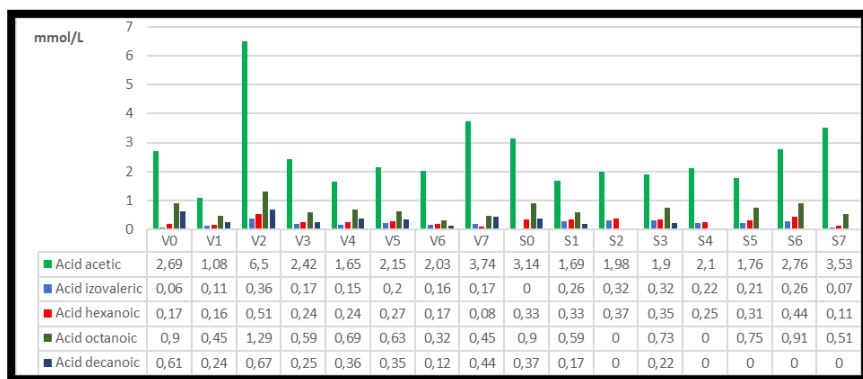


Figura nr.4.35 Conținutul în acizi din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești (BBV-A)

Figure no.4.35 The content in acids of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Averești Viticulture Centre (BBV-A)

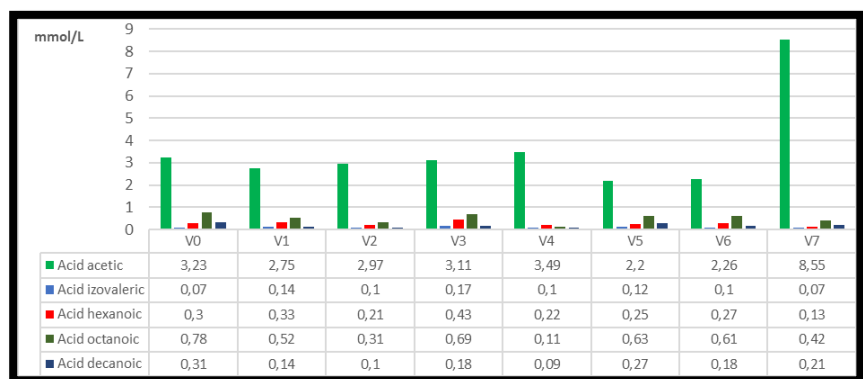


Figura nr.4.36 Conținutul în acizi din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși (BBV-H)

Figure no.4.36 The content in acids of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV-H)

Acidul caprilic este un alt acid gras ce prezintă un miros gras cu nuanțe de ceară, rânced, ulei, legume, brânză și a înregistrat din punct de vedere cantitativ valorile cele mai ridicate, aflându-se în concentrații cuprinse între 0,11 mmol/L (BBV-H-V4) și 1,29 mmol/L (BBV-A-V2).

Acidul capric prezintă caracteristici odorante grase cu nuanțe de rânced, acru, citric și a înregistrat o concentrație de 0,09 (BBV-H-V4) ÷ 0,67 mmol/L (BBV-A-V2).

Acidul miristic este un acid gras saturat cu 14 atomi de carbon ce prezintă un miros de ceară cu nuanțe grase, de săpun și nucă de cocos, iar conținutul acestuia în vinurile elaborate este cuprins între 0,04 mmol/L (BBV-A-V3) și 0,43 mmol/L (BBV-A-S6).

S-a observat prezența în concentrații mai ridicate a acizilor grași în general în probele de vinuri care s-au obținut prin tehnici de macerare ce au presupus aplicarea temperaturilor înalte precum termomacerarea (V2), criomacerarea+microundele (V6). Obținerea acestor rezultate s-ar putea datora influenței temperaturii asupra randamentului de extracție a acizilor grași proveniți din semințe și pielice.

Acidul acetic este principalul acid organic cu importanță senzorială olfactivă semnificativă vinului, acesta prezentând un miros acid cu nuanțe acre, înțepătoare de oțet. Conținutul acestuia în vinurile elaborate au prezentat valori cuprinse între 1,61 mmol/L (BBR-H-V4) și 6,43 mmol/L (BBR-H-S6) în cazul celor obținute din biotipul roz și între 1,08 (BBV-A-V1) și 8,55 mmol/L (BBV-H-V7) pentru biotipul vânat. Examinând conținutul în acid acetic în vinurile obținute, s-a observat prezența acestui compus în concentrații mai ridicate în general în probele la care s-a aplicat macerația carbonică (V7) și criomacerarea+microunde (V6). Este cunoscut faptul că acidul acetic poate fi produs de *Saccharomyces cerevisiae* în timpul fermentației alcoolice, concentrația acestuia ajungând de obicei până în 300 mg/L, mult mai mică față de cele determinate de microorganismele de degradare (ex: *Acetobacter*), reprezentând sursa predominantă a acestui compus în vin. Prezența acestui compus în concentrații mai ridicate în aceste probe nu este surprinzătoare din moment ce în urma analizei acidității volatile (metoda titrimetrică) și a acizilor organici (HPLC), s-au obținut valori mai ridicate. Astfel, concentrațiile mai mari de acid acetic în aceste probe sunt datorate în primul rând favorizării dezvoltării bacteriilor acetice specifice de către tehnicile de macerare aplicate.

Impactul caracteristicilor odorante ale acestor acizi asupra profilului aromatic al unui vin sunt în general minime pentru majoritatea dintre acești compuși datorită solubilității în general crescute față de apă, implicit a unei volatilități destul de scăzute. Acizii grași aflați în concentrații aproape de pragul de percepție senzorială a acestora contribuie pozitiv la complexitatea aromatică a vinurilor în timp ce concentrațiile ridicate în acești compuși pot avea un efect negativ.

4.5.2.4. CONȚINUTUL ÎN ALDEHIDE DIN VINURILE DE BUSUIOCĂ DE BOHOTIN

Aldehidele cu importanță senzorială se formează prin degradarea oxidativ-enzimatică a acizilor grași (linoleic, linolenic) din struguri în etapele prefermentative de zdrobire sau macerare și este continuată în timpul fermentației alcoolice (acetaldehida), maturării și învechirii. Majoritatea aldehydelor sunt foarte reactive (mai ales cele cu catenă

scurtă), făcând destul de dificilă detectarea și cuantificarea lor, iar prezența acestora în vin este de obicei sub formă de urme. Din punct de vedere senzorial, acești compuși prezintă caracteristici odorante și de aromă destul de puternice însă, cu excepția acetaldehidei, acestea nu exercită în general o influență puternică asupra profilului aromatic al vinului.

În vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au detectat un număr restrâns de compuși alchidici, majoritatea acestora prezentând catenă ramificată precum: nonanalul, furfuralul, benzaldehida.

Tabelul nr.4.43/Table no.4.43

Conținutul în alchide a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din
Centrul Viticol Huși (BBR-H)
Aldehydes content of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype of Huși
Viticulture Centre (BBR-H)

Alchide (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
2014								
nonanal	nd	0,01	0,01	0,01	nd	0,01	0,01	0,01
furfural	nd	0,04	0,04	0,03	0,03	nd	0,03	0,04
benzaldehida	0,13	0,20	nd	0,16	nd	0,15	0,03	0,20
2015								
nonanal	0,01	nd	nd	nd	0,01	nd	nd	nd
benzaldehida	0,21	0,09	0,43	nd	0,14	0,06	0,06	nd

Tabelul nr.4.44/Table no.4.44

Conținutul în alchide a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânt
din Centrul Viticol Averești (BBV-A)
Aldehydes content of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype
of Averești Viticulture Centre (BBV-A)

Alchide (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
2014								
nonanal	0,01	0,03	nd	0,01	0,01	0,02	nd	0,02
furfural	0,04	0,04	0,10	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04
benzaldehida	nd	0,61	0,24	0,04	nd	0,05	nd	0,05
2015								
nonanal	nd	0,02	nd	0,01	nd	nd	0,02	nd
benzaldehida	0,06	0,25	0,25	0,23	nd	0,06	0,24	nd

Nonanalul este o alchidă ce a fost decelată în majoritatea probelor de vin, acest compus exprimând un miros gras, ceros, de citrice și trandafir, iar conținutul acestuia a oscilat între 0,01÷0,03 mmol/L.

Furfuralul rezultă din degradarea carbohidraților (pentoze) și prezintă caracteristici odorante dulci, lemnoase, caramelice, de pâine, ardei cu o ușoară nuanță fenolică. În vinurile de Busuioacă de Bohotin conținutul în acest compus a înregistrat valori cuprinse între 0,02 mmol/L (BBV-H-V7-2014) și 0,10 mmol/L (BBV-A-V2-2014). Deoarece sinteza furfuralului din zaharuri este accelerată de temperaturile înalte, limita superioară de

0,10 mmol/L atinsă de varianta V2 la care s-a aplicat termomacerarea explică prezența acestuia într-o concentrație mai ridicată. Pe lângă tratamentul termic, acest compus se mai poate acumula și în timp, pe măsură ce vinurile se maturează.

Tabelul nr.4.45/Table no.4.45

Conținutul în aldehide a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânt din Centrul Viticol Huși (BBV-H)
Aldehydes content of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Huși Viticulture Centre (BBV-H)

Aldehyde (mmol/L)	V0	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7
nonanal	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01
furfural	0,09	nd	0,02	nd	0,05	0,05	0,05	0,02
benzaldehida	0,05	0,04	0,03	0,03	0,10	0,05	0,05	0,04

Benzaldehida este un compus ce se caracterizează prin note odorante amare și de migdale și poate fi un potențial defect al vinului, dar caracteristic pentru anumite soiuri precum Gamay. Prezența acesteia a fost decelată și în vinurile de Busuioacă de Bohotin, înregistrând valori cuprinse între 0,03 și 0,61 mmol/L.

4.5.3. VARIAȚIA CONȚINUTULUI ÎN COMPUȘI VOLATILI DIN VINURILE DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN ÎN FUNCȚIE DE TEHNICILE DE MACERARE, BIOTIPUIRILE SOIULUI ȘI ANUL DE PRODUCȚIE

4.5.3.1. Influența tehnicilor de macerare

Dintre factorii notabili care au influențat producția de compuși volatili în vinurile elaborate fac parte variantele de macerare utilizate.

În ceea ce privește conținutul în compuși terpenici din probele de vin elaborate s-a evidențiat în primul rând că, concentrația acestora a fost destul de ridicată pentru majoritatea vinurilor. Din moment ce în piețele strugurilor sunt localizați acești compuși primari de aromă (varietali), iar protocolul experimental a presupus o perioadă mare de contact a piețelor cu sucule celular (cu excepția macerației carbonice), s-a favorizat o extracție mai bună a acestora în vinurile obținute. Astfel, nu este atipic faptul că vinurile obținute prin macerație carbonică (V7) s-au dovedit a avea în general un conținut scăzut în compuși terpenici față de restul variantelor de macerare. Specificitatea acestei tehnici de macerare a condus la evitarea contactului dintre piețe și sucule celular, diminuându-se astfel difuzia compușilor specifici (terpene) în vinul obținut. Dintre tehnicile de macerare ce s-au distins printr-un conținut mai ridicat în compuși terpenici au fost criomacerarea (V5), criomacerarea+microunde (V6), termomacerarea (V2), macerarea clasică (V1) și macerarea cu ultrasunete (V4) (Tarțian ș.a., 2017).

Analizând din prisma concentrației în alcooli superiori, s-au evidențiat în primul rând vinurile obținute prin macerare cu ultrasunete (V4), printr-un conținut global mai ridicat în acești compuși, urmate de probele la care s-au aplicat criomacerarea+microundele (V6) și termomacerarea (V2). Astfel, prin procesele fizice specifice fiecărei tehnici de macerare: cavitație (V4), șoc termic (V6) și temperaturi înalte (V2), s-a favorizat extracția în azot asimilabil și obținerea unor cantități mai ridicate în alcooli superiori de către levuri.

Cantități scăzute în alcooli superiori au înregistrat vinurile obținute prin macerație carbonică (V7), dovedindu-se și de această dată că această tehnică de macerare mai puțin extractivă determină concentrații mai mici și în acești compuși.

În ceea ce privește conținutul în esteri, s-au reliefat vinurile obținute macerație carbonică (V7) și criomacerare+microunde (V6) prin prezența unui număr mai mare de acești compuși și în cantități mai ridicate (în cazul celor comuni), iar cele elaborate prin macerație cu ultrasunete (V4) și macerație clasică (V0;V1) au exprimat în general concentrații mai scăzute.

Nu în ultimul rând, s-a mai observat că din punct de vedere al conținutului în acizii detectați prin gaz cromatografie, vinurile obținute prin aplicarea unor temperaturi mai ridicate (V6; V2; V3) s-au evidențiat printr-o concentrație mai ridicată în acizi grași, iar cele rezultate prin macerație carbonică (V7) au condus în general la concentrații mai înalte în acid acetic.

4.5.3.2. Influența biotipurilor soiului Busuioacă de Bohotin

Un alt obiectiv important urmărit în cadrul acestui experiment a fost și caracterizarea și diferențierea unor variații genetice ale soiului Busuioacă de Bohotin. Astfel, la elaborarea vinurilor s-au utilizat două biotipuri: biotipul roz și biotipul vânat.

Examinând global prin prisma conținutului în compuși volatili al vinurilor de Busuioacă de Bohotin, s-a evidențiat faptul că probele obținute din biotipul vânat au atins concentrații mai ridicate în compuși terpenici, alcooli superiori și esteri față de biotipul roz.

4.5.3.3. Influența anului de producție

Un alt factor important care poate influența compoziția unui vin este anul de producție al vinului, care la rândul lui este afectat de diverse elemente precum condițiile metereologice ale anului, măsurile agrotehnice aplicate viței de vie, starea fitosanitară și gradul de maturitate al strugurilor la recoltare *etc.* Făcând referire la conținutul în compuși volatili din vinurile de Busuioacă de Bohotin, s-au remarcat vinurile obținute în anul 2015 printr-un conținut global mai ridicat în compuși de aromă față de cele elaborate în 2014 (Tarțian ș.a., 2017).

4.6. EVALUAREA SENZORIALĂ A VINURILOR DE BUSUIOCĂ DE BOHOTIN ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Analiza senzorială a vinurilor reprezintă un proces fundamental în evaluarea calității produsului finit pe baza căruia este stabilit gradul de satisfacție și acceptabilitate a consumatorului în funcție de cerințele sau criteriile acestuia. Caracterizarea proprietăților senzoriale ale unui produs alimentar (culoare, miros, gust, aromă) este realizată prin intermediul simțurilor vizual, olfactiv, gustativ și tactil, acestea putând fi influențate de o multitudine de factori (temperatura și compoziția fizico-chimică a produsului, acuitatea și experiența senzorială a degustătorului, preferințele acestuia *etc.*). Astfel, se poate spune că această metodă de analiză aparține dimensiunii (domeniului) subiectivității, iar prin intermediul acesteia se poate stabili și măsura în care un vin îndeplinește trăsăturile specifice unui anumit soi, respectiv tipicitatea acestuia. Evaluând tipicitatea unui vin din perspectivă senzorială se poate determina măsura în care acel produs respectă caracteristicile specifice ale soiului din care este obținut, trăsături care sunt influențate de o serie de elemente precum: aria geografică de producție (terroir-ul), condițiile climatice anuale, tehnologiile de vinificație utilizate *etc.* Mai mult decât atât, examinarea tipicității, specificității unui anumit vin are ca punct central omul și bineînțeles experiența și memoria senzorială individuală legată de acel produs & modul în care este perceput acesta.

Evaluarea senzorială a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute în acest experiment a fost realizată de un grup de 12 degustători, iar în cadrul acestui proces au fost analizați o serie de descriptori olfactivi (verde/vegetal, coriandru, citric, fructe coapte, exotice, uscate, verzi, fân cosit, flori de câmp, condimente, miere, trandafir) și gustativi (acid, dulce, amar, fenolic, onctuos, textura (structura), persistența). Înregistrarea și cuantificarea acestor descriptori senzoriali s-a efectuat cu ajutorul unor fișe de degustare în care fiecare caracteristică senzorială a fost gradată în funcție de intensitatea exprimată a acestora pe o scală de la 0 (slab) la 9 (puternic). Notele obținute în urma degustării fiecărei probe de vin au fost centralizate cu ajutorul aplicației Microsoft Office Excel®, calculându-se prin intermediul acesteia media aritmetică și deviația standard și nu în ultimul rând, s-a efectuat și o reprezentare grafică a rezultatelor obținute.

Analiza senzorială a vinurilor de Busuioacă de Bohotin s-a realizat în primul rând pentru a stabili care dintre probele obținute exprimă cel mai pregnant caracterul specific, tipic al soiului Busuioacă de Bohotin. Astfel, tipicitatea vinurilor de Busuioacă de Bohotin a fost analizată din perspectiva influenței diferitelor variații genetice ale soiului (biotipul roz sau vânat), tehnicilor de macerare utilizate sau terroir-ului (Centrul Viticol Huși sau Averești).

4.6.1. REZULTATELE OBȚINUTE

Astfel, în cazul probelor de vinuri de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz (BBR-H) în anul 2014 (fig.4.37), acestea au exprimat caracteristici olfactive verzi/vegetale cărora li s-au acordat note cuprinse între 2,25 (V6) și 3,10 (V3), caracteristicile odorante de coriandru între 2,25 (V6) și 3 (V1;V5), caracteristicile odorante de citrice au oscilat între 1,50 (V0;V6) și 2,30 (V3), caracteristicile odorante de fructe

coapte ($2,50-V5 \div 3,50-V6$), fructe exotice ($2,40-V5 \div 3,36-V1;V2$), fructe uscate ($2,00-V1;V7 \div 3,63-V6$), fructe verzi ($1,27-V7 \div 2,00-V3;V4;V6$), fân cosit ($2,09-V1;V7 \div 2,80-V5$), flori de câmp ($2,50-V3 \div 3,27-V2$), condimente ($2,17-V0 \div 3,20-V5$), miere ($1,63-V6 \div 2,33-V0$), trandafir ($2,55-V7 \div 3,30-V4$), iar din punct de vedere al caracteristicilor gustative acestea au înregistrat note cuprinse între 3,13 (V6) și 4,80 (V3) pentru senzația gustativă de aciditate, dulce ($1,64-V2 \div 2,55-V7$), amar ($1,64-V7 \div 3,00-V2$), caracterul fenolic ($2,36-V7 \div 3,36-V2$), onctuos ($2,18-V7 \div 3,10-V5$), senzația de structură ($2,82-V7 \div 3,83-V0$) și persistență ($3,45-V7 \div 4,88-V6$).

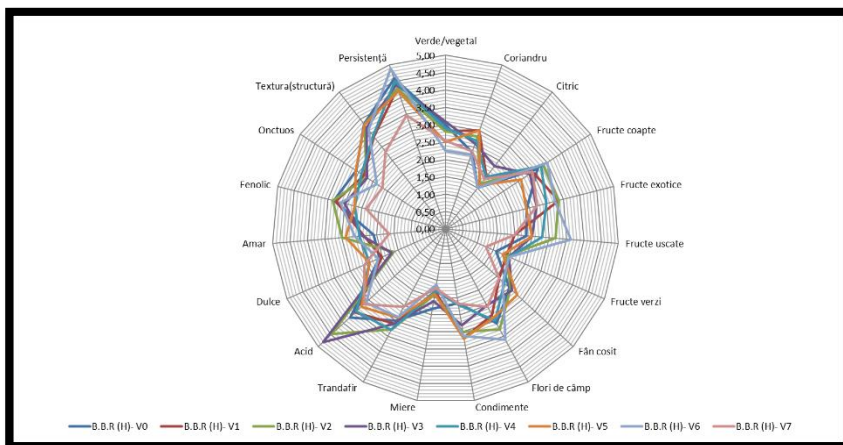


Figura nr.4.37 Reprezentarea grafică a caracteristicile senzoriale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz (BBR-H) în anul 2014

Figure no.4.37 Graphic representation of sensory characteristics of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype in 2014

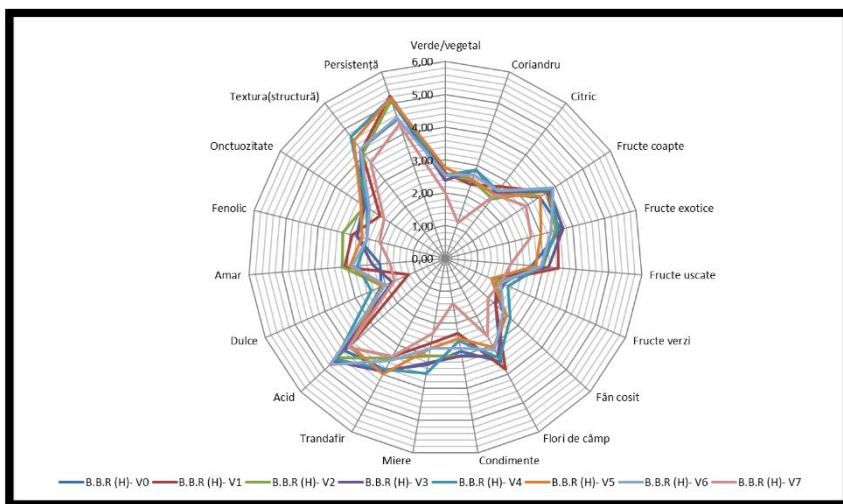


Figura nr.4.38 Reprezentarea grafică caracteristicile senzoriale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz (BBR-H) în anul 2015

Figure no.4.38 Graphic representation of sensory characteristics of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Pink Biotype (BBR-H) in 2015

Vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul roz în anul 2015 (fig.4.38) au exprimat caracteristici olfactive verzi/vegetale cărora li s-au acordat note cuprinse între 2,00 (V7) și 2,77 (V5), caracteristicile odorante de coriandru între 1,15 (V7) și 2,85 (V3;V4), caracteristicile odorante de citrice au oscilat între 2,31 (V2) și 2,77 (V1), caracteristicile odorante de fructe coapte (2,92–V7 ÷ 3,92–V6), fructe exotice (2,69–V7 ÷ 3,69–V3), fructe uscate (2,00–V7 ÷ 3,46–V1), fructe verzi (1,54–V3;V5 ÷ 2,08–V4), fân cosit (1,77–V7 ÷ 2,69–V4), flori de câmp (2,69–V7 ÷ 3,85–V1), condimente (1,38–V7 ÷ 3,00–V2;V3), miere (2,31–V7 ÷ 3,54–V4), trandafir (3,38–V1;V7 ÷ 4,00–V5) iar din punct de vedere al caracteristicilor gustative acestea au înregistrat note cuprinse între 3,92 (V5) și 4,77 (V6) pentru cele de aciditate, dulce (1,23–V1 ÷ 2,46–V4), amar (1,69–V7 ÷ 3,15–V2), caracterul fenolic (2,08–V7 ÷ 3,23–V2), onctuos (2,23–V7 ÷ 3,08–V5), senzația de structură (3,69–V7 ÷ 4,69–V3;V4) și persistență (4,31–V7 ÷ 5,23–V1).

