

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚELE VIETII “ION IONESCU DE LA BRAD”
IAȘI
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE INGINEREȘTI
DOMENIUL: HORTICULTURĂ
SPECIALIZAREA: VITICULTURĂ ȘI OENOLOGIE

TEZĂ DE DOCTORAT

Doctorand,
Ing. Maria-Iulia Cerbu

Conducător de doctorat,
Prof. univ. dr. Valeriu V. Cotea m.c. A.R.

IAȘI
2023

“ION IONESCU DE LA BRAD” UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES IAȘI
DOCTORAL SCHOOL OF ENGINEERING SCIENCES
DOCTORAL DOMAIN: HORTICULTURE
SPECIALIZATION: VITICULTURE AND OENOLOGY

DOCTORAL THESIS

PhD student,
Eng. Maria-Iulia Cerbu

Conducător de doctorat,
Univ. prof. PhD Valeriu V. Cotea m.c. A.R.

IAȘI
2023

UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚELE VIEȚII “ION IONESCU DE LA BRAD”
IAȘI
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘIINȚE INGINEREȘTI
DOMENIUL: HORTICULTURĂ
SPECIALIZAREA: VITICULTURĂ ȘI OENOLOGIE

TEZĂ DE DOCTORAT
CERCETĂRI PRIVIND INFLUENȚA UTILIZĂRII UNOR PRODUSE
OENOLOGICE LA MATURAREA VINURILOR ALBE ȘI ROSÉ OBȚINUTE ÎN
PODGORIA IAȘI-COPOU

Doctorand,
Ing. Maria-Iulia Cerbu

Conducător de doctorat,
Prof. univ. dr. Valeriu V. Cotea m.c. A.R.

IAȘI
2023

“ION IONESCU DE LA BRAD” UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES IAȘI
DOCTORAL SCHOOL OF ENGINEERING SCIENCES
DOCTORAL DOMAIN: HORTICULTURE
SPECIALIZATION: VITICULTURE AND OENOLOGY

DOCTORAL THESIS

***RESEARCH ON THE INFLUENCE OF THE USE OF SOME OENOLOGICAL
PRODUCTS ON THE AGEING ON LEES OF WHITE AND ROSÉ WINES,
OBTAINED IN THE IAȘI-COPOU VINEYARD***

PhD student,
Eng. Maria-Iulia Cerbu

PhD coordinator,
Univ. prof. PhD Valeriu V. Cotea m.c. A.R.

IAȘI
2023

CUPRINS

INTRODUCERE.....	9
REZUMAT.....	13
PARTEA I – STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
CAPITOLUL 1 – STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRIILOR PRIVIND ETAPA DE MATURARE A VINURILOR PE LEVURI.....	24
1.1 Generalități privind etapa de maturare pe levuri a vinurilor albe și rose.....	24
1.2 Aspecte cu privire la procesul de autoliză a levurilor pe perioada maturării vinurilor.....	27
1.3 Aspecte cu privire la conținutul de aminoacizi din vinuri, fiziologice și toxicologice ale aminelor biogene.....	36
CAPITOLUL 2 – STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRIILOR PRIVIND UTILIZAREA UNOR PRODUSE OENOLOGICE DE MATURARE ȘI INFLUENȚA LOR ASUPRA CARACTERISTICILOR VINURILOR ALBE ȘI ROSÉ.....	40
2.1 Caracterizarea produselor oenologice de maturare.....	40
2.2 Influența utilizării produselor oenologice de maturare asupra caracteristicilor de compoziție și senzoriale.....	49
PARTEA A II-A – CONTRIBUȚII PROPRII	
CAPITOLUL 3 – CADRUL ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU DESFĂȘURAT CERCETĂRIILE.....	57
3.1 Descrierea Centrului de Cercetări pentru Oenologie ”Valeriu D. Cotea”.....	57
3.2 Descrierea arealului de proveniență al strugurilor, centrul viticol Copou, podgoria Iași....	59
3.3 Descrierea soiurilor de struguri luate în studiu.....	60
CAPITOLUL 4 – SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII, MATERIALUL ȘI METODA DE CERCETARE.....	64
4.1 Scopul și obiectivele științifice ale cercetărilor întreprinse.....	64
4.2 Materiale și metode de cercetare utilizate pentru atingerea obiectivelor științifice.....	65
4.2.1 Materiale utilizate și tehnologii aplicate în procesul de cercetare.....	65
4.2.2 Metode fizico-chimice folosite la determinarea principalilor parametri de compoziție.....	69
4.2.3 Metode folosite la identificarea și cuantificarea aminelor biogene și a aminoacizilor.....	73
4.2.4 Analiza organoleptică a probelor experimentale.....	75
4.2.5 Analiza statistică a probelor experimentale.....	78