În ceea ce privește vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat, cele provenite din Centrul Viticol Huși (BBV–H) (fig.4.39) au prezentat caracteristici olfactive verzi/vegetale cărora li s-au acordat note cuprinse între 2,27 (V3) și 2,82 (V6), caracteristicile odorante de coriandru între 2,60 (V0) și 3,64 (V4), caracteristicile odorante de citrice au oscilat între 1,30 (V0) și 2,45 (V4), caracteristicile odorante de fructe coapte (2,55–V7 ÷ 4,09–V3), fructe exotice (2,27–V7 ÷ 4,27–V4), fructe uscate (2,50–V0 ÷ 3,64–V3), fructe verzi (1,36–V5 ÷ 1,91–V7), fân cosit (1,80–V0 ÷ 2,91–V4;V6), flori de câmp (3,00–V1 ÷ 4,36–V5), condimente (2,27–V1 ÷ 3,45–V4;V5), miere (1,82–V7 ÷ 3,45–V5), trandafir (2,73–V7 ÷ 5,00–V5) iar din punct de vedere al caracteristicilor gustative acestea au înregistrat note cuprinse între 3,45 (V5) și 4,27 (V1) pentru cele de aciditate, dulce (1,82–V1 ÷ 2,55–V5), amar (1,91–V6 ÷ 3,50–V2), caracterul fenolic (2,55–V4 ÷ 3,30–V2), onctuos (2,82–V1 ÷ 3,64–V4), senzația de structură (3,64–V1;V7 ÷ 4,45–V5) și persistență (4,20–V2 ÷ 5,73–V5).

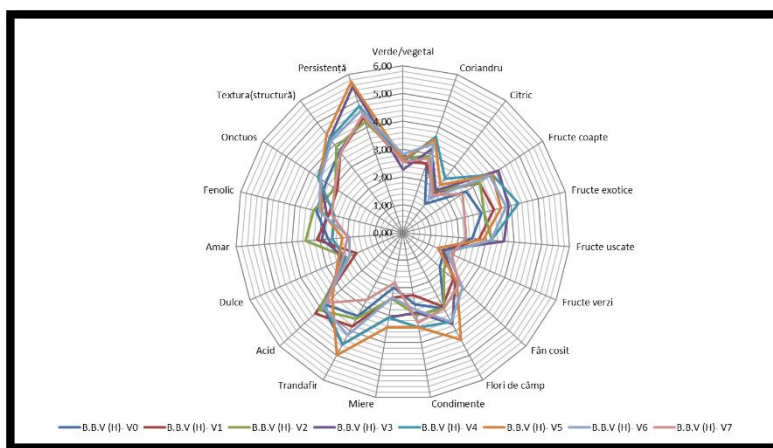


Figura nr.4.39 Reprezentarea grafică a caracteristicile senzoriale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Huși (BBV–H) în anul 2014

Figure no.4.39 Graphic representation of sensory characteristics of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Huși in 2014

Probele de vinuri obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești din anul 2014 (BBV–A–2014) (fig.4.40) au exprimat caracteristici olfactive verzi/vegetale

căroră li s-au acordat note cuprinse între 2,10 (V4) și 3,20 (V2;V6), caracteristicile odorante de coriandru între 2,30 (V7) și 3,50 (V5), caracteristicile odorante de citrice au oscilat între 1,50 (V2) și 2,20 (V1), caracteristicile odorante de fructe coapte (2,60–V3;V7 ÷ 4,00–V6), fructe exotice (2,70–V7 ÷ 3,50–V5), fructe uscate (2,30–V7 ÷ 3,50–V6), fructe verzi (1,20–V2 ÷ 2,00–V1;V6), fân cosit (1,50–V0 ÷ 2,60–V2), flori de câmp (2,60–V7 ÷ 3,30–V5), condimente (2,00–V7 ÷ 3,40–V4), miere (2,00–V7 ÷ 2,90–V6), trandafir (3,50–V3 ÷ 5,10–V1) iar din punct de vedere al caracteristicilor gustative acestea au înregistrat note cuprinse între 3,80 (V6) și 4,60 (V0) pentru aciditate, dulce (1,90–V4;V6 ÷ 2,90–V7), amar (1,80–V7 ÷ 3,20–V0;V4), caracterul fenolic (2,50–V3;V4 ÷ 3,40–V0), onctuos (2,70–V2 ÷ 3,40–V1;V3), senzația de structură (3,70–V3 ÷ 4,40–V5) și persistență (4,20–V3 ÷ 5,30–V0;V1).

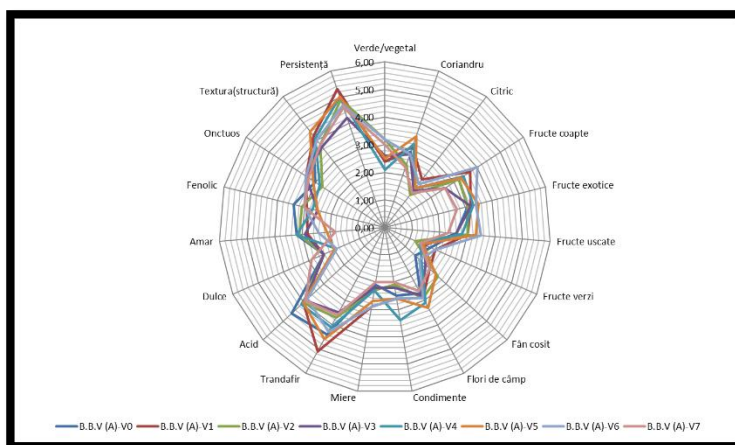


Figura nr.4.40 Reprezentarea grafică a caracteristicile senzoriale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Averești (BBV–A) în anul 2014

Figure no.4.40 Graphic representation of sensory characteristics of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Averești (BBV–A) in 2014

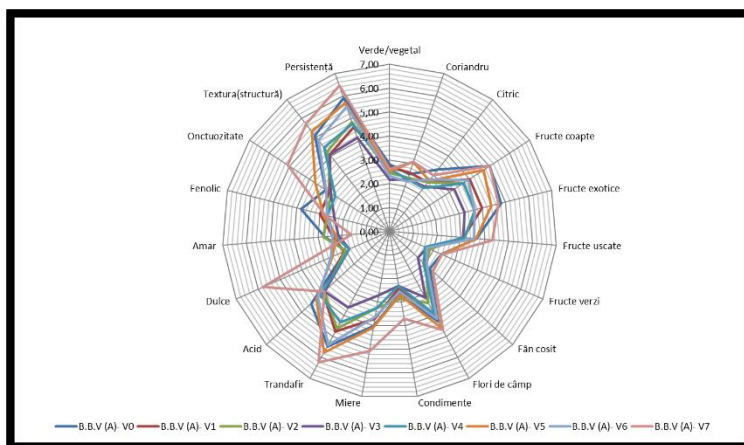


Figura nr.4.41 Reprezentarea grafică a caracteristicile senzoriale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânător din Averești (BBV–A) în anul 2015

Figure no.4.41 Graphic representation of sensory characteristics of Busuioacă de Bohotin wines obtained from the Dark Violet Biotype of Averești (BBV–A) in 2015

În cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești din anul 2015 (BBV-A-2015) acestea au prezentat caracteristici olfactive verzi/vegetale cărora li s-au acordat note cuprinse între 2,15 (V3) și 2,82 (V0), caracteristicile odorante de coriandru între 2,23 (V6) și 3,08 (V5;V7), caracteristicile odorante de citrice au oscilat între 2,31 (V4) și 3,27 (V0), caracteristicile odorante de fructe coapte (3,23-V3 ÷ 5,00-V0;V7), fructe exotice (3,23-V3 ÷ 4,82-V0), fructe uscate (3,08-V1;V3 ÷ 4,31-V7), fructe verzi (1,62-V4 ÷ 2,38-V5;V7), fân cosit (1,62-V3 ÷ 2,46-V5;V7), flori de câmp (3,15-V3 ÷ 4,69-V7), condimente (2,31-V3;V4 ÷ 3,69-V7), miere (2,69-V3 ÷ 5,08-V7), trandafir (3,62-V3 ÷ 6,23-V7) iar din punct de vedere al caracteristicilor gustative acestea au înregistrat note cuprinse între 3,69 (V2;V3;V7) și 4,45 (V0) pentru cele de aciditate, dulce (1,85-V3;V4 ÷ 5,77-V7), amar (1,62-V7 ÷ 2,77-V2), caracterul fenolic (2,38-V3 ÷ 3,82-V0), onctuos (2,69-V4 ÷ 5,08-V7), senzația de structură (4,08-V1;V3 ÷ 5,69-V7) și persistență (4,15-V3 ÷ 6,46-V7).

4.6.2. INTERPRETAREA REZULTATELOR

4.6.2.1. Influența tehnicilor de macerare asupra caracteristicilor senzoriale și corelarea cu compoziția fizico-chimică a vinurilor

Analizând punctajele obținute în urma evaluării senzoriale a probelor de vinuri obținute, s-au remarcat următoarele tehnici de macerare: macerația carbonică (V7), criomacerarea (V5), criomacerarea+microundele (V6), macerarea cu ultrasunete (V4) și macerarea cu microunde (V3). În interpretarea rezultatelor obținute în urma analizei senzoriale se va încerca și o corelare cu datele relevante privind compoziția fizico-chimică a probelor în cauză.

Vinurile obținute prin macerație carbonică (V7) au obținut un punctaj minim pentru majoritatea descriptorilor olfactivi și gustativi în aproape toate probele obținute în cei doi ani de experiment și din cele două biotipuri. Astfel, în cazul caracteristicilor olfactive s-au obținut valori scăzute în ceea ce privește caracteristicile odorante de coriandru, fructe coapte, fructe exotice, fructe uscate, fân cosit, flori de câmp, condimente și miere. Aceste rezultate se pot explica într-o oarecare măsură prin examinarea datelor privind compoziția volatili relevanți (esterii și compușii terpenici), probele obținute prin macerație carbonică având în general un conținut scăzut în acești compuși. Astfel, probele de vinuri obținute din biotipul roz în anul 2014 (BBR-H) s-au evidențiat prin concentrația cea mai scăzută în esteri și terpeni față de celelalte probe. De asemenea, vinurile obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești (BBV-A-2014 și 2015) s-au remarcat printr-un conținut scăzut în compuși terpenici dar și printr-o concentrație foarte ridicată în esteri. Esterii sunt compușii volatili care rezultă în principal în urma procesului fermentativ și care conferă caracteristici odorante fructate. Imposibilitatea corelării concentrației esterilor și previzionării unor reacții pozitive în urma analizei senzoriale, se poate explica într-o anumită măsură prin faptul că acești compuși au în general un efect sinergic în determinarea intensității odorante, iar de impactul final asupra profilului aromatic al unui vin depinde, diversitatea existentă în cadrul acestei clase de compuși, dar și de compoziția fizico-chimică complexă a vinurilor și interacțiunile dintre constituenții specifici.

Vinurile obținute prin macerație carbonică au obținut de asemenea note mici în ceea ce privește senzațiile olfactive de trandafir și cele gustative de amar, fenolic, onctuous, structură (corp) și persistență. Examinând datele rezultate în urma analizei compușilor volatili (gaz-cromatografie), fenolici (HPLC) și a parametrilor fizico-chimici de bază precum extractul sec total (EST), concentrația alcoolică și aciditatea totală, s-a reliefat că vinurile obținute prin macerație carbonică au obținut de asemenea valori scăzute. Astfel, senzațiile olfactive de trandafir percepute foarte puțin se pot datora conținutului mai scăzut în 2-feniletil alcool, notele scăzute ale gustului de amar, fenolic și onctuous pot fi induse de o concentrație mică în compuși fenolici, iar lipsa structurii (corpolenței) unui vin poate fi asociată cu un extract sec total scăzut.

O excepție remarcabilă în ceea ce privește rezultatele analizei senzoriale a vinurilor obținute prin macerație carbonică este ilustrată de probele obținute din biotipul vânat în anul 2015 (BBV-A-V7). Astfel, aceste vinuri au înregistrat cele mai ridicate note în urma evaluării descriptorilor olfactivi (coriandru, fructe coapte, exotice, uscate, verzi, fân cosit, flori de câmp, condimente, miere, trandafir) și gustativi (dulce, onctuos, structură, și persistență). Examinând datele obținute în urma analizei compușilor volatili și a parametrilor fizico-chimici de bază, aceste probe s-au evidențiat printr-un conținut ridicat în esteri, concentrații scăzute în compuși terpenici, având de asemenea o concentrație alcoolică foarte scăzută (8,8%) coroborată cu un conținut ridicat în zaharuri reducătoare (73,06 g/L) și implicit o valoare ridicată a extractului sec total (83,2 g/L).

Analizând acești parametri fizico-chimici, se observă că un rol important în obținerea acestor rezultate l-a avut conținutul ridicat în zaharuri reducătoare. Astfel, manifestarea mai intensă a caracteristicilor olfactive se poate datora conținutului ridicat în esteri și concentrației mari în zaharuri reducătoare. Astfel, este demonstrat rolul important pe care îl joacă zaharurile în evidențierea compușilor odoranți (și de aromă) și scăderea pragului de percepție al acestora, chiar dacă conținutul în compuși terpenici s-a evidențiat a fi mai scăzut. De asemenea, senzațiile gustative de dulce, onctuos, structură și persistență au fost percepute a fi cele mai intense în timp ce senzațiile acide, amare și fenolice au fost minime. Și în acest caz, conținutul în zaharuri reducătoare a avut un impact major asupra acestor descriptori, accentuând senzația de dulce, onctuositate, structură și persistență a acestora și minimizând senzațiile acide, amare și fenolice.

O altă variantă de macerare ce s-a evidențiat în urma analizei caracteristicilor senzoriale este criomacerarea (V5). Astfel, vinurile obținute prin această tehnică de macerare s-au remarcat prin obținerea unor punctaje ridicate în ceea ce privește descriptorii olfactivi precum coriandru, fructe coapte, exotice, uscate, verzi, fân cosit, flori de câmp, condimente, miere, trandafir și cei gustativi: dulce, onctuos, structură, și persistență. Compoziția fizico-chimică a acestor vinuri s-a evidențiat de asemenea printr-o concentrație ridicată în esteri, compuși terpenici și prin valori mai scăzute ale acidității, dar mai ridicate ale concentrației alcoolice. Astfel, concentrația alcoolică mai ridicată a echilibrat lipsa de aciditate a acestor vinuri, conferindu-le în același timp și o senzație de structură, corpolență. De asemenea, tăria alcoolică ridicată a acestor probe, coroborată cu o concentrație mai mare de compuși volatili (esteri și terpene), au contribuit la scăderea pragului de percepție al acestor constituenți și amplificarea impactului senzorial.

Vinurile obținute din biotipul vânat în anul 2014 (BBV-A) prin criomacerare+microunde (V6) și cele obținute prin ultrasunete-V4 (BBV-H-V4-2014; BBR-H-V4-2015) au exprimat de asemenea valori ceva mai ridicate pentru anumiți descriptori senzoriali precum verde/vegetal, fructe coapte, uscate, verzi, miere și onctozitate (V6) și coriandru, citric, fructe exotice, verzi, fân cosit, condimente, miere, dulce și structură (V4). Coroborând aceste rezultate cu compoziția fizico-chimică a acestor probe, nu s-a reușit o corelare pozitivă cu acestea, conținutul în esteri, terpenoizi și rezultatele privind principalii parametri fizico-chimici prezentând în general valori scăzute.

O altă variantă de macerare ce s-a evidențiat este macerația cu microunde (V3) aplicată în cazul vinurilor obținute din biotipul vânat al soiului Busuioacă de Bohotin în anul 2015 (BBV-A). În acest caz, probele rezultate au obținut valori scăzute pentru majoritatea descriptorilor senzoriali. Dintre aceștia se pot menționa senzațiile olfactive de verde/vegetal, fructe coapte, uscate, verzi, fân cosit, flori de câmp, condimente, miere, trandafir și senzațiile gustative de acid, dulce, fenolic, onctuoșitate, structură și persistență.

Aceste rezultate pot fi corelate cu un conținut mai scăzut în esteri și terpeni ale acestor vinuri, ele prezentând de asemenea și valori mai scăzute ale acidității totale și extractului sec total.

Termomacerarea (V2) este o tehnică de macerare ce a presupus încălzirea mustuielii la temperaturi ridicate (70 °C) iar în urma evaluării senzoriale a vinurilor elaborate prin această variantă de macerare, s-au obținut punctaje mai ridicate ale senzațiilor gustative amare și fenolice pentru majoritatea probelor obținute. Aceste vinuri s-au evidențiat de asemenea printr-un conținut mai ridicat în compuși fenolici, explicându-se astfel perceperea mai intensă a acestor senzații gustative.

4.6.2.2. Influența biotipurilor soiului Busuioacă de Bohotin asupra caracteristicilor senzoriale

Un obiectiv important urmărit în cadrul acestui experiment și bineînțeles în urma analizei senzoriale, a fost de a evidenția care dintre variațiile fenotipice ale soiului Busuioacă de Bohotin a condus la obținerea unor vinuri care să exprime cel mai intens caracterul varietal și implicit tipicitatea acestuia.

Astfel, în urma examinării holistice a notelor acordate descriptorilor senzoriali analizați s-au remarcat vinurile obținute din biotipul vânat (BBV), acestea exprimând cel mai intens senzațiile olfactive de coriandru, fructe coapte, exotice, uscate, verzi, flori de câmp, condimente, miere, și trandafir, cu o persistență de durată, caracteristici specifice soiului Busuioacă de Bohotin (Târțian ș.a., 2015).

4.6.2.3. Influența terroir-ului asupra caracteristicilor senzoriale

Pentru realizarea acestui experiment s-au utilizat struguri de Busuioacă de Bohotin ce au provenit din cadrul Podgoriei Huși dar care prezentau origini geografice diferite (centrul viticol Huși și centrul viticol Averești). Examinând rezultatele obținute, nu s-au observat diferențe semnificative exercitate de originea geografică asupra caracteristicilor senzoriale ale vinurilor obținute.

CAPITOLUL V – ANALIZA STATISTICĂ

CHAPTER V – STATISTICAL ANALYSES

Datele obținute în urma analizei vinurilor de Busuioacă de Bohotin au fost interpretate statistic utilizând analiza componentelor principale (PCA), în care obiectivul principal a fost clasificarea probelor obținute în funcție de biotipurile soiului Busuioacă de Bohotin (biotipul roz și vânat).

Analiza Componentelor Principale (PCA) este o metodă de proiecție și reducere dimensională a datelor care constă în utilizarea unui număr mai mic de componente principale față de variabilele inițiale. Componentele principale sunt denumite adeseori și componentele de bază iar valorile lor sunt scorurile obținute. Componentele principale sunt de fapt combinații liniare ale variabilelor originale. Coeficienții liniari sunt numite ponderile componentelor (component loadings) și sunt coeficienții de corelație dintre variabilele originale și componentele principale. PCA este o metodă nesupervizată de recunoaștere a tiparelor din date, în sensul că nu trebuie cunoscută gruparea datelor (clasa/categoria) înainte de analiză. Cu toate acestea, structura datelor poate fi ușor cunoscută (evidențiată) iar apartenența la o anumită clasă poate fi atribuită.

Componentele principale sunt necorelate și reprezintă totalul dispersiei variabilelor originale. Prima componentă principală (PC1) explică maximul din totalul dispersiei, a doua componentă principală (PC2) explică maximul din dispersia rămasă și este necorelată cu prima componentă ș.a., până toată dispersia variabilelor utilizate în analiză este explicată. Din motive practice, este suficientă păstrarea doar a componentelor care explică procentul cel mai ridicat din totalul dispersiei.

Sintetizat, PCA descompune matricea originală a datelor în multiplicarea ponderilor – loadings – (variabilele utilizate – ex: compușii fenolici, volatili *etc.*) și scorurile – valorile (categoriile de vin).

Pentru analiza componentelor principale (PCA) a vinurilor de Busuioacă de Bohotin s-a utilizat următorul set de date: concentrația a 58 de compuși chimici (coloanele matricei de intrare a datelor) au fost introduse drept variabile, și anume: compușii fenolici (acizii galic, protocatehic, hidroxibenzoic, vanilic, siringic, salicilic, gentisic, *p*-cumaric, cafeic, ferulic, sinapic, clorogenic; polidatin, epicatechina, procianidina B1 și B2, quercitina, hiperozid, rutina, morinul, *trans*-resveratrol, *cis*-resveratrol, procente de participare ale malvidinei și peonidinei-3-O-monoglucozid), compușii volatili (linalool, hotrienol, α -terpineol, citronelol, geraniol, nerol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, 1-propanol, 1-hexanol, 2 feniletanol, 1-heptanol, 1-pentanol, 3-metil-1-pentanol, caprilat de etil, caprat de etil, succinat de dietil, benzoat de etil, laurat de etil, miristat de etil, pentadecanoat de etil, palmitat de etil, 9-hexadecenoat de etil, stearat de etil, lactat de etil), aciditatea totală, acizii organici (tartric, malic, lactic, acetic, citric, succinic, fumaric, shikimic).

Cele 40 de probe de vinuri de Busuioacă de Bohotin au fost introduse în rândurile matricei de intrare a datelor. Variabilele (coloanele) au fost standardizate la medie zero și dispersie 1.

Tabelul nr. 5.1 prezintă importanța primelor 10 componente în explicarea dispersiei totale din datele utilizate.

Tabelul nr.5.1/Table no.5.1

Importanța primelor zece componente k=10 (din 36)

Importance of first ten components k=10 (out of 36)

Importanța primelor 10 componente k=10 (din 36):	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
Deviația standard	3.60	2.28	1.92	1.63	1.29	1.19	1.14	1.04	0.97	0.91
Proporția varianței	0.36	0.14	0.10	0.07	0.05	0.04	0.04	0.03	0.03	0.02
Proporția cumulată	0.36	0.50	0.61	0.68	0.73	0.77	0.80	0.83	0.86	0.88

S-a utilizat diagrama Scree (fig. 5.1) cu scopul determinării numărului de componente principale semnificative ce trebuie reținute în analiza statistică și care explică cel mai bine din totalul dispersiei datelor.

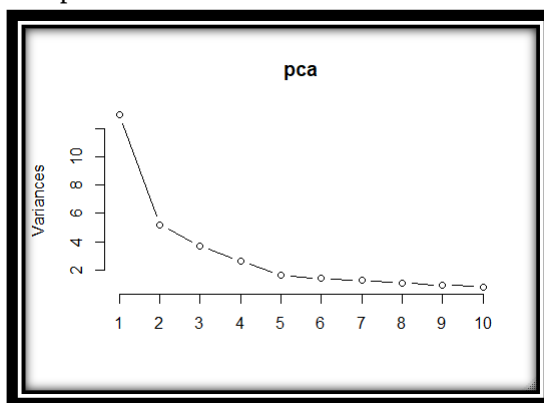


Figura nr. 5.1 Diagrama Scree

Figure no. 5.1 Scree Plot

Astfel, după cum se observă din această diagramă, este sugerată utilizarea a 6 componente principale în modelul statistic. Prin urmare, în analiza PCA au fost luate în considerare doar 6 componente care explică 77% din totalul dispersiei datelor.

Valorile ponderilor pentru fiecare variabilă sunt prezentate în tabelul nr.5.2 de mai jos și explică cât de bine sunt corelate noile componente principale (PC) cu vechile variabile. Pentru fiecare componentă principală au fost subliniate (boldate) valorile variabilelor ce au prezentat o pondere ridicată în explicarea dispersiei totale a datelor și care au contribuit la clasificarea probelor.

Prin urmare, prima componentă principală explică 35,98% (deviația standard=3,59) din totalul dispersiei și este corelată pozitiv cu variabilele: linalool (0,2240), nerol (0,2057), 3-metil-1-butanol (0,2118), 2-metil-1-propanol (0,2244), caprilat de etil (0,2564), caprat de etil (0,2594), miristat de etil (0,2648), pentadecanoat de etil (0,2106), palmitat de etil (0,2269) și corelată negativ cu peonidina (-0,0927), aciditatea totală (-0,1288), acidul malic (-0,1949) și fumaric (-0,2204).

A doua componentă principală (PC2) explică 14,45% (deviația standard=2,28) din totalul dispersiei, iar dintre variabilele corelate pozitiv enumerăm: malvidina (0,3031), peonidina (0,2665), citrionelol (0,2090), 1-propanol (-0,1813) și variabilele ce au fost corelate negativ: lactat de etil (-0,3015), acizii tartric (-0,3393), lactic (-0,2966), citric (-0,2348) și succinic (-0,2585).

Valorile ponderilor variabilelor
Loading values of variables

Valorile Ponderilor	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
Malvidină	-0,1170	0,3031	-0,1803	0,0854	-0,0263	0,0030
Peonidină	-0,0927	0,2665	0,0432	0,0068	0,1744	0,1630
Linalool	0,2240	0,1057	0,1388	0,0622	0,1563	0,1999
Hotrienol	-0,1721	-0,0189	0,1864	0,1670	-0,2160	0,2194
α -Terpineol	0,0308	0,1857	0,2777	0,1990	-0,0658	0,2593
Citronelol	0,2081	0,2090	-0,0961	0,1036	0,1350	0,0559
Geraniol	0,1642	0,1838	-0,0585	0,0927	0,2654	0,2078
Nerol	0,2057	0,1347	-0,0588	0,1466	0,0618	0,1405
3-metil-1-butanol	0,2118	0,0139	-0,0169	0,1213	-0,0275	-0,0403
2-metil-1-propanol	0,2244	0,0970	-0,0965	0,0476	0,0289	0,0402
1-propanol	0,0979	-0,1813	0,3586	-0,0244	-0,0714	0,0764
1-hexanol	0,1059	0,1960	0,0771	0,3780	-0,1754	-0,0602
2-feniletanol	0,1525	0,1223	-0,2567	0,1794	-0,1025	-0,0102
1-heptanol	0,1419	-0,1003	0,2710	0,2461	-0,0048	-0,1024
1-pentanol	0,1350	-0,1698	0,2306	0,0646	-0,1578	-0,1764
3-metil-1-propanol	0,2303	0,0805	-0,0322	0,2416	-0,0167	-0,0873
caprilat de etil	0,2564	0,0310	-0,0251	0,0063	-0,0750	0,0520
caprat de etil	0,2594	-0,0062	-0,0329	-0,1089	-0,0795	0,1422
succinat de dietil	-0,1760	0,0134	-0,0042	0,1814	-0,3734	0,1900
benzoat de etil	0,0290	0,1449	-0,1751	-0,1834	0,1661	-0,1941
laurat de etil	0,1419	-0,0958	-0,0790	-0,3964	-0,2237	0,1714
miristate de etil	0,2648	-0,0113	0,0090	-0,0678	-0,0406	0,0449
pentadecanoat de etil	0,2106	-0,0272	0,0827	-0,0124	-0,1294	-0,0832
palmitat de etil	0,2269	-0,0665	0,0353	-0,1058	-0,2733	0,1326
9-hexadecenoat de etil	0,1685	-0,0355	-0,0797	-0,3356	-0,2445	0,2653
stearat de etil	0,0126	-0,0797	0,1923	-0,0816	0,2355	-0,1476
lactat de etil	0,0126	-0,3015	-0,2358	0,2279	-0,1342	0,1197
aciditatea totală	-0,1288	-0,0160	0,2880	-0,0494	0,1900	0,1472
acid tartric	0,1381	-0,3393	-0,0086	0,0923	0,1960	-0,0348
acid malic	-0,1949	0,2600	0,0272	-0,0197	-0,1223	0,0704
acid lactic	-0,0132	-0,2966	-0,2861	0,1694	0,1195	0,1801
acid acetic	-0,0570	-0,1263	-0,0611	-0,0302	0,2927	0,5621
acid citric	-0,1073	-0,2348	0,1564	0,2107	0,0712	0,0835
acid succinic	-0,0699	-0,2585	-0,2806	0,2123	0,0667	0,0427
acid fumaric	-0,2204	0,1007	0,0745	-0,0219	-0,1220	0,2076
acid shikimic	-0,1786	-0,0094	-0,2385	0,1050	-0,2419	-0,0533

PC3 explică 10,25% (deviația standard=1,92) din totalul dispersiei și este corelată negativ cu malvidina (-0,1803), 2-feniletanol (-0,2567), acid succinic (-0,2806) și corelată pozitiv cu α -terpineol (0,2777), 1-propanol (0,3586), 1-heptanol (0,2710), 1-pentanol (0,2306) și aciditatea totală (0,2880).

PC4 explică 7% (deviația standard=1,62) din totalul dispersiei și este corelată pozitiv cu variabilele 1-hexanol (0,3780), 3-metil-1-pentanol (0,2416), lactat de etil (0,2279), acid citric (0,2107), acid succinic (0,2123), 2-feniletanol (0,1794) și negativ cu laurat de etil (-0,3964) și 9-hexadecenoat de etil (-0,3356).

PC5 explică 4% (deviația standard=1,28) și este corelată negativ cu hotrienol (-0,2160), 1-hexanol (-0,1754), succinat de dietil (-0,3734), palmitat de etil (-0,2733), acid shikimic (-0,2419) și pozitiv cu geraniol (0,2654) și stearat de etil (0,2355).

PC6 explică 3% (deviația standard=1,18) din totalul dispersiei și este corelată pozitiv cu hotrienol (0,2194), succinat de dietil (0,1900), laurat de etil (0,1714), 9-hexadecenoat de etil (0,2653), acid acetic (0,5621), acid fumaric (0,2076) și negativ cu benzoat de etil (-0,1941) și 1-pentanol (-0,1764).

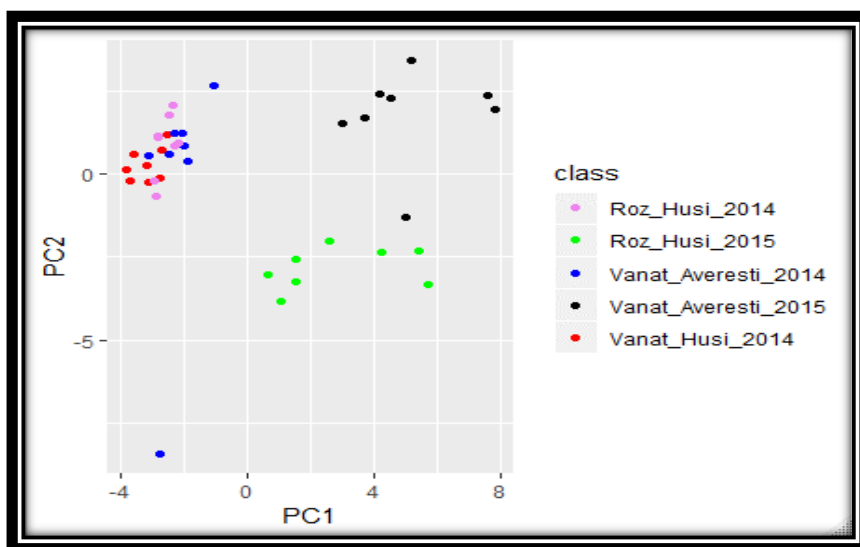


Figura nr. 5.2 Reprezentarea grafică a valorilor primelor două componente principale (PC1 vs PC2)

Figure no. 5.2 Graphic representation of the scores of first two principal components (PC1 vs PC2)

Figura 5.2 ilustrează valorile primelor două componente principale raportate unul față de celălalt (PC1 vs PC2) și explică cea mai mare proporție din totalul dispersiei datelor (50,43%). După cum se observă, prima componentă principală (PC1) realizează o clasificare clară a vinurilor obținute în anul 2015; astfel, probele obținute din biotipul roz provenit din Centrul Viticol Huși (punctele verzi) sunt proiectate în partea de jos a graficului (asociate cu valori negative pentru PC2) în timp ce probele elaborate din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești (punctele negre) sunt localizate în partea superioară a primei componente (asociate cu valori pozitive pentru PC2).

Prin urmare, compuși ce au prezentat o corelație pozitivă în această componentă principală au fost: linalool, nerol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, caprilat de etil, caprat de etil, miristat de etil, pentadecanoat de etil, palmitat de etil, și au avut o pondere

ridicată în diferențierea probelor de Busuioacă de Bohotin din 2015 obținute din biotipul vânat din Centrul Viticol Averești (punctele negre). În cazul probelor obținute din biotipul roz provenit din Centrul Viticol Huși (punctele verzi), acestea au fost asociate cu variabilele corelate negativ precum: peonidina, aciditatea totală, acidul malic și fumaric, diferențiindu-le astfel de vinurile obținute din biotipul vânat.

A doua componentă principală (PC2) a explicat 14,45% din totalul dispersiei iar în spațiul acesteia au fost proiectate probele de Busuioacă de Bohotin obținute în anul 2014. Conform figurii. 5.2. de mai sus, majoritatea probelor sunt localizate în partea superioară a graficului, cu o distanță destul de mică între ele. Cu toate acestea, s-a evidențiat o separare mai clară a probelor obținute din biotipul vânat provenit din Centrul Viticol Huși (punctele roșii) față de cele obținute din biotipul vânat provenit din Centrul Viticol Averești (punctele albastre), iar în cazul biotipului roz (punctele roz), probele elaborate din acesta au fost distribuite între cele două biotipuri.

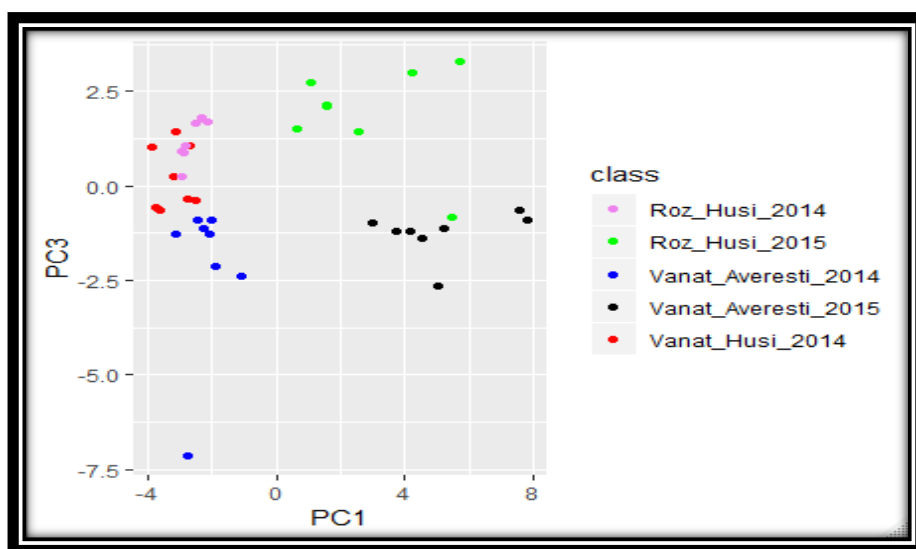


Figura nr. 5.3 Reprezentarea grafică a valorilor primei componente principale raportată la a treia componentă (PC1 vs PC3)

Figure no. 5.3 Graphic representation of the scores of the first principal component relative to the third component (PC1 vs PC3)

Figura 5.3 ilustrează valorile componente 1 raportată la componenta 3 (ce explică 10,25% din totalul dispersiei). Conform acestui grafic, se observă o separare mai clară a probelor obținute din biotipul vânat recoltat din Centrul Viticol Averești (punctele albastre), situate în partea de jos a componente 3 în timp ce probele obținute din Centrul Viticol Huși (punctele roșii) sunt proiectate în partea superioară. În ceea ce privește biotipul roz (punctele roz), acesta formează un cluster alcătuit din trei puncte aflate deasupra probelor obținute din biotipul vânat provenit din Huși (punctele roșii), iar trei dintre acestea sunt distribuite în apropierea acestora.

Dintre variabilele ce au prezentat o pondere ridicată în componenta 3 și au contribuit la diferențierea vinurilor obținute din biotipul vânat provenit din Centrul Viticol Averești se

pot menționa: malvidina, 2-feniletanol, acidul succinic în timp ce variabilele α -terpineol, 1-propanol, 1-heptanol, 1-pentanol, aciditatea totală (corelate pozitiv) au contribuit la gruparea probelor obținute din Centrul Viticol Huși (biotipul roz și vânat).

După cum s-a observat în figurile nr. 5.2–5.3, vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute în anul 2014 din cele două biotipuri (biotipul roz din Centrul Viticol Huși și biotipul vânat din Centrul Viticol Huși și Averești) nu au prezentat o separare foarte clară a acestora. Astfel, pentru a avea o imagine mai detaliată legată de această situație s-a realizat analiza componentelor principale doar pentru probele din acest an.

Prin urmare, pentru analiza PCA a vinurilor din 2014 (24 de probe) s-au utilizat 58 de variabile din care fac parte: acizii organici (tartric, malic, lactic, acetic, citric, succinic, fumaric, shikimic), procentele de participare ale malvidinei și peonidinei-3-O-monoglucozid, compușii volatili (linalool, hotrienol, α -terpineol, citrionelol, geraniol, nerol, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, 1-propanol, 1-hexanol, 2 feniletanol, 1-heptanol, 1-pentanol, 3-metil-1-pentanol, caprilat de etil, caprat de etil, succinat de dietil, benzoat de etil, laurat de etil, miristat de etil, pentadecanoat de etil, palmitat de etil, 9-hexadecenoat de etil, stearat de etil, lactat de etil) și compușii fenolici (acizii galic, protocatehic, hidroxibenzoic, vanilic, siringic, salicilic, gentisic, *p*-cumaric, cafeic, ferulic, sinapic, clorogenic; polidatin, epicatechina, procianidina B1 și B2, quercitina, hiperozid, rutina, morinul, *trans*-resveratrol, *cis*-resveratrol).

Tabelul nr.5.3 prezintă importanța primelor 10 componente în explicarea dispersiei totale din datele utilizate.

Tabelul nr.5.3/Table no.5.3

Importanța primelor 10 componente k=10 (din 24)

Importance of first ten components k=10 (out of 24) components

Importanța primelor 10 componente k=10 (din 24)	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
Deviația standard	3.198	2.5625	2.5233	2.18757	2.01476	1.8814	1.79722	1.65985	1.58943	1.49838
Proporția Varianței	0.1794	0.1152	0.1117	0.08396	0.07121	0.0621	0.05667	0.04833	0.04432	0.03939
Proporția Varianței totale	0.1794	0.2946	0.4063	0.49028	0.5615	0.6236	0.68026	0.7286	0.77292	0.81231

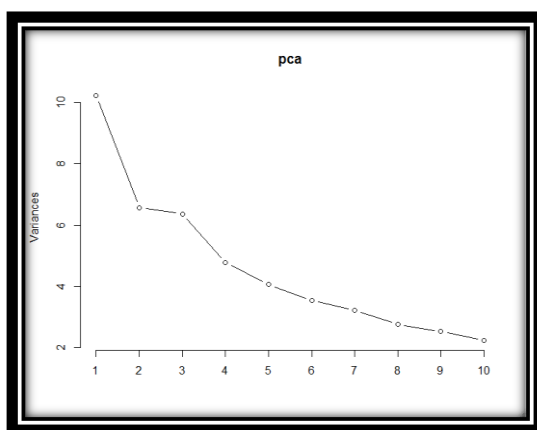


Figura nr.5.4 Diagram Scree

Figure no.5.4 Scree Plot

Diagram Scree din fig.5.4 de mai sus, sugerează utilizarea a 8 componente principale, existând însă și un punct de inflexiune la componenta 3. Astfel, analizând tab.

nr.5.3 se poate observa că cele 8 componente principale explică 72,86% din totalul dispersiei în timp ce primele 3 componente explică doar 40,63%.