CAPITOLUL 5 – REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	80
5.1 Cuantificarea parametrilor fizico-chimici ai vinurilor obținute prin utilizarea unor produse oenologice de maturare.....	80
5.2 Determinarea unor amine biogene și aminoacizi din vinurile obținute prin utilizarea unor produse oenologice de maturare.....	95
5.3 Evaluarea caracteristicilor senzoriale ale vinurilor obținute prin utilizarea unor produse oenologice de maturare.....	124
CAPITOLUL 6 – ANALIZA STATISTICĂ.....	131
6.1 Evaluarea influenței unor produse oenologice de maturare asupra caracteristicilor de compoziție și senzoriale ale vinurilor obținute.....	131
CONCLUZII FINALE.....	158
BIBLIOGRAFIE.....	162
LISTĂ FIGURILOR.....	175
LISTĂ TABELELOR.....	177
ANEXA 1 LUCRĂRI PUBLICATE.....	179

CONTENTS

INTRODUCTION.....	9
ABSTRACT.....	13
PART I – PRESENT STATE OF KNOWLEDGE	
CHAPTER 1 – PRESENT STATE OF RESEARCH REGARDING THE AGEING STAGE OF WINES ON LEES.....	24
1.1 Overview regarding ageing on lees of white and rose wines.....	24
1.2 Aspects regarding the autolysis process of yeasts during wine ageing.....	27
1.3 Aspects of the amino acid content of wines, physiological and toxicological aspects of biogenic amines.....	36
CAPITOLUL 2 – PRESENT STATE OF RESEARCH REGARDING THE SOME OENOLOGICAL PRODUCTS USED IN MATURATION STAGE AND THEIR INFLUENCE ON THE CHARACTERISTICS OF WHITE AND ROSE WINES.....	40
2.1 Characterization of oenological ageing products.....	40
2.2 The influence of the use of oenological ageing products on compositional and sensory characteristics.....	49
PART II – PERSONAL CONTRIBUTIONS	
CHAPTER 3 – THE ORGANISATIONAL AND INSTITUTIONAL FRAMEWORK IN WHICH THE RESEARCH WAS CARRIED OUT.....	57
3.1 Description of the Oenology Research Centre “Valeriu D. Cotea”.....	57
3.2 Description of the areal of provenance of the grapes, Copou viticulture centre, Iasi vineyard.....	59
3.3 Description of grape varieties studied.....	60
CAPITOLUL 4 – PURPOSE AND OBJECTIVES OF RESEARCH, MATERIAL AND METHOD.....	64
4.1 Purpose and objectives Scientifics of the research take forward.....	64
4.2 Research materials and methods used to achieve scientific objectives.....	65
4.2.1 Materials used and technologies applied in the research process.....	65
4.2.2 Physico-chemical methods used to determine the main compositional parameters.....	69
4.2.3 Methods used in the identification and quantification of biogenic amines and amino acids.....	73
4.2.4 Organoleptic analysis of experimental samples.....	75
4.2.5 Statistical analysis of experimental samples.....	78

CHAPTER V RESULTS AND DISCUSSIONS.....	80
5.1 Quantification of the physico-chemical parameters of the wine obtained by using oenological ageing products.....	80
5.2 Determination of some biogenic amines and amino acids from wines obtained by using some oenological ageing products.....	95
5.3 Evaluation of the sensory characteristics of wines obtained by using oenological ageing products.....	124
CHAPTER VI STATISTICAL ANALYSIS.....	131
6.1 Evaluation of the influence of some oenological ageing products on the compositional and sensory characteristic of the obtained wines.....	131
FINAL CONCLUSIONS	158
BIBLIOGRAPHIE.....	162
LIST OF FIGURES.....	175
LIST OF TABELS.....	177
ANEXS 1 PUBLISHED WORKS.....	179

INTRODUCERE

Vinul reprezintă una dintre cele mai apreciate băuturi alcoolice de către consumatori, iar pe plan mondial se observă orientarea treptată a preferinței consumatorilor de la vinurile curente spre vinurile de calitate superioară.