Tabelul nr.5.4/Table no.5.4

Valorile ponderilor variabilelor
Loading values of variables

Valorile Ponderilor	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
Acid tartric	-0,2445	-0,1181	0,0122	-0,0232	-0,0620	-0,1873	0,0418	-0,1242
Acid malic	0,2378	0,1073	0,0881	0,1094	0,0434	-0,0611	-0,1445	-0,0227
Acid lactic	-0,2461	-0,0957	-0,0034	-0,0962	-0,1006	-0,1608	0,0675	-0,0830
Acid acetic	-0,0872	-0,2240	0,1595	-0,1682	-0,1320	0,0480	-0,0617	-0,0061
Acid citric	-0,0643	0,0138	0,2177	0,0061	-0,0276	-0,3418	-0,0290	-0,1242
Acid succinic	-0,2614	0,0210	0,0335	-0,0448	-0,0862	-0,1941	0,0540	-0,1013
Acid fumaric	0,0806	0,0413	0,2423	0,0126	0,1472	0,0680	0,0925	0,0914
Acid shikimic	-0,1565	0,2155	-0,0642	-0,0203	-0,0919	-0,1067	0,0289	0,0201
Malvidina	0,1244	0,2072	-0,0540	0,0283	-0,0265	-0,0742	-0,1485	-0,1801
Peonidina	0,1771	-0,1627	-0,0378	0,0582	0,0424	-0,0412	0,0888	-0,0212
Linalool	0,1972	-0,1432	0,1822	0,0168	0,0846	-0,1814	0,1014	-0,0513
Hotrienol	0,0560	0,1323	0,2097	-0,0829	0,0527	-0,1308	0,1134	0,1396
α -Terpineol	0,2190	-0,0173	0,0971	-0,0103	0,1467	-0,2379	-0,0560	-0,1126
Citronelol	0,1573	0,0714	0,0673	0,0162	0,1139	-0,0446	-0,3525	-0,1021
Geraniol	0,0877	-0,1418	0,0490	0,0585	0,2148	-0,0790	0,2779	0,0882
Nerol	0,0623	0,1744	-0,0081	-0,0333	-0,0602	-0,0517	-0,2750	-0,2492
3-metil-1-butanol	-0,0279	-0,0463	-0,1241	-0,1107	0,2342	-0,0835	0,1942	0,1129
2-metil-1-propanol	0,0607	-0,0467	-0,1686	-0,1738	0,0842	-0,1000	-0,0141	0,1358
1-propanol	0,0817	-0,0154	0,2870	0,1512	0,0555	-0,0288	0,1399	0,0381
1-hexanol	0,1229	0,1433	-0,0588	-0,0369	0,2118	-0,2343	-0,1203	-0,0182
2-feniletanol	-0,0647	0,0025	-0,2654	-0,2001	0,1836	-0,0928	-0,0907	-0,0075
1-heptanol	0,1191	0,2023	0,0896	-0,1377	-0,0516	-0,1388	0,2316	0,0591
1-pentanol	0,0166	0,1231	0,1101	0,0202	-0,1083	-0,0093	-0,1921	0,3937
3-metil-1-pentanol	0,0244	0,0160	-0,2239	-0,2218	0,2329	-0,1467	-0,0876	-0,0478
caprilat de etil	0,1608	-0,1609	-0,0203	-0,1440	-0,0354	-0,1573	-0,1831	-0,0704
caprat de etil	0,0953	-0,1553	0,0936	-0,1273	-0,1611	0,1947	-0,1830	-0,0696
succinat de dietil	-0,0254	0,1016	0,0372	-0,2679	0,2017	-0,0627	0,0292	0,2013
benzoat de etil	0,0260	0,0815	-0,1015	0,0482	-0,0576	-0,0780	-0,0560	-0,3293
laurat de etil	0,1034	-0,2790	-0,0357	0,0995	-0,1438	-0,0075	-0,0445	-0,1229
miristat de etil	0,0545	0,1134	-0,1047	0,1831	-0,2398	-0,1775	0,0123	0,2429
pentadecanoat de etil	0,0545	0,0977	-0,1383	0,1638	-0,2770	-0,1372	-0,0452	0,1219
palmitat de etil	0,0540	0,1306	-0,0575	0,0626	-0,1818	-0,1532	0,1114	0,0254
9-hexadecenoat de etil	0,0983	0,0597	0,0166	0,1642	-0,2846	-0,2170	-0,0379	0,1122
stearat de etil	0,1153	-0,0712	-0,0297	0,2328	-0,0060	-0,1565	0,2255	0,0455
lactat de etil	-0,2373	-0,0116	-0,0757	-0,2040	-0,0444	-0,1713	-0,0024	-0,0057
Acid galic	0,1478	-0,0906	0,1737	-0,2421	-0,1763	-0,0165	-0,1319	-0,0422
Acid protocatehic	0,2542	-0,0783	-0,0510	-0,1066	-0,1314	-0,0549	0,1367	-0,0505
Acid p-hidroxibenzoic	0,0393	-0,2304	-0,1747	0,1972	-0,0005	-0,0376	-0,0051	-0,0859
Acid vanilic	0,1997	-0,1055	0,0646	-0,2315	-0,1006	0,0724	0,0938	-0,0554
Acid siringic	0,0604	0,0629	-0,0454	-0,1575	-0,0674	-0,0408	0,3065	-0,2002
Acid salicilic	0,0988	0,1977	-0,1891	-0,0159	0,0044	0,1153	0,1292	-0,2037
Acid gentisic	0,1249	-0,1535	-0,1484	-0,1576	-0,1296	0,0060	0,1319	0,1135
Acid p-cumaric	-0,0262	-0,0211	-0,1170	0,0626	0,1425	0,1830	-0,0563	0,0243
Acid cafeic	0,1293	-0,1600	-0,0242	-0,2728	-0,1086	-0,0099	-0,0674	0,1239
Acid ferulic	0,2444	0,0069	-0,0222	-0,1516	-0,0929	0,0159	0,1222	0,0232
Acid sinapic	0,0586	0,3051	-0,0200	-0,1938	-0,0772	0,0203	0,0156	-0,0432
Acid clorogenic	0,0279	0,0481	-0,0594	-0,1275	-0,0056	0,0482	-0,1855	0,3528
Polidatin	0,1729	-0,1164	-0,0799	-0,0590	-0,0087	0,0352	-0,0381	-0,0128
Epicatechina	0,0067	-0,0346	0,1062	-0,0485	-0,1360	0,2538	0,0309	-0,0294
Procianidina B1	0,1038	-0,0792	-0,2978	0,1319	0,0199	0,0411	0,0456	-0,0497
Procianidina B2	-0,0596	-0,1843	0,1950	0,0692	0,0077	-0,1795	-0,1478	0,0087
Quercitina	-0,2395	-0,1168	0,0453	-0,0846	-0,1174	-0,0005	0,0515	-0,0993
Hiperozid	0,0417	0,2009	0,1588	-0,1166	-0,0602	0,0482	0,1792	-0,2410
Rutin	0,0641	0,1374	-0,1573	-0,0351	-0,2526	0,1650	0,1100	0,0381
Morin	0,0574	0,0931	0,1466	0,1252	0,2163	0,1789	0,0172	-0,0819
trans- Resveratrol	0,0945	-0,1044	-0,2442	0,1202	0,0573	-0,0842	-0,0061	0,0050
cis- Resveratrol	0,0217	0,1206	0,0312	0,0164	0,0221	0,1961	0,0223	-0,0789

Astfel, pentru a evalua cât mai obiectiv datele utilizate în această analiză, care să explice într-o măsură cât mai mare dispersia totală, au fost luate în calcul primele 8 componente principale.

În tabelul nr.5.4 de mai sus sunt prezentate valorile ponderilor variabilelor pentru primele 8 componente principale, fiind subliniate valorile ridicate ale variabilelor cu o pondere mare în explicarea dispersiei totale. În continuare, se vor prezenta variabilele ce au exprimat valori ridicate pentru primele 3 componente (40,63% din totalul varianței).

Astfel, prima componentă principală (PC1 – 17,94%) prezintă 14 variabile ce au avut o pondere ridicată: acidul malic (0,2378), malvidina (0,1244), peonidina (0,1771), linalool (0,1972), α -terpineol (0,2190), citranelol (0,1573), caprilat de etil (0,1608), acidul protocatehic (0,2542), ferulic (0,2444) și cele corelate negativ precum: acidul tartric (-0,2445), lactic (-0,2461), succinic (-0,2614), lactat de etil (-0,2373) și quercitina (-0,2395).

A doua componentă principală (PC2) explică 11,52% din totalul dispersiei și prezintă 10 variabile importante precum: acidul shikimic (0,2155), malvidina (0,2072), nerolul (0,1744), acidul salicilic (0,1977), acidul sinapic (0,3051), hiperozid (0,2009) și variabile corelate negativ: acid acetic (-0,2240), geraniol (-0,1418), laurat de etil (-0,2790), acid *p*-hidroxibenzoic (-0,2304).

A treia componentă principală (PC3) explică 11,17% din totalul dispersiei și prezintă 9 variabile cu pondere ridicată, dintre care 5 sunt corelate pozitiv: acid citric (0,2177), acid fumaric (0,2423), hotrienol (0,2097), 1-propanol (0,2870), procianidina B1 (0,1950) iar 4 variabile sunt corelate negativ: 2-feniletanol (-0,2654), 3-metil-1-pentanol (-0,2239), procianidina B1 (-0,2978) și *trans*-resveratrolul (-0,2442).

Figurile 5.5–5.8 ilustrează valorile primei componente raportate față de componenta 2 (PC1 vs PC2), componenta 3 (PC1 vs PC3), componenta 8 (PC1 vs PC8) și componenta 2 față de componenta 3 (PC2 vs PC3).

Observând aceste grafice, s-au evidențiat formarea unor clustere destul de distincte ce sunt alcătuite din probele obținute din biotipul vânat din Centrul Viticol Averești (punctele roșii), biotipul roz din Centrul Viticol Huși (punctele galbene) și biotipul vânat din Centrul Viticol Huși (punctele albastre). Gruparea probelor din aceeași clasă este destul de uniformă iar diferențele existente în distribuția spațială a acestora este determinată în primul rând de influența tehnicilor de macerare utilizate. Dintre variabilele (compuși chimici) ce au contribuit la gruparea acestor vinuri se pot menționa: acidul tartric, lactic, succinic, lactat de etil și quercitina (biotipul roz); acid malic, α -terpineol, acid protocatehic, acid ferulic, acid shikimic, maldivina, acid sinapic, hiperozid (biotipul vânat din Centrul Viticol Huși); malvidina, peonidina, linalool, citranelol, caprilat de etil, geraniol și acid acetic (biotipul vânat din Centrul Viticol Averești).

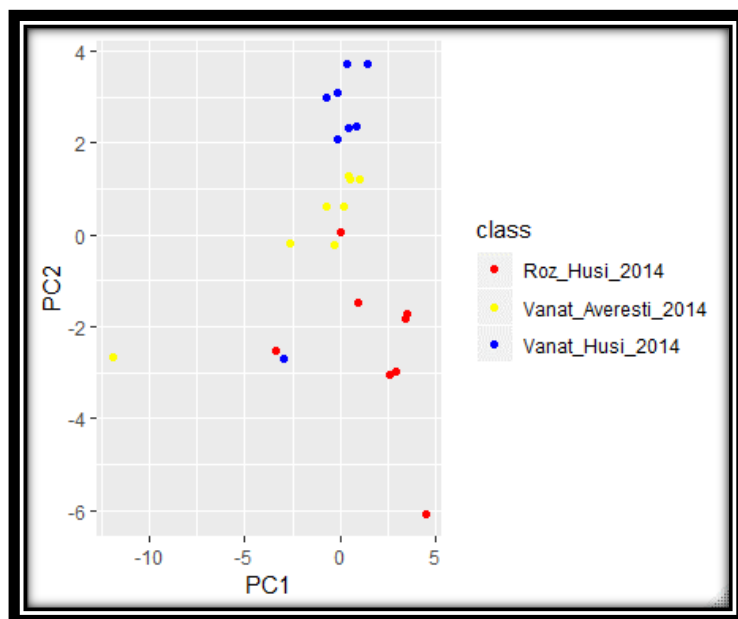


Figura nr.5.5 Reprezentarea grafică a valorilor primelor două componente principale (PC1 vs PC2)
Figure no. 5.5 Graphic representation of the scores of the first two principal components (PC1 vs PC2)

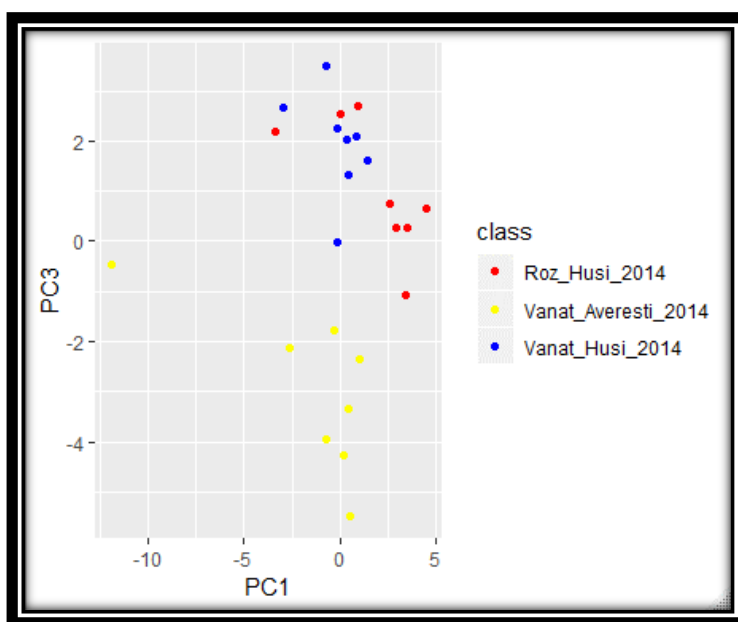


Figura nr.5.6 Reprezentarea grafică a valorilor primei componente principale raportată la a treia componentă (PC1 vs PC3)
Figure no.5.6 Graphic representation of the scores of the first principal component relative to the third component (PC1 vs PC3)

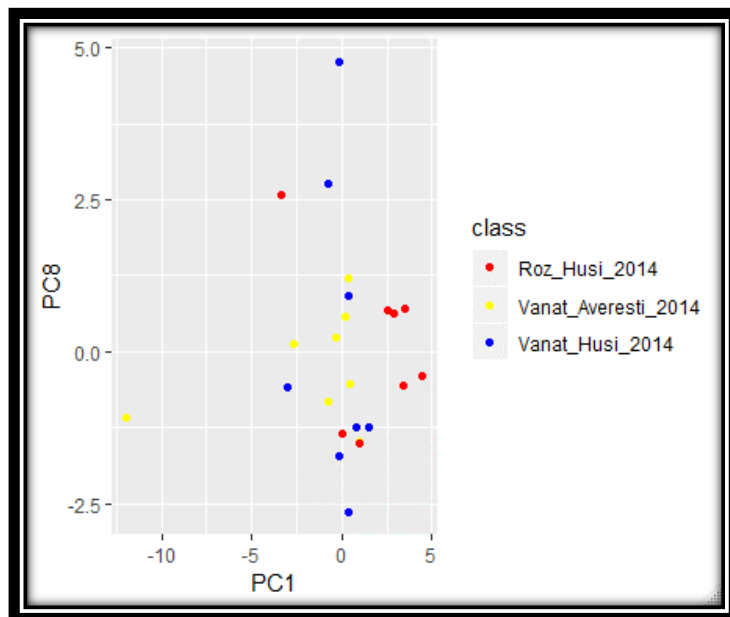


Figura nr.5.7 Reprezentarea grafică a valorilor primei componente principale raportată la a opta componentă (PC1 vs PC8)

Figure no.5.7 Graphic representation of the scores of the first principal component relative to the eighth component (PC1 vs PC8)

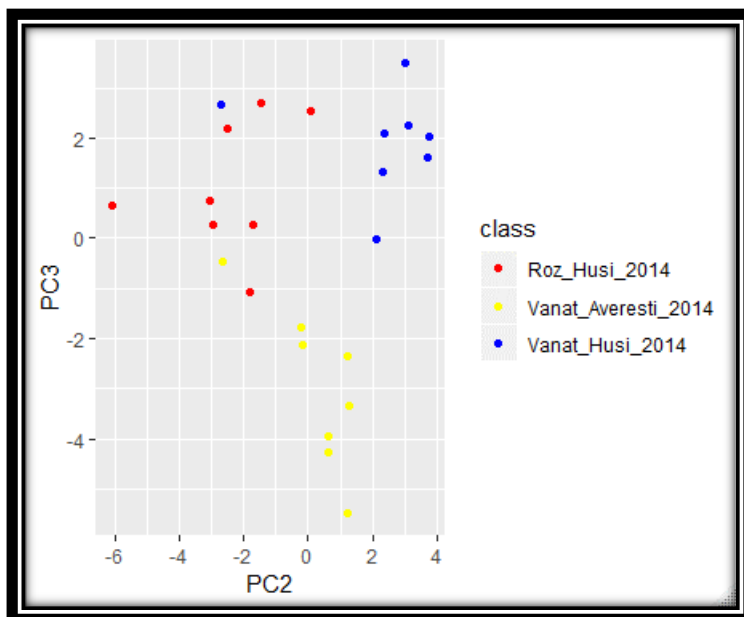


Figura nr.5.8 Reprezentarea grafică a valorilor primei componente principale raportată la a opta componentă (PC1 vs PC8)

Figure no.5.8 Graphic representation of the scores of the first principal component relative to the eighth component (PC1 vs PC8)

CAPITOLUL VI – CONCLUZII

Evaluând compoziția fizico-chimică a vinurilor de Busuioacă de Bohotin elaborate în acest studiu în vederea stabilirii tipicității soiului, s-a observat că trăsăturile tipice, specifice ale acestuia sunt influențate de o multitudine de factori precum: variația genetică a soiului Busuioacă de Bohotin (biotipul roz sau vânat), originea geografică a acestora (Centrul viticol Huși și Verești), tehnicile de macerare utilizate *etc.*

- ✓ Astfel, în urma analizei fizico-chimice a musturilor obținute din cele două biotipuri ale soiului Busuioacă de Bohotin, biotipul roz a exprimat valori mai scăzute ale acidității totale;
- ✓ În ceea ce privește influența terroir-ului, s-a observat că strugurii din Centrul viticol Verești au ajuns mai târziu la maturitate tehnologică (conținut mai scăzut în zaharuri) față de Centrul Viticol Huși;
 - ❖ Examinând principalii parametri de compoziție ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin elaborate s-au constatat următoarele:
- ✓ Probele de vin obținute din biotipul roz al soiului Busuioacă de Bohotin au exprimat în general o aciditate totală mai ridicată față de biotipul vânat;
- ✓ Vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din strugurii recoltați din Centrul Viticol Huși au înregistrat valori mai ridicate ale principalilor parametri fizico-chimici față de cele obținute din Centrul Viticol Verești;
- ✓ Dintre tehnicile de macerare utilizate în procesul de vinificație s-au remarcat: macerația carbonică (valori mai mici ale extractului sec total și nereducător, cu un conținut mai scăzut în alcool și aciditate totală, și valori mai mari ale acidității volatile), macerația cu microunde (concentrație alcoolică ridicată), criomacerarea (valori scăzute ale acidității totale), macerarea cu ultrasunete (valori mai mici ale extractului sec total, nereducător, concentrației alcoolice și acidității totale);
 - ❖ Determinarea profilului acizilor vinurilor de Busuioacă de Bohotin prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC) a evidențiat următoarele:
- ✓ Biotipul roz a condus la obținerea unor vinuri cu un conținut global mai ridicat în acizi organici în timp ce biotipul vânat a înregistrat o concentrație mai mare în acid shikimic;
- ✓ Vinurile obținute prin macerație carbonică au prezentat un conținut mai ridicat în acid acetic, lactic, shikimic și o concentrație mai scăzută în acid malic, iar cele obținute prin criomacerare+microunde au înregistrat un conținut mai scăzut în acid malic și valori ceva mai ridicate ale acidului acetic și lactic;
 - ❖ În urma analizei compușilor fenolici din probele de vin elaborate s-au remarcat următoarele:
- ✓ Vinurile obținute din biotipul roz au prezentat un conținut mai ridicat în acizi fenolici totali față de cele rezultate din biotipul vânat;
- ✓ Analiza profilului antocianilor vinurilor elaborate a permis evidențierea următoarelor concluzii: profilul antocianic al probelor obținute din biotipul vânat este format în ordine descrescătoare din: malvidină, delfinidină, peonidină, petunidină și cianidină în

timp ce biotipul roz a prezentat succesiunea: malvidină, peonidină, petunidină, cianidină și delfinidină;

- ✓ Antocianii acetilați și cumarilați au fost prezenți în procente foarte mici, predominând formele cumarilate;
- ✓ Prin calcularea raportului dintre malvidină și peonidină (Mv/Po) drept marker varietal, s-a reușit diferențierea celor două variații genetice, peonidina prezentând o proporție mai mare de participare la profilul antocianic al vinului de Busuioacă de Bohotin obținut din biotipul roz față de cel rezultat din biotipul vânat;
- ✓ Corelând profilul antocianilor cu calea de biosinteză a acestora se sugerează că activitatea enzimei flavonoid 3'5'-hidroxilaza legată de ramura trihidroxilată a căi de sinteză a antocianilor a fost mai pronunțată în cazul biotipului vânat, având loc și o creșterea a afinității dihidroflavonol-4-reductazei pentru dihidroflavonoli trihidroxilați, acest biotip evidențiindu-se printr-o proporție mai ridicată în malvidină, petunidină și delfinidină; în cazul biotipului roz, se presupune că există o activitate mai accentuată a enzimei flavonoid 3'-hidroxilaza legată de ramura dihidroxilată a antocianilor precum și o creșterea a afinității DFR pentru dihidroflavonoli dihidroxilați, conducând în final la o proporție mai ridicată în peonidină;
- ✓ Macerația carbonică a determinat procentul cel mai scăzut de participare al malvidinei, conducând la imposibilitatea construirii profilului antocianic în cazul vinurilor obținute din biotipul roz;
- ✓ Vinurile de Busuioacă de Bohotin s-au remarcat printr-un conținut foarte scăzut în antociani ($0 \div 30,94$ mg/L) iar dintre cele două variații genetice s-a evidențiat biotipul roz printr-o concentrație mult mai mică în acești compuși de culoare (maxim 7,41 mg/L);
- ✓ Evaluarea conținutului în compuși fenolici prin spectrofotometrie (IPT și IFC) a evidențiat existența unor valori mai ridicate în cazul vinurilor obținute prin termomacerare, microunde, criomacerarea și criomacerare+microunde, în timp ce macerația carbonică a condus la cele mai scăzute valori ale acestor indicatori; s-a mai observat că în cazul biotipului roz, valorile raportului D280/IFC au fost în general subunitare în timp ce vinurile obținute din biotipul vânat au înregistrat valori supraunitare, indicându-se astfel existența unei proporții mai mari de compuși cu însușiri reducătoare în vinurile obținute din biotipul roz;
- ❖ Prin analiza cromatică CIE Lab 76, probele obținute din biotipul roz s-au remarcat prin parametrii cromatici atipici vinurilor de Busuioacă de Bohotin, aceștia exprimând valori foarte apropiate și specifice vinurilor albe;
- ✓ Dintre tehnicile de macerare utilizate ce s-au evidențiat a avea un impact pozitiv asupra caracteristicilor cromatice a vinurilor au fost: termomacerarea, macerarea cu microunde, criomacerarea, criomacerare+microunde, acestea exprimând o intensitate și puritate cromatică mai accentuată, cu un procent mai ridicat de participare a componentei roșii (+a), iar valorile scăzute ale tonalității (H) au indicat predominanța nuanțelor violete; la polul opus se află macerația carbonică, aceasta conducând la obținerea unor vinuri foarte clare, cu o intensitatea slabă a culorii și predominanța nuanțelor portocalii față de cele violete; de asemenea, macerația carbonică a prezentat

cele mai mari valori ale diferențelor de culoare (ΔE), fiind și singura variantă de macerare ce a condus la obținerea unor vinuri în care s-a detectat participarea culorii verzi, specifică vinurilor albe;

- ❖ Evaluarea gaz-cromatografică a compușilor volatili a condus la trasare următoarelor observații:
- ✓ În ceea ce privește conținutul în compuși terpenici, probele obținute din acest soi (ambele biotipuri) s-au evidențiat printr-o concentrație ridicată în linalool urmată de citronelol, nerol, geraniol, hotrienol și α -terpineol; de asemenea, s-a mai detectat și prezența unor forme polioxigenate de terpenoizi precum oxizii furanici și piranici de linalool (*cis* și *trans*), oxidul de nerol și oxidul de roze;
- ✓ Vinurile s-au remarcat prin prezența unui număr mare de compuși esterici, cu o mare diversitate chimică; dintre aceștia, s-a constatat preponderența esterilor etilici a acizilor grași și într-o proporție mai mică a esterilor acetati și a lactonelor;
- ✓ Dintre tehnicile de macerare ce au condus la diferențe notabile în concentrația de compuși volatili se pot menționa: macerația carbonică, criomacerarea, criomacerarea+microunde și macerarea cu ultrasunete;
- ✓ Busuioacă vânăta de Bohotin (biotipul vânat) a înregistrat concentrații mai ridicate în compuși terpenici, alcoolii superiori și esteri față de biotipul roz, fiind astfel mai bogat în compuși de aromă;
- ❖ În urma analizei senzoriale a probelor de Busuioacă de Bohotin, s-au constatat următoarele:
- ✓ Vinurile obținute prin macerație carbonică au înregistrat un punctaj minim pentru majoritatea descriptorilor olfactivi și gustativi în aproape toate probele obținute în cei doi ani de experiment și din cele două biotipuri; o excepție fiind probele obținute din biotipul vânat din anul 2015, acestea obținând scoruri ridicate pentru majoritatea descriptorilor senzoriali, iar o influență puternică a avut-o conținutul ridicat în zaharuri remanente;
- ✓ Criomacerarea s-a evidențiat prin obținerea unor punctaje ridicate în ceea ce privește descriptorii olfactivi precum coriandru, fructe coapte, exotice, uscate, verzi, fân cosit, flori de câmp, condimente, miere, trandafir și cei gustativi: dulce, onctuos, structură, și persistență;
- ✓ Biotipul vânat a condus la obținerea unor vinuri care au exprimat cel mai intens senzațiile olfactive de coriandru, fructe coapte, exotice, uscate și verzi, flori de câmp, condimente, miere, trandafir și cu o persistență de durată, caracteristici tipice soiului;
- ❖ Analiza statistică a Componentelor Principale a permis o bună discriminare a vinurilor în funcție de biotipurile soiului (biotipul roz și vânat) și anul de producție (2014 și 2015) pe baza conținutului în compuși fenolici și volatili;

CHAPTER VI – CONCLUSIONS

Evaluating the physico-chemical composition of the Busuioacă de Bohotin wines elaborated in this study in order to determine the typicity of this variety, it was noticed that its specific traits are influenced by a diversity of elements such as: the genetic variation of the Busuioacă de Bohotin variety (pink or dark violet biotype), their geographical origin (Huși and Averești Viticulture Center), the maceration techniques used *etc.*

- ✓ Thus, examining the physico-chemical analysis of the musts obtained from the two biotypes of the Busuioacă de Bohotin variety, the pink biotype expressed lower values of total acidity;
- ✓ Regarding the influence of the terroir, it was observed that the grapes from the Averești Viticulture Center achieved technological maturity slower (lower sugar content) than to the Huși Viticulture Center;
 - ❖ Reviewing the main parameters of composition of the obtained wines of Busuioacă de Bohotin, the followings were noted:
- ✓ Wine samples obtained from the pink biotype of the Busuioacă de Bohotin variety have generally expressed a higher total acidity compared to the dark violet biotype;
- ✓ Busuioacă de Bohotin wines obtained with the grapes harvested from the Huși Viticulture Center have generally recorded higher values of the main physico-chemical parameters than those obtained from the Averești Viticulture Center;
- ✓ Of the maceration techniques used in the winemaking process were noted: carbonic maceration (lower values of total and non-reducing extract, alcohol and total acidity, and higher volatile acidity values); microwave maceration (higher alcoholic concentration), cryo-maceration (lower values of total acidity) and ultrasound maceration (lower values of total and non-reducing extract, alcoholic strength and total acidity)
 - ❖ Determining the acids profile of Busuioacă de Bohotin wine by high performance liquid chromatography (HPLC) highlighted the followings:
- ✓ The pink biotype led to the production of wines with a higher overall content in organic acids while the dark violet biotype had a higher concentration in shikimic acid;
- ✓ Wines obtained by carbonic maceration showed higher content in acetic, lactic, shikimic acid and a lower concentration of malic acid, and those obtained by cryo-maceration + microwaves recorded a lower content in malic acid and higher values of acetic and lactic acid;
 - ❖ Investigation of the phenolic compounds from the elaborated wine samples, revealed the followings:
- ✓ Pink biotype wines showed a higher content in total phenolic acids (hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids) than those resulted from the dark violet biotype;
- ✓ The analysis of the anthocyanins profile of the obtained wines allowed to highlight the following remarks: the anthocyanins profile of the samples obtained from the dark violet biotype consists of the following compounds in descending order of their participation: malvidine, delphinidine, peonidine, petunidine and cyanidine while the

pink biotype presented the following structure: malvidine, peonidine, petunidine, cyanidine and delphinidine;

- ✓ Acylated anthocyanins (Acetylated + Coumarilated Anthocyanins) from Busuioacă de Bohotin wines were present in very small percentages, and of these compounds prevailed the coumarilated forms;
- ✓ Following the calculation of the ratio between malvidine and peonidine (Mv/Po) and its use as a varietal marker, the two genetic variations were differentiated; the peonidine had a higher proportion of participation in the anthocyanins profile of Busuioacă de Bohotin wine obtained from the pink biotype compared to those resulted from the dark violet biotype;
- ✓ By correlating the profile of anthocyanins with their biosynthesis pathway, it was suggested that the activity of the flavonoid 3'5'-hydroxylase enzyme linked to the trihydroxylated pathway of the anthocyanin synthesis was more pronounced in the case of the dark violet biotype, with an increase in the affinity of DFR (dihydroflavonol-4-reductase) for the trihydroxylated dihydroflavonols, this biotype being highlighted with a higher proportion of malvidine, petunidine and delphinidine; in the case of pink biotype, it is assumed that there is a more pronounced activity of flavonoid 3'-hydroxylase enzyme linked to the dihydroxylated branch of anthocyanins synthesis as well as an increase in DFR affinity for dihydroxylated dihydroflavonols, resulting in a higher proportion of peonidine;
- ✓ The carbonic maceration determined the lowest percentage of maldivine, leading also to the impossibility of building the anthocyanins profile in the case of wines obtained from the pink biotype;
- ✓ Busuioacă de Bohotin wines have been found to have a very low content in anthocyanins ($0 \div 30,94$ mg/L) and amongst the two genetic variations it was highlighted the pink biotype with a much lower concentration in these colour compounds (maximum 7,41 mg/L);
- ✓ Evaluation of the phenolic compounds content by spectrophotometry (TPI and FCI) revealed higher values for wine samples obtained by thermo-maceration (V2), microwave maceration (V3), cryo-maceration (V5) and cryo-maceration + microwaves (V6) while the carbonic maceration (V7) samples had the lowest values of these indeces; it was also noticed that for the pink biotype, TPI/FCI ratios were generally subunitary while the wines obtained from the dark violet biotype recorded supraunitary values, indicating that there is a greater proportion of compounds with reducing properties in wines obtained from the pink biotype;
- ✓ By the CIE Lab 76 chromatic analysis, the samples obtained from the pink biotype were characterized by atypical chromatic parameters of the Busuioacă de Bohotin wines, which expressed close values related to the white wines;
- ✓ From the used maceration techniques that have been shown to have a positive impact on the chromatic characteristics of the obtained wines were the variants V2 (Thermo-maceration), V3 (Microwave maceration), V5 (Cryo-maceration), V6 (Cryo-maceration + Microwave), these samples expressing a higher chromatic intensity and purity, with a higher percentage of the red colour component (+ a) and the low tonality

(H) indicating the predominance of the violet shades; at the opposite pole stands the carbonic maceration (V7), this maceration technique led to obtaining very clear wines, with a low colour intensity and the predominance of orange shades; carbonic maceration also exhibited the highest colour differences values (ΔE), being the only technique of maceration that led to obtain wines in which the green colour was detected (BBR-H-V7-2014) , which is specific to white wines;

❖ The gas-chromatographic evaluation of volatile compounds in Busuioacă de Bohotin wines led to the following observations:

- ✓ As regards the content of terpenic compounds, the samples obtained from this variety (both biotypes) were evidenced by a high concentration in linalool followed by citronellol, nerol, geraniol, hotrienol and α -terpineol, and was also detected the prevalence of polyoxygenated forms of terpenoids such as furan and pyranic linalool oxides (*cis* and *trans*), nerol oxide and rose oxide;
- ✓ From the point of view of the content in esters, the Busuioacă de Bohotin wines have been highlighted by the presence of a large number of ester compounds with a large chemical diversity, of which the predominance of the ethyl esters of fatty acids and in a lower proportion of acetates and lactones was found;
- ✓ Among the maceration techniques that led to notable differences in the concentration of volatile compounds can be mentioned: the carbonic maceration, cryo-maceration, cryo-maceration + microwave and ultrasound maceration;
- ✓ The dark violet biotype had higher concentrations of terpenic compounds, higher alcohols and esters than pink biotype, being consequently richer in flavour compounds;
- ✓ The wines obtained in 2015 have also been remarked with a higher overall content of aromatic compounds than those developed in 2014;
- ❖ The sensory analysis of Busuioacă de Bohotin samples, revealed the followings:
 - ✓ Wine obtained by carbonic maceration have registered a minimum score for most of the olfactory and taste descriptors in almost all samples obtained during the two years of experiment and of the two biotypes; a remarkable exception was presented by the samples obtained in 2015 from the dark violet biotype, these having high scores for most sensory descriptors and a strong influence on these results was the high content of residual sugars;
 - ✓ Cryo-maceration was highlighted by obtaining high scores for olfactory descriptors such as coriander, ripe, exotic, dried and green fruit, hay, wild flowers, spices, honey, rose and taste descriptors like structure and persistence;
 - ✓ Dark violet biotype has led to wines that have expressed the most intense olfactory sensations of coriander, ripe, exotic, dried and green fruits, wild flowers, spices, honey, rose and lasting persistence, characteristic of the variety;
- ❖ The PCA statistical analysis (Principal Components Analysis) allowed a good classification of the Busuioacă de Bohotin wines according to the variety biotypes (dark violet and pink biotype) and the year of production (2014 and 2015) based on the content of phenolic and volatile compounds;

BIBLIOGRAFIE

1. Antonelli A., Castellari L., Zambonelli C., & Carnacini A., 1999- *Yeast influence on volatile composition of wines*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 47, p. 1139–1144.
2. Ashidate K., Kawamura M., Mimura D., Tohda H., Miyazaki S., Teramoto T., et al., 2005- *Gentisic acid, an aspirin metabolite, inhibits oxidation of low-density lipoprotein and the formation of cholesterol ester hydroperoxides in human plasma*, European Journal of Pharmacology, vol. 513, p. 173–179.
3. Antalick G., Tempere S., Suklje K., Blackman J.W., Deloire A., de Revel G., Schmidtke L.M., 2015- *Investigation and sensory characterization of 1,4 cineole: new potential aromatic marker of Australian Cabernet Sauvignon wine*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol.63, nr. 41, p. 9103–9111.
4. Azuma A., Kobayashi S., Mitani N., Shiraishi M., Yamasa M., Ueno T., Kono A., Yakushiji H., Koshita Y., 2008- *Genomic and genetic analysis of Myb-related genes that regulate anthocyanin biosynthesis in grape berry skin*, Theor. Appl. Genet., vol. 117, p. 1009-1019.
5. Álvarez I., Aleixandre J.L., Garcia M.J., Lizama V., 2006- *Impact of pre-fermentative maceration on the phenolic and volatile compounds in Monastrell red wines*, Anal Chim Acta, vol. 563, p. 109–115.
6. Baderschneider B., Winterhalter P., 2001- *Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids, and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol.49, nr.6, p.2788–2798.
7. Boss P.K., Davies C., Robinson S.P., 1996- *Expression of anthocyanin biosynthesis pathway genes in red and white grapes*, Plant Mol. Biol., vol. 32, p. 565–569.
8. Boss P.K., Davies C., Robinson S.P., 1996- *Anthocyanin composition and anthocyanin pathway gene expression in grapevine sports differing in berry skin colour*, Aust. J.Grape Wine Res., vol.2, p. 163–170.
9. Boss P.K., Davies C., Robinson S.P., 1996- *Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing Vitis vinifera L. cv Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation*, Plant Physiol., vol. 111, p. 1059–1066.
10. Boulton R., 2001- *The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review*, Am. J. Enol. Vitic., vol. 52, p. 67–87.
11. Barre P., 1969- *Rendement en levure des jus provenant de baies de raisin placées en atmosphère carbonique*, C. R. Acad. Agric., France, vol. 55, p. 1274–1277.
12. Bernaz D., Hogaş C., şi Billeau A., 1937- *Tratatul de viticultură*, vol I, Tipografia Huşi.
13. Barrio-Galán, R., Medel-Marabolí M., and Peña-Neira A., 2016- *Effect of different ageing techniques on the polysaccharide and phenolic composition and sensorial characteristics of Chardonnay white wines fermented with different selected Saccharomyces Cerevisiae yeast strains*, Eur. Food Res. Technol., vol. 242, p. 1069–1085.
14. Belmiro T.M.C., Pereira C.F., Silveira Paim Ana Paula, 2017- *Red wines from South America: Content of phenolic compounds and chemometric distinction by origin*, Microchemical Journal, vol.133, p. 114-120.

15. Berrueta L. A., Alonso-Salces R. M., Héberger K., 2007- *Supervised pattern recognition in food analysis*, J. Chrom. A., vol. 1158, p. 196-214;
16. Beverland M., 2005- "*Crafting brand authenticity: the case of luxury wines*", Journal of Management Studies, vol. 42, nr.5, p. 1003-1029.
17. Beverland M., 2006- "*The 'real thing': branding authenticity in the luxury wine trade*", Journal of Business Research, vol.59, nr.2, p. 251-258.
18. Blazquez R.I., Smith P. A., and Bartowsky E. J., 2012- *Influence of choice of yeasts on volatile fermentation-derived compounds, colour and phenolics composition in Cabernet Sauvignon wine*, World J. Microbio. Biotechnol., vol. 28(12), p. 3311–3321.
19. Budić-Leto Irena, Zdunić G., Gajdoš-Kljusurić J., Mucalo A., Vrhovšek U., 2017- *Differentiation between Croatian dessert wine Prošek and dry wines based on phenolic composition*, Journal of Food Composition and Analysis, vol. 62, p. 211-216.
20. Coulter A.D., Godden P.W., & Pretorius I.S., 2004- *Succinic acid – How it is formed, what is its effect on titratable acidity, and what factors influence its concentration in wine?* Australian and New Zealand Wine Industry Journal, vol. 19, p.16–20, 21–25.
21. Cotea D.V., Zănoagă V.C., Cotea V.V., 2009 - *Tratat de oenochimie*, vol.1, Editura Academiei Române, București, p. 50, 87, 101, 103, 111, 209, 213, 220, 247, 338.
22. Cotea V. D., Zănoagă C., Cotea V. V., 2009 – „*Tratat de oenochimie*”, vol II, Editura Academiei Române, București, p. 94, 603, 802.
23. Cotea V. D., Cireașă Elena, Ciobanu A., Cotea Victoria, 1970 – „*Unele observații privind valoarea indicelui glico-acidic la câteva soiuri de viță pentru vin în podgoria Copou-Iași. Studiu și cercetări științifice*”, Institutul Pedagogic, Bacău.
24. Cotea V.D ș.a., 1967- *Câteva aspecte privitoare la obținerea vinurilor porfirii aromate*, Lucrări științifice a Institutului agronomic Iași.
25. Cotea D.V., Cotea V.V., Aghiorghesei A., 1990- *Îmbunătățirea calității vinului de Busuioacă de Bohotin la I.A.S. Husi*, Cercetari Agronomice in Moldova, vol. 1, Iasi, ISSN 0379-5837.
26. Cotea D.V., Sauciuc J., Cotea, V.V., 1990- *Aspects concernant la technologie de la production du vin Busuioaca de Bohotin*, Lucrari stiintifice, vol. 32, seria Horticultura, Institutul Agronomic Iasi, ISSN 1454-7376.
27. Cotea D.V., Sauciuc J., Cotea V.V., 1991- *La technologie du vin de liqueur Busuioaca de Bohotin*, Les Technologies des vins de liqueurs, Office International de la Vigne et du Vin, 2-8 septembre, Paris.
28. Cotea D.V., Sauciuc J., Cotea V.V., Odăgeriu GH., 1993- *Aspects concernant le vin doux de Cotnari et le vin de liqueur Busuioaca de Bohotin de Roumanie*, 24-e Symposium International de l'O.I.V., 31 mai , 5 Juin, Grece.
29. Cotea V.D., Barbu N., Grigorescu C., Cotea V.V., 2000–*Podgoriile și vinurile României*, Editura Academiei Române, București, p.148-158.
30. Cotea V.D., 1985- *Tratat de oenologie*, vol. 1. Vinificația și biochimia vinului, Editura Ceres, București, p.520.
31. Coote N., Kirsop B. H., 1974- *The content of some organic acid in beer and other fermented media*, Journal of the Institute of Brewing, vol.80, nr.5, p. 474-483.

32. Cortell J.M., Halbleib M., Gallagher A.V., Righetti T.L., Kennedy J.A., 2007- *Influence of vine vigor on grape (Vitis vinifera L. cv. Pinot Noir) anthocyanins.1. anthocyanin concentration and composition in fruit*, J. Agric. Food Chem., vol. 55, p. 6575–6584.
33. Constantinescu G., Negreanu E., Lăzărescu V., Poenaru I., Alexei O., Boureanu C., 1960- *Ampelografia R.P.R.*, vol III, Ed. Academiei R.P.R., Bucuresti, Romania.
34. Clarke R.O. ș.a., 2001- *Encyclopedia of Grapes*, Harcourt Books, p. 146-153.
35. Cotrău A., Cotea V.V., Sorea Ancuta, Nicoara V., 1983-1984, *Cercetari privind optimizarea procesului de macerare-fermentare a mustului in vederea obtinerii vinului porfiriu aromat Busuioaca de Bohotin*, Lucrari stiintifice, vol. 27-28, seria Horticultura, Institutul Agronomic Iasi, ISSN 1454-7376.
36. Colibaba Lucia-Cintia, Lacureanu G., Cotea V.V.; Tudose-Sandu-Ville Ș., Nechita B., 2009-*Identification of Tamaioasa Romaneasca and Busuioaca de Bohotin Wines Aromatic Compounds from Pietroasa Vineyard*, Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca, Horticulture, vol.66 (1), p. 309-314.
37. Colibaba Lucia-Cintia, Cotea V.V., Niculaua M., Schmarr H-G., 2012- *Volatile compounds captured in exhaust CO2 flow during the fermentation of Busuioacă de Bohotin wine*, Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ), vol. 11 (11), p. 1895-1900.
38. Colibaba Lucia-Cintia, Cotea V.V., Lacureanu F.G., Tudose-Sandu-Ville Ș., Rotaru Liliana, Niculaua M., Luchian C.E., 2015- *Studies of phenolic and aromatic profile of Busuioacă de Bohotin wines*, BIO Web of Conferences, 38th World Congress of Vine and Wine (Part 1), vol.5.
39. Carew Anna L., Warwick Gill, Dugald C. Close and Robert G. Dambergs, 2014- *Microwave Maceration with Early Press Off Improves 2 Phenolics and Fermentation Kinetics in Pinot noir*, Am J Enol Vitic., vol. 65, p. 401-406.
40. Cornelis Van Leeuwen and Gerard Seguin, 2006-*The Concept of Terroir in Viticulture*, Journal of Wine Research, vol. 17, nr. 1, p. 1–10.
41. Chauvet J., Brechot P., 1982- *Sciences des Aliments*, 2, 495.
42. Constant'ı M., Reguant C., Poblet M., Zamora F., Mas A., Guillaum'on J.M., 1998- *Molecular analysis of yeast population dynamis: Effect of sulphur dioxide and the inoculum in must fermentation*, Int. J. Food Microbiol., vol. 41, p. 169–175.
43. Casabianca F., Sylvander B., Noel Y., Beranger C., Coulon J.B., Roncin F., 2005- *INRA–INAO, Colloque International de restitution des travaux de recherches sur les indications et appellations d'origine géographiques*, Paris (France), p.199.
44. Cabezudo M., Herraiz M., de Gorostiza E., 1983- *On the main analytical characteristics for solving enological problems*, Process Biochem vol.8, p. 7-23.
45. Cadot Y., Caille S., Thiolllet-Scholtus M., Samson A., Barbeau G., Cheynier V., 2012- *“Characterisation of typicality for wines related to terroir by conceptual and by perceptual representations: an application to red wines from the Loire Valley”*, Food Quality and Preference, vol. 24, nr.1, p. 48-58.
46. Cejudo-Bastante M.J., Hermosin-Gutierrez I., Perez-Coello M.S., 2013- *Accelerated Aging against Conventional Storage: Effects on the Volatile Composition of Chardonnay White Wines*, Journal of Food Science, vol. 78, Issue 4, p. 507–513.