Prin evaluare senzorială este determinată calitatea unui vin, fiind stabilită de un complex constituit din compoziția fizico-chimică și compuși de aromă. Interacțiunea ce se stabilește între compuși chimici reprezintă parametrul cu rol determinant în aprecierea senzorială a unui vin. În același timp, aroma reprezintă un activator al receptorilor olfactivi ai consumatorilor. Calitatea vinului este un concept ce își are originea în calitatea strugurilor, dar este de asemenea influențată de modul în care se materializează fiecare etapă tehnologică ce contribuie la formarea și evoluția vinurilor. Nivelul de calitate al unui vin este dat de conținutul de alcool etilic, astfel tăria alcoolică inserată pe etichetele sticlelor de vin are contribuție la clasificarea pe categorii de calitate a vinurilor.

Vinul asociat cu un regim alimentar echilibrat, bogat în carbohidrați, duc la un mod de viață sănătos, de aceea 60 % din populația adultă consumă zilnic vin (Țârdea C., 2010).

În procesul de vinificație, materia primă este reprezentată de struguri care prezintă caracteristici tehnologice distincte, cunoscute și monitorizate de un tehnolog sau oenolog. Vinurile albe prezintă diferite calități în funcție de soiul de struguri din care se produc și de arealul viticol în care se află podgoria respectivă. Pentru obținerea vinurilor albe de calitate se utilizează struguri ce aparțin soiurilor Chardonnay, Pinot gris, Sauvignon blanc, Furmint, Fetească albă, Fetească regală. Cea mai pretențioasă tehnologie este cea de obținere a vinurilor albe, deoarece struguri trebuie să fie prelucrați în cel mai scurt interval de timp și pe cât posibil să evite contactul mustului cu părțile solide ale strugurilor și cu aerul. Un defect tehnologic foarte mic poate afecta calitatea vinurilor albe, în special percepția vizuală (culoare) și cea gustativă.

Vinurile rosé se remarcă prin fructuozitate conferită de aromele de fermentație și varietale, prospețimea este susținută de o aciditate ridicată, datorită prezenței antocianilor cu o astringență ușoară. Franța, Portugalia și Spania se remarcă prin producerea de cantități importante de vin rosé la nivel mondial.

Maturarea pe levuri reprezintă o verigă tehnologică ce implică contactul vinului cu levurile imediat după fermentația alcoolică. În această etapă, o parte din procesele fizico-chimice se continuă și în plus, apar transformări chimice complexe, determinate de acțiunea oxigenului asupra vinului. Transformările ce se produc sunt ireversibile, iar vinul se remarcă prin limpiditate, culoare, stabilitate și caracteristici organoleptice surprinzătoare.

În vinificație, procesul de autoliză are loc în timpul etapei de maturare pe levuri cu sau fără agitare periodică (*bâtonnage*). Prin procesul de autoliză a levurilor, se produce ruperea membranelor celulare, eliberarea componentelor intracelulare, eliberarea enzimelor hidrolitice și hidroliza biopolimerilor intracelulari în compuși cu greutate moleculară mică. Prin moartea celulelor de levuri, are loc descompunerea treptată a pereților celulari, astfel se eliberează în vin polizaharide, manoproteine, aminoacizi, peptide, acizi grași, compuși ce influențează și au

implicații cu privire la conținutul de amine biogene, aminoacizi din vin, stabilitatea, corpolența și complexitatea aromatică a vinului.

Importanța acestui studiu derivă din faptul că prin analiza unor clase de compuși chimici esențiali din structura vinurilor, sunt testate 12 produse oenologice de maturare și influența pe care o au asupra compoziției fizico-chimice a probelor experimentale obținute din soiurile Sauvignon blanc și Busuioaca de Bohotin. Mai mult de atât, soiurile luate în studiu se evidențiază prin faptul că prezintă potențial pentru formarea unui complex aromatic, astfel etapa de maturare pe levuri contribuie la apariția de caracteristici organoleptice superioare.

Prin urmare, în acest context, etapa de maturare pe levuri devine o necesitate pentru definirea caracteristicilor vinurilor.

INTRODUCTION

Wine is one of the most appreciated alcoholic beverages by consumers, and worldwide there is a gradual shift in consumer preference from table wines to higher quality wines.

Through sensory evaluation, the quality of a wine is determined, being established by a complex made up of physico-chemical composition and aroma compounds. The interaction established between chemical compounds is the parameter with a decisive role in the sensory appreciation of a wine. At the same time, the aroma is associated with an activator of the consumers olfactive-taste receptors. Wine quality is a concept that has its origin in the quality of the grapes, but it is also influenced by the way in which each technological stage that contributes to the formation and evolution stage of the wines materializes. The quality level of a wine is given by primarily ethyl alcohol content, thus the alcoholic strength inserted on the labels of the wine bottles contributes to the classification by category and quality of the wines.

Wine associated with a balanced diet rich in carbohydrates leads to a healthy lifestyle, that's why 60 % of the adult population consumes wine daily (Țârdea C., 2010).

In the winemaking process, the raw material is represented by grapes that have distinct technological characteristics, known and monitored by the winemaker. White wines have different qualities depending on the grape variety from which they are produced and the vineyard area in which the respective vineyard is located. To obtain quality white wines, grapes belonging to the Chardonnay, Pinot gris, Sauvignon blanc, Furmint, Fetească albă, Fetească regală grapes varieties are used. The most demanding technology is that of obtaining white wines, because the grapes must be processed in the shortest time, and as much as possible to avoid the contact of the must with solid parts of the grapes and with the air. Any small technological defect can affect the quality of white wines, especially the visual (color) and taste perception.

Rosé wines stand out for the fruitiness conferred by the fermentation and varietal aromas, the freshness is supported by a high acidity, and in the presence of anthocyanins with a slight astringency. France, Portugal and Spain stand out for producing significant amounts of rose wine worldwide.

Ageing on lees represents a technological stage that involves the contact of the wine with the yeasts, immediately after the alcoholic fermentation. In this stage, part of the physico-chemical processes continues, and in addition, complex chemical transformations occur, determined by the action of oxygen on the wine. The transformations that occur are irreversible, and the wine stands out for its clarity, color, stability and surprising organoleptic characteristics.

In winemaking, the autolysis process takes place during the ageing on lees stage with or without periodic stirring (*bâtonnage*). Through the process of yeast autolysis, cell membranes are broken, intracellular components are released, hydrolytic enzymes turn into low molecular weight compounds. After the death of the yeast cells, the gradual decomposition of the cell walls takes place, thus polysaccharides, mannoproteins, amino acids, peptides, fatty acids, are released into wine, thus having implications regarding the volatile compounds, biogenic amines, amino acids in the wine, impact on the fullness and the aromatic complexity of the wine.

The importance of this study is based on analysing 12 oenological maturation products and studying their influence on physico-chemical composition of the experimental samples obtained from the Sauvignon blanc and Busuioaca de Bohotin grape varieties. Moreover, the studied wines are highlighted by the fact that they already have the potential for the formation of an aromatic complex, thus the ageing on lees stage contributes to the emergence of superior organoleptic characteristics.

Therefore, in this context, the ageing on lees becomes a necessity for defining the wines characteristics.

REZUMAT

Cuvinte cheie: Sauvignon blanc, Busuioacă de Bohotin, maturare pe levuri, aminoacizi, amine biogene, descriptori olfactivi, descriptori gustativi

Teza de doctorat cu titlul **"Cercetări privind influența utilizării unor produse oenologice la maturarea vinurilor albe și rosé obținute în podgoria Iași-Copou"** a fost concepută pentru a pune în evidență faptul că vinurile obținute prin etapa de maturare pe levuri cu diferite produse oenologice, se remarcă printr-o structură mai bună și complexitate aromatică, datorită eliberării prin procesul de autoliză din celulele de levuri a numeroase macromolecule, ce prezintă influență majoră asupra compoziției fizico-chimice a vinului.