47. Cevallos-Cevallos J.M., Reyes-De-Corcuera J. I., Etxeberria E., Danyluk M.D., & Rodrick G.E., 2009- *Metabolomic analysis in food science: A review*, *Trends in Food Science & Technology*, vol. 20(11–12), p. 557–566.
48. Chabreyrie D., Chauvet S., Guyon F., Salagoity Marie-Hélène, Antinelli J.F., Medina B., 2008- *Characterization and Quantification of Grape Variety by Means of Shikimic Acid Concentration and Protein Fingerprint in Still White Wines*, *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, (16), p. 6785–6790.
49. Coetzee C., Van Wyngaard E., Šuklje K., Ferreira A.C.S., du Toit W., 2016- *Chemical and Sensory Study on the Evolution of Aromatic and Nonaromatic Compounds during the Progressive Oxidative Storage of a Sauvignon blanc Wine*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.64 (42), p. 7979–7993.
50. Covas M. I., Gamber P., Fito M., and de la Torre R., 2010- *Wine and oxidative stress: Up-to-date evidence of the effects of moderate wine consumption on oxidative damage in humans*, *Atherosclerosis*, vol. 208, p. 297–304.
51. Chemat F., Khan M.K., 2011- *Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction*, *Ultrason. Sonochem.*, vol. 18, p. 813–835.
52. Dai Z.W., Ollat N., Gomes E., Decroocq S., Tandonnet J-P., Bordenave L., Pieri P., Hilbert G., Kappel C., van Leeuwen C., Vivin P., Delrot S., 2011- *Ecophysiological, genetic, and molecular causes of variation in grape berry weight and composition: a review*, *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 62, p. 413–425.
53. Downey M.O., Dokoozlian N.K., Krstic M.P., 2006- *Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research*, *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 57, p. 257–268.
54. Dourtoglou V.G., Yannovits N.G., Tychopoulos V.G., Vamvakis M.M., 1994- *Effect of storage under CO₂ atmosphere on the volatile, amino acid and pigment constituents in the red grape (Vitis vinifera L. var Agiorgitiko)*, *J. Agric. Food Chem.*, vol. 42, p. 338–344.
55. De Lorenzis G., Squadrito M., Rossoni M., Simone di Lorenzo G., Brancadoro L., Scienza A., 2017- *Study of intra-varietal diversity in biotypes of Aglianico and Muscat of Alexandria (Vitis vinifera L.) cultivars*, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, vol. 23, Issue 1, p. 132–142.
56. Dettmer K., Aronov P. A., & Hammock B.D., 2007- *Mass spectrometry-based metabolomics*, *Mass Spectrometry Reviews*, vol. 26(1), p. 51–78.
57. Dudareva N., Negre F., Nagegowda D.A., Orlova I., 2006- *Plant volatiles: recent advances and future perspectives*, *Crit. Rev. Plant Sci.*, vol. 25, p. 417–440.
58. Davidis, X.O., 1967- *An Introduction to Ampelography*, Privately printed, Athens (in Greek).
59. Dejeu L., 2010 – *Viticultură*, Editura Ceres, București.
60. Eglinton J. M., McWilliam S. J., Fogarty M. W., Francis I. L., Kwiatkowski M. J., Høj P. B., & Henschke P.A., 2000- *The effect of Saccharomyces bayanus-mediated fermentation on the chemical composition and aroma profile of Chardonnay wine*, *Australian Journal of Grape and Wine Research*, vol.6, p.190–196.

61. Ebeler S.E., 2011 - *Progress in authentication of Food and Wine*, ACS Symposium Series 1081, American Chemical Society: Washington, DC.
62. Ferrandino A., Carra A., Rolle L., Schneider A., & Schubert A., 2012- *Profiling of hydroxycinnamoyl tartrates and acylated anthocyanins in the skin of 34 Vitis vinifera genotypes*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 60, p. 4931–4945.
63. Flanzy C., Flanzy M. and Benard P. 1987- *La vinification par maceration carbonique*, INRA, Paris.
64. Fleet G.H., Heard G.M., 1993- *Yeast-growth during fermentation*, In G.H. Fleet (Ed.), Wine Microbiology and Biotechnology, Reading: Hrawood Academic, p. 27–54.
65. Fernández E., Cortés S. M., Castro M., Gil M., Gil M. L., 1999- *Distribution of free and glycosidically bound mono-terpenes and norisoprenoides in the skin and pulp of Albariño grapes during 1998 maturation*, In Oenologie 99. 6e Symposium International d'Oenologie 594 Bordeaux, June 1999. A. Lonvaud-Funel (ed.), Tec & Doc, Paris, p. 161-164.
66. Fiehn O., 2002 - *Metabolomics – the link between genotypes and phenotypes*, Plant Mol. Biol., vol.48, p. 155–171.
67. Galet P., 1957- *Cepages et Vinobles de France*, Les Cepages de Cuve, vol.11, D. Dehan, Montpellier.
68. Giudici P., Zambonelli C., Passarelli P., & Castellari L., 1995- *Improvement of wine composition with cryotolerant Saccharomyces strains*, American Journal of Enology and Viticulture, vo. 46, p.143–147.
69. Gonzalez-San Jose M.L., Santa-Maria G., Diez C., 1990- *Anthocyanins as parameters for differentiating wines by grape variety, wine-growing region, and wine-making methods*, J. Food Compos. Anal., vol.3, p. 54–66.
70. González-Neves G., Favre G., Gil G., Ferrer M., & Charamelo D., 2015- *Effect of cold pre-fermentative maceration on the color and composition of young red wines cv. Tannat*, Journal of Food Science and Technology, vol. 52(6), p. 3449-3457.
71. González-Neves G., Favre G., Piccardo D., & Gil G., 2016- *Anthocyanin profile of young red wines of Tannat, Syrah and Merlot made using maceration enzymes and cold soak*, International Journal of Food Science & Technology, vol. 51(1), p. 260-267.
72. Gade D.W., 2004- *“Tradition, territory and terroir in French viniculture: Cassis, France and appellation controlee”*, Annals of the Association of American Geographers, vol.94 nr. 4, p. 848-876.
73. Gordillo B., Lopez-Infante M.I., Ramirez-Perez P., Gonzalez-Miret M.L., Heredia F.J., 2010- *Influence of pre-fermentative cold maceration on the color and anthocyanic copigmentation of organic tempranillo wines elaborated in a warm climate*, J Agric Food Chem, vol. 58, p. 6797–6803.
74. Gomez E., Martinez A., Laencina J., 1994- *Localization of free and bound aromatic 607 compounds among skin, juice and pulp fractions of some grape varieties*, Vitis, vol. 33, p. 1-4.
75. Ghaste N., Narduzzi L., Carlin S., Vrhovsek U., Shulaev V., Mattivi F., 2015-*Chemical composition of volatile aroma metabolites and their glycosylated precursors that can uniquely differentiate individual grape cultivars*, Food Chemistry, vol.188, p. 309–319.

76. Gracin L., Jambrak A.R., Juretic' H., Dobrovic' S., Barukc'ic' I., Grozdanovic' M., Smoljanic' G., 2015- *Influence of high power ultrasound on Brettanomyces and lactic acid bacteria in wine in continuous flow treatment*, Appl. Acoust.
77. Gramatica P., Manitto P., Maria Ranzi B., Delbianco A., Francavilla M., 1982- *Stereospecific reduction of geraniol to (R)-(+)-citronellol by Saccharomyces cerevisiae*, Experientia 1982, vol. 38, p. 775-6.
78. Garcia Moruno E., Ribaldone M., Di Stefano R., Conterno L., Gandini A., 2004- *Study of five strains of Saccharomyces cerevisiae with regard to their metabolism towards geraniol*, J. Int. Sci. Vigne Vin 2004, vol. 36, p. 221-5.
79. Garcia Florenciano, E. et al., 1992- *Pattern of anthocyanin deposition in vacuoles of suspension cultured grapevine cells*, Int.J.Exp.Bot., vol. 53, p. 47.
80. Hogaş C., 1927- *Observaţiuni asupra varietăţilor de struguri din podgoria Huşi*, Broşură, Tipografia Huşi.
81. Hogaş C., 1926- *Varietatea Busuioacă de Bohotin-Huşi-originea*, ziarul "Podgoria".
82. Hogaş C., 1926- *Studii şi cercetări viticole la Huşi*, vol II, p.174.
83. Heredia F.J., Francia-Aricha E.M., Rivas-Gonzalo J.C., Vicario I.M., Santos-Buelga C., 1998- *Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes - I. pH effect*, Food Chem., vol. 63, p.491–498.
84. Hornsey I.S., 2007- *The Chemistry and Biology of Winemaking*, The Royal Society of Chemistry, ISBN-13: 978-0-85404-266-1, p.86-87.
85. Hoz A., Diaz-Ortiz A., Moreno A., 2005- *Microwaves in organic synthesis: Thermal and non-thermal microwave effects*, Chemical Society Reviews, vol. 34, p. 164–178.
86. Hernández-Orte P., Ibarz M.J., Cacho J., Ferreira V., 2005- *Effect of the addition of ammonium and amino acids to musts of Airen variety on aromatic composition and sensory properties of the obtained wine*, Food Chem., vol. 89, p. 163-174.
87. Hernández-Orte P., Francob E., González Huerta C., García Juana Martínez., Cabellos M., Suberviola J., Orriols I., Cacho J., 2014- *Criteria to discriminate between wines aged in oak barrels and macerated with oak fragments*, Food Research International, vol.57, p. 234–241.
88. Houtman A.C., Du Plessis C.S., 1981- *The effect of juice clarity and several conditions promoting yeast growth on fermentation rate, the production of aroma components and wine quality*, South African Journal of Enology and Viticulture, vol. 2, p. 71–81.
89. Haşdeu B.P., 1884- *"Răspuns la chestionarul lingvistic"*.
90. Hall R. D., 2006- *Plant metabolomics: From holistic hope, to hype, to hot topic*, New Phytologist, vol. 169(3), p. 453–468.
91. He F., Liang N. N., Mu L., Pan Q. H., Wang J., Reeves M. J., & Duan C. Q., 2012- *Anthocyanins and their variation in red wines II. Anthocyanin derived pigments and their color evolution*, Molecules, vol. 17(2), p. 1483-1519.
92. He F., Mu L., Yan G-L., Liang N-N., Pan Q-H., Wang J., Reeves M.J., Duan C-Q., 2010- *Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes*, Molecules vol. 15, p. 9057–9091.
93. Heras-Roger J., Díaz-Romero C., & Darias-Martín J., 2016- *A comprehensive study of red wine properties according to variety*, Food Chemistry, vol. 1(196), p. 1224-1231.

94. Herrero M., 2012 - *Foodomics: MS-based strategies in modern food science and nutrition*, Mass Spectrometry Reviews, vol.31, p. 49-69.
95. Hong V., & Wrolstad R.E., 1990- *Characterization of anthocyanin-containing colorants and fruit juices by HPLC/photodiode array detection*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 38(3), p. 698-708.
96. Issanchou S., & Lesschaevé I., 1995- *Screening individual ability to perform descriptive analysis of food products: Basic statements and application to a camembert cheese descriptive panel*, Journal of Sensory Studies, vol.10, p. 349–368.
97. Ikawa M., Dollard, Catherine, Schaper A.T., 1988- *Reaction of Folin-Ciocalteu phenol reagent with purines, pyrimidines, and pteridines and its relationship to structure*, Agric. Food Chem., vol. 36, nr.2, p. 309–311.
98. Imazio S., Labra M., Grassi F., Winfield M., Bardini M., Scienza A., 2002- *Molecular tools for clone identification: the case of the grapevine cultivar “Traminer”*, Plant Breed., vol. 121, p. 531–535.
99. Itoh A., Isoda K., Kondoh M., Kawase M., Watari A., Kobayashi M., et al., 2010- *Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on CCl₄-induced liver injury*, Biological and Pharmaceutical Bulletin, vol. 33, p. 983–987.
100. Ivanova-Petropoulos Violeta, Hermosín-Gutiérrez I., Boros B., Stefova Marina, Stafilov T., Vojnoski B., Dörnyei A., Kilár F., 2015- *Phenolic compounds and antioxidant activity of Macedonian red wines*, Journal of Food Composition and Analysis, vol.41, p. 1-14.
101. Ivanova Violeta, Stefova Marina, Vojnoski B., Stafilov T., Bíró I., Bufa A., Felinger A., Kilár F., 2013- *Volatile Composition of Macedonian and Hungarian Wines Assessed by GC/MS*, Food and Bioprocess Technology, vol.6, Issue 6, p. 1609–1617.
102. Jackson R.S., 2008- *Wine Science Principle and Applications*, 3rd ed.; Academic Press: Burlington, VT, USA, p. 287-295.
103. Jennifer Burns, William Mullen, Nicholas Landrault, Pierre-Louis Teissedre, Michael E. J. Lean, and Alan Crozier, 2002- *Variations in the Profile and Content of Anthocyanins in Wines Made from Cabernet Sauvignon and Hybrid Grapes*, J. Agric. Food Chem., vol. 50, nr.14, p. 4096–4102.
104. Joslin W.S., Ough C.S., 1978- *Cause and fate of certain C₆ compounds formed enzymatically in macerated grape leaves during harvest and wine fermentation*, Am.J. Enol. Vitic., vol. 29, p. 11–17.
105. Jesus D., Campos F.M., Ferreira M., Couto J.A., 2017- *Characterization of the aroma and colour profiles of fortified Muscat wines: comparison of Muscat Blanc “à petit grains” grape variety with Red Muscat*, European Food Research and Technology, vol. 243, Issue 7, p. 1277–1285.
106. Kandler O., 1983- *Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria*, Anton. Leeuw, vol. 49, p. 209–224.
107. Kallithraka S., Salachaa M. I., & Tzouroua I., 2009- *Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage*, Food Chemistry, vol.113, nr.2, p.500–505.

108. Kallithraka S., Mamalos A., Makris D.P., 2007- *Differentiation of young red wines based on chemometrics of minor polyphenolic constituents*, J. Agric. Food Chem., vol. 55, p. 3233–3239.
109. Kong W.K., Zhao Y.L., Shan L.M., Xiao X.H., & Guo W.Y., 2008- *Thermochemical studies on the quantity-antibacterial effect relationship of four organic acids from Radix isatidis on Escherichia coli growth*, Biological and Pharmaceutical Bulletin, vol. 31, p. 1301–1305.
110. Kordis-Krapez M., Abram V., Ka M., Ferjancic S., 2001- *Determination of organic acids in white wines by RP-HPLC*, Food Technology and Biotechnology, vol. 39, p. 93–99.
111. Klingshirn L.M., Liu J.R., Gallander J.F., 1987- *Higher alcohol formation in wines as related to the particle size profiles of juice insoluble solids*, American Journal of Enology and Viticulture, vol. 38, p. 207–210.
112. Katarina F., Katarina M., Katarina D., Ivan S., Fedor M., 2014- *Influence of yeast strain on aromatic profile of Gewürztraminer wine*, LWT - Food Science and Technology, vol.59, p. 256-262.
113. Kobayashi S., Ishimaru M., Ding C.K., Yakushiji H., Goto N., 2001- *Comparison of UDPglucose:flavonoid 3-O-glucosyltransferase (UGT) gene sequences between white grapes (Vitis vinifera) and their sports with red skin*, Plant Sci., vol. 160, p. 543–550.
114. Kobayashi S., Goto-Yamamoto N., Hirochika H., 2004- *Retrotransposon-induced mutations in grape skin color*, Science, vol. 304, p. 982.
115. Kobayashi S., Goto-Yamamoto N., Hirochika H., 2005- *Association of VvmybA1 gene expression with anthocyanin production in grape (Vitis vinifera) skin-color mutants*, J. Jpn. Soc. Hortic. Sci., vol. 74, nr. 3, p. 196–203.
116. König H., Unden G., Fröhlich J., 2009- *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, Editura Springer, Verlag Berlin Heidelberg, p. 307.
117. Lima M.T. R., Waffo-Tégou P., Teissedre P.L., Pujolas A., Vercauteren J., Cabanis J. C., 1999- *Determination of stilbenes (trans-astringin, cis- and trans-piceid, and cis- and trans-resveratrol) in Portuguese wines*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 47, nr.7, p. 2666–2670.
118. Lăcureanu F.G., Cotea V.V., Colibaba Cintia, Niculaua M., Nechita B., 2011- *Compusi fenolici in vinurile de Busuioaca de Bohotin obtinute prin diverse tehnologii de macerare*, Lucrări științifice, anul LIV, vol.54 (2), seria Horticultură, USAMV Iași, ISSN. 1454-7376, p. 291-294.
119. Lăcureanu F.G., Cotea V.V., Colibaba Lucia-Cintia, Niculaua M., 2012- *Compounds trapped in the CO2 flow of Busuioacă de Bohotin alcoholic fermentation*, Lucrări științifice, anul LV, vol. 55, nr. 2, seria Agricultură, USAMV Iași, p. 435-438.
120. Lăcureanu F.G., 2015- *"Studiul potențialului oenologic al soiului Busuioacă de Bohotin în condițiile podgoriei Dealu Mare"*, Teză de doctorat, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” Iași.
121. Lawless H. T., & Heymann H., 1998- *Sensory evaluation of food: principals and practices*, New York: Chapman and Hall.
122. López B.C., Gómez A.S., Rey G.M., Cancho G.B., Simal G.S., 2006- *Determination of pesticides by solid phase extraction followed by gas chromatography with nitrogen–*

phosphorous detection in natural water and comparison with solvent drop microextraction, Analytical and Bioanalytical Chemistry, vol. 384, p. 1002-1006.

123. Lopes P., Richard T., Saucier C., Teissedre P-L., Monti J-P., Glories Y., 2007- *Anthocyanone A: A quinone methide derivative resulting from malvidin 3-O-glucoside degradation*, J. Agric. Food Chem., vol. 55, p. 2698–2704.

124. Labov W., 1973- *New Ways of Analyzing Variation in English*, Georgetown Univ. Press, Washington, p. 340.

125. Lovino R., Baiano A., Pati S., Faccia M., & Gambacorta G., 2006- *Phenolic composition of red grape grown in Southern Italy*, Italian Journal of Food Science, vol. 18, p. 177–186.

126. Lin A.N., & Nakatsui T., 1998- *Salicylic acid revisited*, International Journal of Dermatology, vol. 37, p. 335–342.

127. Lindley J., Mason T., 1987- *Sonochemistry-synthetic applications*, Chemical Society Reviews, vol. 16, p. 275–311.

128. Letablier M.T., Nicolas F., 1994- *Genèse de la typicité*, Sciences des Aliments vol.14 p.541.

129. Letellier M., Budzinski H., 1999- *Microwave assisted extraction of organic compounds*, Analysis, vol. 27, p. 259–271.

130. Lisanti M. T., Gambuti A., Genovese A., Piombino P., Moio L., 2013- *Partial dealcoholization of red wines by membrane contactor technique: effect on sensory characteristics and volatile composition*, Food and Bioprocess Technology, vol. 6(9), p. 2289-2305.

131. Lisanti M. T., Gambuti A., Genovese A., Piombino P., Moio L., 2017- *Treatment by fining agents of red wine affected by phenolic off-odour*, European Food Research and Technology, vol. 243(3), p. 501-510.

132. „Lista Internațională a Soiurilor de Viță de vie și Sinonimele lor” (OIV 2013)- *International List of Vine Varieties and their Synonyms*. O I V (Off. Int. Vigne Vin), Paris, France, available online at <http://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/description-of-grape-varieties/international-list-of-vine-varieties-and-their-synonyms>, (08.05.2014).

133. Lukic I., Horvat I., 2017- *Differentiation of Istrian PDO Wines by Aroma Profiling*, Food Technol. Biotechnol., vol. 55 (1), p. 95–108.

134. Lukic I., Radeka S., Grozaj N., Staver M., Peršuric D., 2016- *Changes in physico-chemical and volatile aroma compound composition of Gewürztraminer wine as a result of late and ice harvest*, Food Chemistry, vol.196, p. 1048–1057.

135. Martin O., Zhang Q., Castro A.J., Barbosa-Canovas G.V., Swanson., 1994–*Review-Pulse electric fields of high voltage to preserve foods: microbiological and engineering aspects of the process*, Agris, vol.34, nr.1.

136. Monagas M., Nuñez V., Bartolomé B., & Gómez-Cordovés C., 2003- *Anthocyanin derived pigments in Graciano, Tempranillo and Cabernet-Sauvignon wines produced in Spain*, American Journal of Enology and Viticulture, vol. 54, p. 163–169.

137. Monagas M., Bartolomé B., Gómez-Cordovés C., 2005- *Evolution of polyphenols in red wines from Vitis vinifera L. during aging in the bottle*, Eur. Food Res. Technol., vol. 220, p. 331–340.
138. Mason T.J., 1998- *Power ultrasound in food processing – The way forward*, In Povey, M. J. W., & Mason T.J. (Eds.), *Ultrasound in food processing*. London: Blackie Academic and Professional.
139. Ma Y., Tang K., Xu Y., Li J., 2017- *Characterization of the Key Aroma Compounds in Chinese Vidal Icewine by Gas Chromatography–Olfactometry, Quantitative Measurements, Aroma Recombination, and Omission Tests*, J. Agric. Food Chem., vol. 65 (2), p. 394–401.
140. Martí M. P., Busto O., Guasch J., 2004- *Application of a headspace mass spectrometry system to the differentiation and classification of wines according to their origin, variety and ageing*, Journal of chromatography A, vol. 1057(1), p. 211-217.
141. McRae J. M., Schulkin A., Kassara S., Holt H. E., and Smith P.A., 2013- *Sensory properties of wine tannin fractions: implications for in-mouth sensory properties*, J. Agric. Food Chem., vol. 61(3), p. 719–727.
142. Medina B., Salagoity M. H., Guyon F., & Gaye J., 2013- *Using new analytical approaches to verify the origin of wine*. In P. Brereton (Ed), *New Analytical Approaches for Verifying the Origin of Food*, Woodhead Publishing Limited, p. 149-188.
143. Mercenaro L., Usai G., Fadda C., Nieddu G., del Caro A., 2016- *Intra-varietal Agronomical Variability in Vitis vinifera L. cv. Cannonau Investigated by Fluorescence, Texture and Colorimetric Analysis*, South African Journal of Enology & Viticulture, vol. 37, Issue 1, p.67-78.
144. Muñoz-Redondo J.M., Cuevas F.J., León J.M., Ramírez R., Moreno-Rojas J.M., Ruiz-Moreno María José, 2017-*Quantitative Profiling of Ester Compounds Using HS-SPME-GC-MS and Chemometrics for Assessing Volatile Markers of the Second Fermentation in Bottle*, J. Agric. Food Chem., vol.65 (13), p. 2768–2775.
145. Masuzawa N., Kimura A., Ohdaira E., 2003- *Ultrasonic monitoring of the progress of lactic acid fermentation*, Jpn. J. Appl. Phys., vol. 42, p. 2963.
146. Marais J., Van Wyk C., Rapp A., 1992- *Effect of storage time, temperature and region on the levels of 1,1,6-Trimethyl-1, 2-dihydronaphthalene and other volatiles, and on quality of Weisser Riesling wines*, S Afr J Enol Vitic 1992, vol. 13, p. 33-44.
147. Neamțu C., Varna P., Cotea V.V., 1988- *Preocupari privind selectia clonala la soiul Busuioaca de Bohotin din podgoriile judetului Vaslui*, Cercetari Agronomice in Moldova, vol. 4, Iasi, ISSN 0379-5837.
148. Nogales-Bueno J., Rodríguez-Pulido F. J., Heredia F. J., & Hernández-Hierro J.M., 2015- *Comparative study on the use of anthocyanin profile, color image analysis and near-infrared hyperspectral imaging as tools to discriminate between four autochthonous red grape cultivars from La Rioja (Spain)*, Talanta, vol. 131, p. 412-416.
149. Novoa-Díaz D., Rodríguez-Nogales J.M., Fernández-Fernández E., Vila-Crespo J., García-Álvarez J., Amer M.A., Chávez J.A., Turó A., García-Hernández M.J., Salazar J., 2014- *Ultrasonic monitoring of malolactic fermentation in red wines*, Ultrasonics, vol. 54, p. 1575–1580.