Soiurile de struguri alese, din care au fost obținute probele experimentale, au fost Sauvignon blanc și Busuioacă de Bohotin deoarece acestea s-au considerat relevante pentru acest studiu, având în vedere că Sauvignon blanc este un soi din care se obțin vinuri, ce parcurg aproape în mod clasic etapa de maturare pe depozitul fin de levuri la nivel mondial. Soiul Busuioacă de Bohotin este un soi aromat, ce se remarcă prin note varietale caracteristice, plus note varietale ce apar prin etapa tehnologică de maturare pe depozitul fin de levuri.

Teza a fost structurată și redactată în două părți principale, în conformitate cu normele științifice actuale, utilizând ca material bibliografic un număr de 200 de referințe bibliografice din literatura de specialitate.

Prima parte, **"Stadiul actual al cunoașterii"**, cuprinde partea bibliografică. În această parte sunt prezentate informații din literatura de specialitate, ce descriu succint etapa de maturare pe levuri din fluxul tehnologic de obținere a vinurilor albe și rosé, procesul de autoliză a celulelor de levuri, plus produsele oenologice utilizate în această etapă tehnologică.

Cea de a doua parte, numită **"Contribuții proprii"**, este structurată în 4 capitole distincte, plus concluziile desprinse în urma studiilor și determinărilor efectuate în această lucrare științifică.

Capitolul al III-lea este inserat în teză, în cea de a doua parte și prezintă pe scurt cadrul organizatoric, Centrul de Cercetări pentru Oenologie "Valeriu D. Cotea", Laboratorul de Oenologie din cadrul Facultății de Horticultură Iași, unde au fost desfășurate cercetările. De asemenea, a fost descris și materialul de studiu, plus zona de proveniență a acestuia.

Capitolul al IV-lea prezintă scopul și obiectivele lucrării științifice. Obiectivele stabilite sunt:

- analizarea parametrilor fizico-chimici ai vinurilor obținute prin etapa tehnologică de maturare pe depozitul fin de levuri din soiurile Sauvignon blanc și Busuioacă de Bohotin;
- identificarea, determinarea și cuantificarea aminoacizilor și aminelor biogene în vederea caracterizării vinurilor și stabilirea influenței pe care o au produsele oenologice utilizate în etapa de maturare;
- analiza parametrilor cromatici ai vinurilor elaborate pentru stabilirea influenței etapei de maturare din fluxul tehnologic de producere a lor;
- evaluarea senzorială a vinurilor obținute, în vederea stabilirii gradului de influență a produselor oenologice de maturare asupra caracteristicilor senzoriale.

Tot în acest capitol au fost inserate materialul și tehnologia aplicată pentru obținerea probelor experimentale luate în studiu, metodele de analiză folosite pentru determinarea caracteristicilor fizico-chimice din vin, descrierea metodei utilizate la determinarea aminoacizilor și aminelor biogene, metoda de analiză organoleptică a probelor luate în studiu, plus analiza statistică și metodele ce au permis interpretarea datelor obținute din punct de vedere statistic.

Pentru îndeplinirea obiectivelor propuse, în lucrarea științifică au fost luate în studiu două soiuri de struguri, unul cosmopolit – Sauvignon blanc și unul autohton, aromat – Busuioacă de Bohotin. Vinificația probelor experimentale a fost realizată în anul 2020, iar imediat după finalizarea procesului de fermentație alcoolică, vinul nou format 1 în cazul soiului Sauvignon blanc și vinul nou format 2 în cazul soiului Busuioacă de Bohotin, au fost transvazate de pe depozitul de levuri, preparate oenologice din levuri selecționate utilizate pentru realizarea conversiei zaharurilor în alcool etilic și dioxid de carbon. Au fost obținute 13 probe experimentale din soiul Sauvignon blanc, dintre care 12 probe tratate cu o doză diferită de produs de maturare diferit și o probă martor, în care nu a fost administrat nici un produs de maturare și 13 probe experimentale din soiul Busuioacă de Bohotin, dintre care 12 probe tratate și o probă martor, de control. Astfel, s-a ajuns la un număr de 26 de probe experimentale luate în studiu pentru îndeplinirea obiectivelor propuse în cadrul tezei de doctorat.