150. Oşlobeanu M., Macici M., Georgescu M., Stoian V., 1991- *Zonarea soiurilor de viță de vie în România*, Ceres Press, București.
151. OIV, 2017 - *Compendium of international methods of wine and must analysis volume 1 and 2*, OIV - 18, RUE D'AGUESSEAU - 75008 PARIS, ISBN : 979-10-91799-64-5
152. Olteanu I., Daniela Cichi, Costea D.C., Mărăcineanu L.C., 2003- *Viticultură specială, Zonarea, Ampelografia, Tehnologiile specifice*, 120-125 p. 187-189.
153. Ong P.K.C, Acree T.E., 1999- *Similarities in the aroma chemistry of Gewürztraminer variety wines an lychee (Litchi chinesis Sonn.)* Fruit, J. Agric. Food Chem., vol. 47, nr. 2, p. 665-670.
154. Oliver S. G., 1998 - *Systematic functional analysis of the yeast genome*, Trends in Biotechnology, vol.16(9), p. 373-378.
155. Oms-Oliu G., Odriozola-Serrano I., & Martín-Belloso O., 2013- *Metabolomics for assessing safety and quality of plant-derived food*, Food Research International, vol. 54(1), p. 1172–1183.
156. Ouyang Q., Zhao J., Chen Q., Lin H., 2013- *Classification of rice wine according to different marked ages using a novel artificial olfactory technique based on colorimetric sensor array*, Food Chemistry, vol.138, p. 1320–1324.
157. Peri P., Kamiloglu S., Capanoglu E., Ozcelik B., 2015- *Investigating the effect of aging on the phenolic content, antioxidant activity and anthocyanins in turkish wines*, J. Food Process. Preserv., vol. 39, p.1845–1853.
158. Pomar F., Novo M., Masa A., 2005- *Varietal differences among the anthocyanin profiles of 50 red table grape cultivars studied by high performance liquid chromatography*, J. Chromatogr. A, vol. 1094, p. 34–41.
159. Puertas B., Jiménez M.J., Cantos-Villar E., Piñeiro Z., 2013- *Effect of the dry ice maceration and oak cask fermentation on colour parameters and sensorial evaluation of Tempranillo wines*, Int J Food Sci Technol, vol. 48, p. 835–842.
160. Patist A., Bates D., 2008- *Ultrasonic innovations in the food industry:From the laboratory to commercial production*, Innovative Food Science & Emerging Technologies, vol. 9, p. 147–154.
161. Peliah M., 1962- *Rascaz o vinograde*, Editura Cartea Moldovenească, Chișinău, R.S.S Moldovenească.
162. Pavloušek P., Kumšta M., 2013- *Authentication of Riesling Wines from the Czech Republic on the Basis of the Non-flavonoid Phenolic Compounds*, Czech Journal of Food Science, vol. 31, issue 5, p. 474-482.
163. Perestrelo Rosa, Silva Catarina , Câmara José S., 2014- *A useful approach for the differentiation of wines according to geographical origin based on global volatile patterns*, Journal of Separation Science, vol.37, Issue 15, p. 1974–1981.
164. Pereira A.C., Reis M.S., Saraiva P.M., Marques J.C., 2010a- *Aroma ageing trends in GC/MS profiles of liqueur wines*, Anal. Chim. Acta., vol.659(1–2), p. 93–101.
165. Picard M., de Revel G., Marchand S., 2017- *First identification of three p-menthane lactones and their potential precursor, menthofuran, in red wines*, Food Chemistry vol. 217, p. 294–302.

166. Pizarro C., Rodríguez-Tecedor S., Esteban-Díez I., Pérez-del-Notario N., González-Sáiz J.M., 2014- *Experimental design approach to evaluate the impact of oak chips and micro-oxygenation on the volatile profile of red wines*, Food Chemistry, vol.148, p. 357–366.
167. Philippidis A., Poulakis E., Basalekou M., Strataridaki A., Kallithraka S.& Velegrakis.M., 2017- *Characterization of Greek Wines by Ultraviolet–Visible Absorption Spectroscopy and Statistical Multivariate Methods*, Analytical Letters, vol.50, Issue 12, p. 1950-1963.
168. Polášková P., Herszage J., & Ebeler S.E., 2008- *Wine flavor: chemistry in a glass*, Chemical Society Reviews, vol.37(11), p. 2478-2489.
169. Pourcel L., Routaboul J.M., Cheynier V., Lepiniec L., & Debeaujon I., 2007- *Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions*, Trends Plant Sci., vol. 12, p. 29–36.
170. Popescu Carmen Florentina, Maul E., Dejeu L.C., Dinu D., Gheorge R. N., Laucou V., Lacombe T., Migliaro D., Crespan M., 2017- *Identification and characterization of Romanian grapevine genetic resources*, Vitis, 56 (4), p.173-180.
171. Rotaru Liliana, 2000 - *Cercetări asupra caracterelor fenotipice și însușirilor biotehnologice la soiurile autohtone de viță de vie, prin utilizarea codurilor și sistemelor de determinare bazate pe ampelometrie*, Teză de doctorat U.S.A.M.V. Iași.
172. Rotaru Liliana, Stoleru V., Petrea G., 2011-*Agrobiological and technological value of Busuioacă de Bohotin grapevine variety in ecosystem of Iasi vineyard*, Annals of the University of Craiova - Agriculture, Montanology, Cadastre Series, vol.41 (1), p.102-106.
173. Rotaru Liliana, 2009- *Identifying the Phenotypic Resemblances of the Vine Breeds by Means of Cluster Analysis*, Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, vol. 37, no.1.
174. Rotaru Liliana, 2009 - *Soiuri de viță de vie pentru struguri de vin*, Ed. „Ion Ionescu de la Brad”, Iași.
175. Reynolds A.G., Stephane Yerle, Watson B., Price S.F., Wardle D.A., 1996- *Fruit Environment and Crop Level Effects on Pinot noir. III. Composition and Descriptive Analysis of Oregon and British Columbia Wines*, Am J Enol Vitic., vol. 47, p. 329-339.
176. Radler F., 1993- *Yeasts – metabolism of organic acids*, In G. H. Fleet (Ed.), Wine Microbiology and Biotechnology, Singapore: Harwood Academic Publishers, p. 165–182.
177. Radler F., 1980- *The metabolism of organic acids by Saccharomyces*, Grape and Wine Centennial Symposium Proceedings, University of California, Davis, p.103—108.
178. Romero-Pérez A.I.; Ibern-Gómez M.; Lamuela-Raventós R. M.; De La Torre-Boronat M.C., 1999- *"Piceid, the Major Resveratrol Derivative in Grape Juices"*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 47, nr. 4, p. 1533–1536.
179. Ros Barcelo, A. et al., 1994- *The histochemical localization of anthocyanins in seeded and seedless grapes (Vitis vinifera)*, Sci.Hortic., vol. 57, p. 265.
180. Rosch E., Mervis C.B., 1975- *Family resemblances: Studies in the internal structure of categories*, Cognitive Psychology vol.7, nr.4, p.573.

181. Roggero J.P., Coen S., & Larice J.L., 1986- *Etude comparative de la composition anthocyanique des cepages Essai. de classification*, Bull. Liaison Gr. Polyphénols, vol. 13, p. 380–388.
182. Río Segade S., Soto Vázquez E., Díaz Losada E., 2008- *Influence of ripeness grade on accumulation and extractability of grape skin anthocyanins in different cultivars*, J. Food Compos. Anal., vol. 21, p. 599–607.
183. Ribereau-Gayon R., 1972- *Evolution des composés phénoliques en cours de la maturation du raisins*, Conn.Vigne Vin, vol. 6, {Journal Article}, p. 161-175.
184. Ribereau-Gayon P., Dubourdieu D., Doneche, B., Lonvaud A., 2000- *Handbook of Enology. The microbiology of wine and vinifications*, vol. 1, Chichester, UK: Wiley& Sons.
185. Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., Dubourdieu D., 2000- *The chemistry of wine: stabilization and treatments. Handbook of enology*, vol. 2. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd, p.15.
186. Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., 2006 – *Handbook of Enology volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications*. 2nd Edition, p. 243-244;261.
187. Ribéreau-Gayon P., Glories Y., Maujean A., & Dubourdieu D., 2006 – *Handbook of enology volume 2: The chemistry of wine. Stabilization and treatments*, Chichester: John Wiley & Sons Ltd., p. 15, 51–64.
188. Ribéreau-Gayon P., Boidron J.N., Terrier A., 1975- *The aroma of Muscat grape variety*, J. Agric. Food Chem., vol. 23, p. 1042-7.
189. Ribéreau-Gayon, P., 1968- *Chapter i notions generals sur les composés phénoliques. In: Les composés phénoliques des végétaux*, p. 5–27.
190. Rapp A.,Versini G., 1996- *Influence of nitrogen on compounds in grapes on aroma compounds in wines*, Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, vol. 51, p. 193–203.
191. Rapp A., 1988- *In Modern Methods of Plant Analysis*, Linskens, H.F.; Jackson, J.F., Eds.; Springer-Verlag: Berlin, New Series, vol. 6, p. 29-66.
192. Rapp A., Mandery H., *Experientia* 1986, vol. 42, p. 873-884
193. Rapp A., Marais J., 1993- *The shelf life of wine: changes in aroma substances during storage and aging of white wines*, In G. Charalambous (Ed.), *The Shelf Life of Foods and Beverages, Chemical, Biological, Physical and Nutritional Aspects*, Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publisher, p. 891–921.
194. Rapp A., Mandery H., 1986- *Wine aroma. Experientia*, vol. 42, p. 873–884.
195. Ragusa A., Centonze C., Grasso Maria E., Latronico Maria F., Mastrangelo P.F., Sparascio Federica., Fanizzi F.P., Maffia M., 2017- *A Comparative Study of Phenols in Apulian Italian Wines*, *Foods*, vol.6, Issue 4, p. 24.
196. Ricardo-da-Silva J. M., Belchior A. P., Spranger M. I., and Bourzeix M., 1992- *Oligomeric procyanidins of three grapevine varieties and wines from portugal*, *Sci. Aliments*, vol. 12, p. 223–237.
197. Ricardo-da-Silva J. M., Bourzeix M., Cheynier V., and Moutounet M., 1991a- *Procyanidin composition of chardonnay, mauzac and grenache blanc grapes*, *Vitis*, vol. 30, p. 245–252.

198. Ricardo-da-Silva J. M., Rigaud J., Cheynier V., Cheminat A., and Moutounet M., 1991c- *Procyanidin dimers and trimers from grape seeds*, *Phytochemistry*, vol. 30, p. 1259–1264.
199. Ruocco Silvia, Stefanini M., Stanstrup J., Perenzoni D., Mattivi F., Vrhovsek U., 2017- *The metabolomic profile of red non-V. vinifera genotypes*, *Food Research International*, vol.98, p. 10-19.
200. Sefc K.M., Lefort F., Grando M.S., Scott K., Steinkellner H., Thomas M.R., 2001- *Microsatellite markers for grapevine: a state of the art*, in: K.A. Roubelakis-Angelakis (Ed.), *Molecular Biology and Biotechnology of Grapevine*, Kluwer Publishers, Amsterdam, p. 407–438.
201. Sefc K.M., Regner F., Turetshek E., Kampfer S., Glossl J., Steinkellner H., 1998- *Microsatellites (SSR) and AFLP: Development and application in genotyping of vine*, *Proceedings of VIIeme Symposium International sur la Genetique et l'Amelioration de la Vigne*, Montpellier.
202. Stroe M.V., Ispas S., Damian I., Bucur G.M., 2009- *Comparative study on the behavior of clonal selection of the main varieties grown in the vineyard Pietroasa*, *Lucrări Științifice, Universitatea de Științe Agricole Și Medicină Veterinară "Ion Ionescu de la Brad" Iași, Seria Horticultură*, vol.52 p.743-748.
203. Sauciuc J., Cotea V.V., Cirimbei P., Varna P., 1988- *Imbunatatirea tehnologiei de producere a vinului Busuioaca de Bohotin*, *Cercetari Agronomice in Moldova*, vol. 4, Iasi, ISSN 0379-5837.
204. Santos M.C., Nunes C., Rocha A.M., Rodrigues A., Rocha Silvia M., Saraiva J.A., Coimbra M.A., 2015- *High pressure treatments accelerate changes in volatile composition of sulphur dioxide-free wine during bottle storage*, *Food Chemistry*, vol.188, p. 406–414.
205. Salette J., 1997- *La typicité une notion nouvelle au service du produit, de ceux qui l'élaborent, et de ceux qui le consomment en l'appréciant*, *Revue des oenologues et des techniques vitivinicoles et oenologicques: magazine trimestriel d'information professionnelle*, vol.24, nr.85, 1997, p.12.
206. Salmon J.M., 1987- *L-malic-acid permeation in resting cells of anaerobically grown Saccharomyces cerevisiae*, *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 901, p. 30–34.
207. Seymour G.B., Taylor J. E., Tucker G. A., 1993- *Biochemistry of Fruit Ripening*, 703 Chapman & Hall, London.
208. Sauvageot F., 1994- *Food science and the concept of typicality, or does researcher in natural sciences have something to say about food typicality?*, *Sciences des Aliments*, vol. 14, p.557.
209. Sen I., & Tokatli F., 2016- *Differentiation of wines with the use of combined data of UV-visible spectra and color characteristics*, *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 45, p. 101-107.
210. Si-Yu L., Bao-Qing L., Reeves M.J., Chang-Qing D., 2017- *Phenolic Analysis and Theoretic Design for Chinese Commercial Wines' Authentication*, *Food Science*, vol.83, issue 1, p. 30–38.
211. Singleton V., Esau P., 1969- *Phenolic Substances in Grapes and Wine and their Significance*, Academic Press, New York, p.108, 121, 173.

212. Soleas G. J., Dam J., Carey M., & Goldberg D.M., 1997- *Toward the fingerprinting of wines: cultivar-related patterns of polyphenolic constituents in Ontario wines*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 45(10), p. 3871-3880.
213. Soubeyrand Eric, Basteau Cyril , Hilbert Ghislaine, Cornelis van Leeuwen, Delrot Serge, Gomès Eric, 2014-*Nitrogen supply affects anthocyanin biosynthetic and regulatory genes in grapevine cv. Cabernet-Sauvignon berries*, Phytochemistry vol.103, p.39.
214. Spranger I., Sun B., Mateus A. M., Freitas V. d., and Ricardo-da-Silva J.M., 2008- *Chemical characterization and antioxidant activities of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from grape seeds*, Food Chem., vol. 108, p. 519–532.
215. Stój A., Czernecki T., Domagała D., Targoński Z., 2017-*Application of Volatile Compound Analysis for Distinguishing between Red Wines from Poland and from Other European Countries*, South African Journal of Enology and Viticulture, vol.38, p. 245-263.
216. Sun H., Zhang Y., Shen Y., Zhu Y., Wang H., and Xu Z., 2017- *Inhibitory effects of red wine on lipid oxidation in fish oil emulsion and angiogenesis in zebrafish embryo*, J. Food Sci., vol. 82(3), p. 781–786.
217. Sun X., Li L., Ma T., Liu X., Huang W., Zhan J., 2015- *Profiles of Phenolic Acids and Flavan-3-ols for Select Chinese Red Wines: A Comparison and Differentiation According to Geographic Origin and Grape Variety*, Food Science, vol.80, issue 10 p. 2170–2179.
218. Tanaka Y., Sasaki N., Ohmiya A., 2008- *Biosynthesis of plant pigments:anthocyanins, betalains and carotenoids*, Plant J., vol. 54, p. 733–749.
219. **Tarțian A.C.**, Cotea V.V., Niculaua M., Zamfir C.I., Colibaba Lucia-Cintia, Moroșanu Ana-Maria, 2017- *The influence of the different techniques of maceration on the aromatic and phenolic profile of the Busuioacă de Bohotin wine*, BIO Web of Conferences, Volume 9, 02032, Section Oenology, EDP Sciences, Sofia, Bulgaria, 8p.
220. **Tarțian A.C.**, Cotea V.V., Niculaua M., Colibaba Lucia-Cintia, Nechita C.B., Moroșanu Ana-Maria, 2014- *Research on the influence of the pedoclimatic conditions from Dealu Bujorului, Cotnari and Iași vineyards on the physico-chemical characteristics of the Fetească albă and Busuioacă de Bohotin wines*, Lucrări știintifice, anul LVII, vol. 57, nr. 2, seria Horticultură, USAMV Iași, 2014, print ISSN, 1454-7376, electronic ISNN 2069-8275, p. 205-210.
221. **Tarțian A.C.**, Colibaba Lucia-Cintia, Niculaua M., Nechita C.B., Zamfir C.I., Moroșanu Ana-Maria, Cotea V.V., 2015- *Comparative study of the biotypes of Busuioaca de Bohotin variety from Husi vineyard*, Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture, Vol 72, No 2, ISSN 1843-5254, p. 418 - 423.
222. **Tarțian A.C.**, Colibaba Lucia-Cintia, Niculaua M., Nechita C.B., Zamfir C.I., Moroșanu Ana-Maria, Cotea V.V., 2015- *Research on the influence of the different techniques of maceration on the compositional characteristics of the Busuioacă de Bohotin wine* (Cercetări privind influența diferitelor tehnici de macerare asupra caracteristicilor compoziționale ale vinului de Busuioacă de Bohotin), Lucrări știintifice, anul LVIII, vol. 58, nr. 2, seria Horticultură, USAMV Iași, print ISSN 1454-7376, electronic ISNN 2069-8275 pg, 183-188.

223. 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.
224. Terrier N., & Romieu C., 1998- *Inhibition of vacuolar proton pumps by ethanol impairs grape berry compartmentation*, Australian Journal of Grape and Wine Research, vol. 4, p. 39–45.
225. Tesnière C., Romieu C., Dugelay I., Nicol M.Z., Flanzy C., & Robin J.P., 1994- *Partial recovery of grape energy metabolism upon aeration following anaerobic stress*, Journal of Experimental Botany, vol. 45, p. 145–151.
226. Tudose D.A., 1967- *Podgorii Huși-un soi de mare marcă-Busuioacă de Bohotin-Huși*, Revista Industria Alimentară nr.6.
227. Tudose D.A., Neamțu C., 1974- *Podgorii și vinuri din județul Vaslui altădată și acum*, Întreprinderea Poligrafică Iași.
228. This P., Lacombe T., Laucou V., Siret R., Moreau F., Vares D., 2006- *Grape and Wine varietal authentication by DNA analysis*, in: S. Ebeler (Ed.), Food and Wine authentication, ACS Symposium Series, ACS, Washington, DC, p. 207–228.
229. Tessini C., Mardones C., Rivas L., & von Baer D., 2009- *Measurement uncertainty of shikimic acid in red wines produced in Chile*, Accreditation and Quality Assurance, vol. 14(7), p. 381- 387.
230. Trujillo E., 2006 -*Nutrigenomics, proteomics, metabolomics, and the practice of dietetics*, J. Am. Diet. Assoc., vol.106, p. 403–413;
231. Tao Y., García J.F., Sun D-W., 2014- *Advances in wine aging technologies for enhancing wine quality and accelerating wine aging process*, Crit. Rev. Food Sci. Nutr., vol.54, p. 817–835.
232. Țârdea C., Sârbu Gh., Țârdea Angela, 2000- *Tratat de vinificație*, Edit. Ion Ionescu de la Brad, Iași, p. 93.
233. Ubeda C., Callejón R.M., Troncoso A.M., Peña-Neira A., Morales M.L., 2016-*Volatile profile characterisation of Chilean sparkling wines produced by traditional and Charmat methods via sequential stir bar sorptive extraction*, Food Chemistry, vol.207, p. 261-271.
234. Vasserot Y., Arnaud A., & Galzy P., 1995- *Monoterpenol glycosides in plants and their biotechnological transformation*, Acta Biotechnology, vol. 15, p. 77–95.
235. Victoria Moreno-Arribas M., Carmen Polo M., 2009- *Wine chemistry and biochemistry*, Springer Science+Business Media, LLC 2009, ISBN: 978-0-387-74116-1, New York, USA, p.
236. Valentin G., 1993- *Etude des enzymes impliqu'ees dans la formation des ald'ehydes `a six atomes de carbone chez le raisin*, Doctoral dissertation, University of Montpellier II.
237. Vernin G., Pascal-Mousselard H., Metzger J., Pa'rk'a'nyi C., 1993- *Aromas of Mourve`dre wines*, In: Shelflife Studies of Foods and Beverages (ed. G. Charalambous), Developments in Food Science nr. 33, Elsevier, Amsterdam, p. 945–974.
238. Van Leeuw R., Kevers C., Pincemail J., Defraigne J. O., & Dommes J., 2014- *Antioxidant capacity and phenolic composition of red wines from various grape varieties: Specificity of Pinot Noir*, Journal of Food Composition and Analysis, vol. 36(1), p. 40-50.

239. Văraru F., Moreno-García J., Zamfir C-I., Cotea V.V., Moreno J., 2016- *Selection of aroma compounds for the differentiation of wines obtained by fermenting musts with starter cultures of commercial yeast strains*, Food Chemistry, vol. 197, p. 373–381.
240. Versari A., Laurie V. F., Ricci A., Laghi L., & Parpinello G. P., 2014- *Progress in authentication, typification and traceability of grapes and wines by chemometric approaches*, Food Research International, vol. 60, p. 2-18.
241. Vilanova M., Santalla M., Masa A., 2009- *Environmental and genetic variation of phenolic compounds in grapes (Vitis vinifera) from northwest Spain*, The Journal of Agricultural Science, vol.147, issue 6, p. 683-697.
242. Wang J., Gambetta J.M., Jeffery D.W., 2016-*Comprehensive Study of Volatile Compounds in Two Australian Rosé Wines: Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) of Extracts Prepared Using Solvent-Assisted Flavor Evaporation (SAFE) or Headspace Solid-Phase Extraction (HS-SPE)*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 64 (19), p. 3838–3848.
243. Waterhouse A.L., 2002- *Wine phenolics*, Annals of the New York Academy of Sciences, vol. 957(1), p. 21-36.
244. Walker A.R., Lee E., Robinson S.P., 2006- *Two new grape cultivars, bud sports of Cabernet Sauvignon bearing pale-coloured berries, are the result of deletion of two regulatory genes of the berry colour locus*, Plant Mol. Biol., vol. 62, p. 623–635.
245. Weingerl V., 2015-*Classification of Slovenian wine according to phenolic antioxidants and total antioxidant potential*, International Journal of Agriculture Innovations and Research, vol.4, p.169-174.
246. Welke Juliane Elisa, Zanus M., Lazzarotto M., Pulgati F.H., Zini Cláudia Alcaraz, 2014- *Main differences between volatiles of sparkling and base wines accessed through comprehensive two dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection and chemometric tools*, Food Chemistry, vol. 164, p. 427–437.
247. Wirth J., Caillé S., Souquet J.M., Samson A., Dieval J.B., Vidal A., Fulcrand H., Cheynier V., 2012- *Impact of post-bottling oxygen exposure on the sensory characteristics and phenolic composition of Grenache rosé wines*, Food Chemistry, vol. 132, nr. 4, p. 1861-1871.
248. Wishart D. S., 2008- *Metabolomics: Applications to food science and nutrition research*, Trends in Food Science & Technology, vol. 19(9), p. 482–493.
249. Wolfender J. L., Rudaz S., Choi Y. H., & Kim H. K., 2013- *Plant metabolomics: From holistic data to relevant biomarkers*, Current Medicinal Chemistry, vol. 20(8), p. 1056–1090.
250. Whiting G.C., 1976- *Organic acid metabolism of yeasts during fermentation of alcoholic beverages—a review*, Journal of the Institute of Brewing, vol. 82, p.84-92.
251. Wust M. , Mosandl A., 1999- *Important chiral monoterpenoid ethers in flavours and essential oils - enantioselective analysis and biogenesis*, European Food Research and Technology, vol. 209, p. 3–11.
252. Xu H-Q., Liu B., Zhu B-Q., Lan Y-B., Gao Y., Wang D., Reeves M.J., Duan C-Q., 2015- *Differences in volatile profiles of Cabernet Sauvignon grapes grown in two distinct*

regions of China and their responses to weather conditions, Plant Physiology and Biochemistry, vol. 89, p. 123-133.

253. Yakushiji H., Kobayashi S., Goto-Yamamoto N., Jeong S.T., Sueta T., Mitani N., Azuma A., 2006- *A skin color mutation of grapevine, from black-skinned Pinot noir to white-skinned Pinot blanc, is caused by deletion of the functional VvmybA1 allele*, Biosci. Biotechnol. Biochem., vol. 70, nr. 6, p. 1506–1508.

254. Yoshida T., Muraki S., Kawamura H., Komatsu A., (1969) 2014- *Minor Constituents of Japanese Ho-Leaf Oil, The Structures of (+)-Tagetonol and (–)-trans-Hotrienol*, Journal Agricultural and Biological Chemistry, vol. 33, nr.3, p. 343-352.

255. Yu H., Dai X., Yao G., Xiao Z., 2014- *Application of Gas Chromatography-Based Electronic Nose for Classification of Chinese Rice Wine by Wine Age*, Food Anal. Methods, vol.7, p. 1489–1497.

256. 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.

257. Žulj M.M., Šimon S., Pejić I., Carka F., Sevo R., Kojic A., Gaši F., Tomić L., Jovanović C.T., Maletić E., Preiner D., Božinović Z., Savin G., Cornea V., Maraš V., Tomić M.M., Botu M., Popa A., Beleski K., 2013- *Molecular characterization of old local grapevine varieties from South East European countries*, Vitis, vol. 52, p. 69-76.

258. www.brucelindbloom.com

259. www.merriam-webster.com/dictionary/authenticity, 14.01.2018.

Lista lucrărilor științifice publicate de doctorand

Lucrări publicate în reviste ISI în extenso

1. Tarțian A.C., Cotea V.V., Niculaua M., Zamfir C.I., Colibaba Lucia-Cintia, Moroșanu Ana-Maria, 2017- *The influence of the different techniques of maceration on the aromatic and phenolic profile of the Busuioacă de Bohotin wine*, BIO Web of Conferences, Volume 9, 02032, Section Oenology, EDP Sciences, Sofia, Bulgaria, 8p.

Lucrări publicate în reviste BDI

1. Tarțian A.C., Cotea V.V., Niculaua M., Colibaba Lucia-Cintia, Nechita C.B., Moroșanu Ana-Maria, 2014- *Research on the influence of the pedoclimatic conditions from Dealu Bujorului, Cotnari and Iași vineyards on the physico-chemical characteristics of the Fetească albă and Busuioacă de Bohotin wines*, Lucrări științifice, anul LVII, vol. 57, nr. 2, seria Horticultură, USAMV Iași, 2014, print ISSN, 1454-7376, electronic ISSN 2069-8275, p. 205-210.

2. Tarțian A.C., Colibaba Lucia-Cintia, Niculaua M., Nechita C.B., Zamfir C.I., Moroșanu Ana-Maria, Cotea V.V., 2015- *Comparative study of the biotypes of Busuioaca de Bohotin variety from Husi vineyard*, Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture, Vol 72, No 2, ISSN 1843-5254, p. 418 - 423.

3. Tarțian A.C., Colibaba Lucia-Cintia, Niculaua M., Nechita C.B., Zamfir C.I., Moroșanu Ana-Maria, Cotea V.V., 2015- *Research on the influence of the different techniques of maceration on the compositional characteristics of the Busuioacă de Bohotin wine* (Cercetări privind influența diferitelor tehnici de macerare asupra caracteristicilor compoziționale ale vinului de Busuioacă de Bohotin), Lucrări științifice, anul LVIII, vol. 58, nr. 2, seria Horticultură, USAMV Iași, print ISSN 1454-7376, electronic ISSN 2069-8275 pg, 183-188.

Coautor:

1. Moroșanu Ana-Maria, Colibaba Lucia-Cintia, Niculaua M., Nechita C.B., Zamfir C.I., Tarțian A.C., Cotea V.V., 2015- *Regarding the influence of some prefermentative treatments on compositional and organoleptic features of Fetească albă wines* (Studii asupra unor influențe prefermentative asupra caracteristicilor de compoziție și a proprietăților senzoriale ale unor vinuri de Feteasca albă), Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture, Vol 72, No 2 (2015), ISSN 1843-5254.

2. Moroșanu Ana-Maria, Cotea V.V., Niculaua M., Nechita C.B., Colibaba Lucia-Cintia, Moraru I., Tarțian A.C., 2015- *Comparative study of some compositional characteristics of wines obtained by fermentation with indigenous and selected yeast* (Studiul comparativ al unor caracteristici compoziționale la vinuri obținute prin fermentație cu levuri indigene și levuri selecționate) Lucrări științifice, anul LVIII, vol.6,58, nr. 2, seria Horticultură, USAMV Iași, print ISSN 1454-7376, electronic, ISSN 2069-8275, pg. 145-150.

3. Moroşanu Ana-Maria, Cotea V.V., Niculaua M., Colibaba Lucia-Cintia, Nechita C.B., Tarţian A.C., 2014- *Study of the climatic influence on the compositional characteristics of wines obtained in the Copou hill vineyard*, Lucrări ştiinţifice, anul LVII, vol. 57, nr. 2, seria Horticultură, USAMV Iaşi, 2014, print ISSN 1454-7376, electronic ISNN 2069-8275, p. 193-198.
4. Moroşanu Ana-Maria, Cotea V.V., Luchian Camelia Elena, Niculaua M., Colibaba Lucia-Cintia, Tarţian A.C., 2016- *The influence of pre-fermentative treatments on the volatile, chromatic features, organic acids and phenolic content of Feteasca alba Romanian wine*, 39th World Congress of Vine and Wine, BIO Web of Conferences, Volume: 7, E D P SCIENCES, F-91944 CEDEX A, FRANCE. (ISI proceedings).
5. Moroşanu Ana Maria, Luchian Camelia, Cotea V.V., Colibaba Lucia Cintia, Niculaua M., Tarţian A.C., 2018- *Assessment of Major Volatile and Phenolic Compounds from 'Feteasca Regala' Wine Samples after Pre-fermentative Treatments using GC-MS Analysis and HPLC Analysis*, Notulae Botanicae, Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, Volume: 46 Issue: 1 Pages: 247-259.
6. Niculaua M., Dumitriu (Gabor) Georgiana-Diana, Vararu F., Tarţian A. C., Grigorică L., Cotea V.V., 2015- *Analysis of organic acids in grape and wine by prior fractionation on SPE* (Evaluarea fracţiilor de separare pentru analiza acizilor organici din struguri şi vinuri), Lucrări ştiinţifice, anul LVIII, vol. 58, nr. 2, seria Horticultură, USAMV Iaşi, print ISSN 1454-7376, electronic ISNN 2069-8275, pg. 163-168.

Lista Tabelelor

Tabelul nr. 3.1 Centrele viticole și plaurile din Podgoria Huși.....	38
Tabelul nr. 3.2 Principalele caractere agrobiologice și tehnologice ale soiului Busuioacă de Bohotin.....	44
Tabelul nr. 4.1 Zaharurile și aciditatea totală a musturilor de Busuioacă de Bohotin....	59
Tabelul nr.4.2 Tăria alcoolică potențială (Tap) și Indicele gluco – acidă a musturilor de Busuioacă de Bohotin.....	60
Tabelul nr.4.3 Parametrii fizico-chimici de compoziție a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși în anul 2014.....	63
Tabelul nr.4.4 Parametrii fizico-chimici de compoziție a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși în 2014.....	63
Tabelul nr.4.5 Parametrii fizico-chimici de compoziție a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești în 2014.....	64
Tabelul nr.4.6 Parametrii fizico-chimici de compoziție a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși în anul 2015.....	64
Tabelul nr.4.7 Parametrii fizico-chimici de compoziție a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești în anul 2015.....	65
Tabelul nr.4.8 Acizii organici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț (Centrul Viticol Huși) în 2014.....	80
Tabelul nr.4.9 Acizii organici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz (Centrul Viticol Huși) în 2014.....	80
Tabelul nr.4.10 Acizii organici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț (Centrul Viticol Averești) în 2014.....	81
Tabelul nr.4.11 Acizii organici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț (Centrul Viticol Averești) în 2015.....	81
Tabelul nr.4.12 Acizii organici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz (Centrul Viticol Huși) în anul 2015.....	82
Tabelul nr.4.13 Compușii fenolici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși.....	90
Tabelul nr.4.14 Compușii fenolici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși.....	91
Tabelul nr.4.15 Compușii fenolici identificați prin HPLC în vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești.....	92
Tabelul nr.4.16 Profilul antocianic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși (BBV–H) în anul 2014 (procentele de participare, %)......	98
Tabelul nr.4.17 Profilul antocianic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț provenit din Averești (BBV-A) în anul 2014 (procentele de participare, %)......	99

Tabelul nr.4.18 Profilul antocianic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H) în anul 2014 (procentele de participare, %)	99
Tabelul nr.4.19 Profilul antocianic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești (BBV–A) în anul 2015 (procentele de participare, %)	100
Tabelul nr.4.20 Profilul antocianic al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H) în anul 2015 (procentele de participare, %)	100
Tabelul nr.4.21 Conținutul în Antociani determinat prin Cromatografie Lichidă de Înaltă Performanță (H.P.L.C) a vinurilor de Busuioacă de Bohotin	105
Tabelul nr.4.22 Indicele de polifenoli totali (IPT) al vinurilor de Busuioacă de Bohotin	106
Tabelul nr.4.23 Indicele Folin–Ciocâlteu (IFC) al vinurilor de Busuioacă de Bohotin	107
Tabelul nr.4.24 Raportul D280/IFC al vinurilor de Busuioacă de Bohotin	108
Tabelul nr.4.25 Conținutul în antociani determinat prin spectrofotometrie a vinurilor de Busuioacă de Bohotin	109
Tabelul nr.4.26 Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H) în anul 2014	115
Tabelul nr.4.27 Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Averești (BBV–A) în anul 2014	116
Tabelul nr.4.28 Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși (BBV–H) în anul 2014	116
Tabelul nr.4.29 Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești (BBV–A) în anul 2015	117
Tabelul nr.4.30 Parametrii cromatici ai vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H) în anul 2015	117
Tabelul nr.4.31 Conținutul în compuși terpenici polioxigenați al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H)	127
Tabelul nr.4.32 Conținutul în compuși terpenici polioxigenați al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Averești (BBV–A)	127
Tabelul nr.4.33 Conținutul în compuși terpenici polioxigenați al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși (BBV–H)	128
Tabelul nr.4.34 Conținutul în alcooli superiori C5 din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H)	131
Tabelul nr.4.35 Conținutul în alcooli superiori C5 din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești (BBV–A)	131
Tabelul nr.4.36 Conținutul în alcooli superiori C5 din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși (BBV–H)	131

Tabelul nr.4.37 Conținutul în Alcoolii superiori (C7–C16) din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H).....	135
Tabelul nr.4.38 Conținutul în Alcoolii superiori (C7–C16) din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV–A).....	136
Tabelul nr.4.39 Conținutul în Alcoolii superiori (C7–C16) din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV–A).....	136
Tabelul nr.4.40 Conținutul în lactone a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H)	144
Tabelul nr.4.41 Conținutul în lactone a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV–A)	144
Tabelul nr.4.42 Conținutul în lactone a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV–H).....	144
Tabelul nr.4.43 Conținutul în aldehide a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H)	148
Tabelul nr.4.44 Conținutul în aldehide a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV–A).....	148
Tabelul nr.4.45 Conținutul în aldehide a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV–H)	149
Tabelul nr.5.1 Importanța primelor zece componente k=10 (din 36).....	159
Tabelul nr. 5.2 Valorile ponderilor variabilelor.....	160
Tabelul nr.5.3 Importanța primelor 10 componente k=10 (din 24).....	163
Tabelul nr.5.4 Valorile ponderilor variabilelor.....	164

Lista Figurilor

Figura.nr.3.1 Soiul Busuioacă de Bohotin.....	43
Figura nr.3.2. Biotipul roz al soiului Busuioacă de Bohotin.....	45
Figura nr.3.3. Biotipul vânăt al soiului Busuioacă de Bohotin.....	45
Figura nr.3.4. Cuptor cu microunde Whirlpool, modelul JT358/WH.....	47
Figura nr.3.5. Baie de ultrasunete Bandelin Sonorex, modelul RK 1028.....	48
Figura nr.3.6. Struguri de Busuioacă de Bohotin congelați.....	48
Figura nr.3.7. Mustuiala congelată de Busuioacă de Bohotin rezultată în urma zdrobirii.....	49
Figura nr.3.8. Recipient din plastic cu grilaj pentru realizarea macerației carbonice.....	50
Figura nr.3.9. Struguri întregi introduși pe grătarul din plastic.....	50
Figura nr.3.10. Presă hidraulică cu burduf din cauciuc folosită în microvinificație.....	51
Figura nr.3.11. Filtru cu plăci Grifo de capacitate mică utilizat în microvinificație.....	51
Figura nr.4.1 Raportul dintre Malvidină și Peonidină (Mv/Po) %, a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăt din Centrul Viticol Huși (BBV–H) din anul 2014.....	102
Figura nr.4.2 Raportul dintre Malvidină și Peonidină (Mv/Po) %, a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăt din Centrul Viticol Averești (BBV–A) din anul 2014.....	103
Fig.4.3 Raportul dintre Malvidină și Peonidină (Mv/Po) %, a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul din Centrul Viticol Averești (BBV–A) din anul 2015.....	103
Figura nr.4.4 Raportul dintre Malvidină și Peonidină (Mv/Po) %, a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H) din anul 2014.....	104
Figura nr.4.5. Raportul dintre Malvidină și Peonidină (Mv/Po) a vinurilor obținute din Biotipul Vânăt din Centrele Viticole Averești și Huși.....	105
Figura nr.4.6 Diagrama simplificată a căii de biosinteză a antocianilor și reglarea acesteia de către genele MYB în struguri.....	112
Figura nr.4.7 Conținutul în Linalool, Hotrienol și α -Terpineol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz (BBR–H).....	122
Figura nr.4.8 Conținutul în Linalool, Hotrienol și α -Terpineol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăt din Centrul Viticol Averești (BBV–A).....	123
Figura nr.4.9 Conținutul în Linalool, Hotrienol și α -Terpineol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăt din Centrul Viticol Huși (BBV–H).....	123
Figura nr.4.10 Conținutul în Citronelol, Nerol și Geraniol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR–H).....	124

Figura nr.4.11 Conținutul în Citronelol, Nerol și Geraniol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV-A).....	124
Figura nr.4.12 Conținutul în Citronelol, Nerol și Geraniol al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV-H).....	125
Figura nr.4.13 Conținutul în 1-propanol, 2-metil-1-propanol și 3-metil-1-butanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H).....	130
Figura nr.4.14 Conținutul în 1-propanol, 2-metil-1-propanol și 3-metil-1-butanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV-A).....	130
Figura nr.4.15 Conținutul în 1-propanol, 2-metil-1-propanol și 3-metil-1-butanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV-H).....	130
Figura nr.4.16 Conținutul în 1-hexanol, (E) <i>trans</i> -3-hexen-1-ol și (Z) <i>cis</i> -3-hexen-1-ol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H).....	132
Figura nr.4.17 Conținutul în 1-hexanol și (Z) <i>cis</i> -3-hexen-1-ol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV-A).....	132
Figura nr.4.18 Conținutul în 1-hexanol, (Z) <i>cis</i> -3-hexen-1-ol și (E) <i>trans</i> -3-hexen-1-ol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV-H).....	133
Figura nr.4.19 Conținutul în 2-feniletanol, alcool benzilic, 1-nonanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H).....	134
Figura nr.4.20 Conținutul în 2-feniletanol, alcool benzilic, 1-nonanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV-A).....	134
Figura nr.4.21 Conținutul în 2-feniletanol, alcool benzilic, 1-nonanol din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV-H).....	134
Figura nr.4.22 Conținutul în Caprilat de etil, Caproat de etil și Caprat de etil din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H).....	138
Figura nr.4.23 Conținutul în Caprilat de etil, Caproat de etil și Caprat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Averești (BBV-A).....	138
Figura nr.4.24 Conținutul în Caprilat de etil și Caprat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânat din Centrul Viticol Huși (BBV-H).....	139
Figura nr.4.25 Conținutul în Lactat de etil, Succinat de dietil și Benzoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H).....	140

Figura nr.4.26 Conținutul în Lactat de etil, Succinat de dietil și Benzoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești (BBV-A).....	140
Figura nr.4.27 Conținutul în Lactat de etil, Succinat de dietil și Benzoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși (BBV-H).....	140
Figura nr.4.28 Conținutul în Laurat de etil, Miristat de etil și Pentadecanoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H).....	141
Figura nr.4.29 Conținutul în Laurat de etil, Miristat de etil și Pentadecanoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești (BBV-A).....	141
Figura nr.4.30 Conținutul în Laurat de etil, Miristat de etil și Pentadecanoat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși (BBV-H).....	142
Figura nr.4.31 Conținutul în 9-hexadecenoat de etil, palmitat de etil și stearat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H).....	142
Figura nr.4.32 Conținutul în 9-hexadecenoat de etil, palmitat de etil și stearat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești (BBV-A).....	143
Figura nr.4.33 Conținutul în 9-hexadecenoat de etil, palmitat de etil și stearat de etil al vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși (BBV-H).....	143
Figura nr.4.34 Conținutul în acizi din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz din Centrul Viticol Huși (BBR-H).....	146
Figura nr.4.35 Conținutul în acizi din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Averești (BBV-A).....	146
Figura nr.4.36 Conținutul în acizi din vinurile de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Centrul Viticol Huși (BBV-H).....	146
Figura nr.4.37 Reprezentarea grafică a caracteristicile senzoriale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz (BBR-H) în anul 2014.....	152
Figura nr.4.38 Reprezentarea grafică caracteristicile senzoriale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Roz (BBR-H) în anul 2015.....	152
Figura nr.4.39 Reprezentarea grafică a caracteristicile senzoriale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Huși (BBV-H) în anul 2014.....	153

Figura nr.4.40 Reprezentarea grafică a caracteristicile senzoriale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Averești (BBV–A) în anul 2014.....	154
Figura nr.4.41 Reprezentarea grafică a caracteristicile senzoriale a vinurilor de Busuioacă de Bohotin obținute din Biotipul Vânăț din Averești (BBV–A) în anul 2015.....	154
Figura nr. 5.1 Diagrama Scree.....	159
Figura nr. 5.2 Reprezentarea grafică a valorilor primelor două componente principale (PC1 vs PC2).....	161
Figura nr. 5.3 Reprezentarea grafică a valorilor primei componente principale raportată la a treia componentă (PC1 vs PC3).....	162
Figura nr.5.4 Diagram Scree.....	163
Figura nr.5.5 Reprezentarea grafică a valorilor primelor două componente principale (PC1 vs PC2).....	166
Figura nr.5.6 Reprezentarea grafică a valorilor primei componente principale raportată la a treia componentă (PC1 vs PC3).....	166
Figura nr.5.7 Reprezentarea grafică a valorilor primei componente principale raportată la a opta componentă (PC1 vs PC8).....	167
Figura nr.5.8 Reprezentarea grafică a valorilor primei componente principale raportată la a opta componentă (PC1 vs PC8).....	167