Probele experimentale au fost notate cu cifre de la 1 la 13, urmate de SB, în cazul probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc, respectiv BB în cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, lista fiind următoarea:

- V1S/V1B – BÂTONNAGE PLUS 20KD (4,02g produs/10L vin)
- V2S/V2B – BÂTONNAGE PLUS 150KD (4,02g produs/10L vin)
- V3S/V3B – BÂTONNAGE PLUS ÉLEVAGE (4,02g produs/10L vin)
- V4S/V4B – BÂTONNAGE BODY (6,01g produs/10L vin)
- V5S/V5B – SUPER-MANN (4,02g produs/10L vin)
- V6S/V6B – SPHÈRE BLANC (2,01g produs/10L vin)
- V7S/V7B – SPHÈRE EXPRESS (2,01g produs/10L vin)
- V8S/V8B – TRAP' METALS (8,02g produs/10L vin)
- V9S/V9B – FRESH AROM (3,01g produs/10L vin)
- V10S/V10B – OENOLESS® (4,02g produs/10L vin)
- V11S/V11B - OENOLESS® MP (3,01g produs/10L vin)
- V12S/V12B - POWERLEES® ROUGE (4,02g produs/10L vin)
- V13S/V13B – PROBA MARTOR.

Pentru determinarea parametrilor fizico-chimici, cuantificarea aminoacizilor și aminelor biogene, probele experimentale au fost pregătite spre a fi analizate în Laboratorul de Oenologie al Facultății de Horticultură din Iași, fiind utilizată aparatura specializată din dotare.

În **capitolul al V-lea** sunt inserate discuțiile și rezultatele obținute. Acest capitol este structurat în 3 subcapitole care descriu și prezintă probele experimentale în funcție de principalii parametri fizico-chimici ai vinurilor obținute prin utilizarea unor produse oenologice de maturare, de nivelul de amine biogene și aminoacizi identificați în probele experimentale după 12 luni de maturare pe levuri, respectiv 18 luni și evaluarea senzorială a vinurilor luate în studiu.

Dintre parametrii fizico-chimici determinați pentru a analiza efectul produselor oenologice de maturare, menționăm: concentrația alcoolică sau conținutul de etanol (% vol. alcool), aciditatea totală (g/L $C_4H_6O_6$), aciditatea reală sau pH-ul, conținutul de zaharuri (g/L), extractul sec total (g/L), extractul nereducător (g/L), aciditatea volatila (g/L $C_2H_4O_2$), densitatea (g/cm³), conținutul în acid malic (g/L), conținutul în acid lactic (g/L), plus determinările fizice ale parametrilor de culoare.

În cel de al doilea subcapitol sunt inserate concentrațiile a 7 amine biogene și 22 aminoacizi, determinate după 12 luni, respectiv 18 luni de maturare pe levuri. Mai exact, a fost realizată o analiză din punct de vedere oenologic a variațiilor de amine biogene și aminoacizi în urma administrării de diferite produse oenologice de maturare, în doze diferite și efectele pe care le induc. Au fost determinate concentrațiile următoarelor amine biogene: etanolamină, fenetilamină, histamină, tiramină, spermidină, putresceină și cadaverină.

Variații foarte mari de amine biogene au fost înregistrate la tiramină și putresceină în cazul tuturor probelor obținute din soiul Sauvignon blanc. Valorile tiraminei au fost cele mai mari la probele V12SB, V4SB, V2SB și V3SB în comparație cu proba martor V13SB, după o perioadă de 18 luni de contact cu levurile. Aspect foarte important este faptul că probele experimentale au fost tratate cu produse oenologice de maturare, ce prezintă în compoziția lor levuri inactivate ce aparțin genului *Saccharomyces* și cantități importante de manoproteine, polizaharide, peptide și aminoacizi cu proprietăți antioxidante. Putresceina a înregistrat valori mari la probele V12SB, V3SB și V8SB, maturate pe levuri cu produse ce au un conținut ridicat de polizaharide, manoproteine și în cazul produsului aplicat la proba V8SB, un amestec de PVI/PVPP și chitosan.

De asemenea, în cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, cele mai mari valori au fost înregistrate tot în cazul aminelor biogene putresceină și tiramină. Probele experimentale V1BB, V11BB și V2BB au înregistrat valori mari ale tiraminei după maturarea pe levuri pe o perioadă de 18 luni, creșterile fiind atribuite diferitelor reacții de decarboxilare și hidroliză prin care trec macromoleculele eliberate din pereții de levuri. În cazul probelor V5BB, V4BB, V9BB, V11BB și V10BB, acestea s-au remarcat printr-un conținut ridicat de putresceină, datorat etapei de maturare pe levuri cu produse oenologice ce conțin cantități reprezentative de manoproteine, peptide, polizaharide, ce sunt supuse diferitelor reacții, astfel unele dintre ele trec în amine biogene.

Cu privire la conținutul de aminoacizi din probele experimentale obținute prin etapa de maturare pe levuri timp de 12 luni, respectiv 18 luni, din soiul Sauvignon blanc, valorile aminoacizilor L-alanină, L-leucină, L-valină, L-lizină, L-acid glutamic și L-acid aspartic au fost cele mai mari în cazul tuturor probelor experimentale. De asemenea, în cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, aminoacidul L-alanină a înregistrat cele mai mari valori, urmat de L-valină, L-leucină, L-acid glutamic, L-treonină și L-lizină, după 12 luni de maturare pe levuri. Concentrațiile de L-alanină și L-prolină au crescut considerabil în urma contactului prelungit cu preparatele levuriene, ce prezintă un conținut ridicat de polizaharide, manoproteine, peptide și aminoacizi cu proprietăți antioxidante.

Tot în acest capitol au fost realizate corelații statistice și explicate din punct de vedere oenologic cu privire la conținutul diferit de aminoacizi și cum au variat în funcție de trecerea lor prin reacții de decarboxilare enzimatică în amine biogene.

În ultimul subpunct al acestui capitol au fost inserate diagramele analizei organoleptice ale probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc, respectiv Busuioacă de Bohotin, realizate în anul 2020. Analiza organoleptică a fost realizată la finalul perioadei de maturare pe levuri. Se observă faptul că probele V9SB și V11SB au înregistrat note intense vegetale, distingere fiind o medie înregistrată de 4, respectiv 4,1. Etapa de maturare pe levuri a avut o influență pozitivă la nota minerală, mai ales în cazul probelor V7SB, V8SB, V11SB, unde au fost utilizate produse oenologice ce conțin în compoziția lor cantități importante de aminoacizi, vitamine, manoproteine, polizaharide. Notele florale predomină la probele V8SB, V7SB, V10SB și V11SB. Se observă după adaosul de levuri și contactul prelungit cu ele, o creștere mare la V13SB în ceea ce privește notele olfactive de biscuite și coajă de pâine, cele mai mari valori ale mediei fiind la V4SB, V12SB, V7SB și V6SB.

Cu privire la analiza gustativă a probelor experimentale de Sauvignon blanc, se observă o diminuare a senzației acide după etapa de maturare pe levuri, fapt atribuit polizaharidelor eliberate prin procesul de autoliză enzimatică, care permit echilibrarea delicată a astringenței și a acidității vinurilor după doar câteva luni de contact cu produsele oenologice de maturare.

Probele experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, prin analiză olfactivă au înregistrat o medie mare la note de fructe roșii, cu precizarea că au fost depistate note plăcute și intense de zmeură, căpșuni, drept urmare la probele V7BB, V10BB, V8BB, V4BB și V9BB au fost acordate cele mai mari note. Aceste probe au fost în contact și cu produse oenologice ce au permis îmbogățirea la nivel olfactiv cu note fructate intense. De asemenea fructe exotice, precum mango, papaya au fost depistate prin analiza organoleptică cu medie mare la probele V9BB, V10BB, V11BB și V4BB. În schimb, se observă acordarea de note mai mici în cazul notei olfactive de condimente la probele maturate pe levuri în comparație cu proba martor.

Cu privire la senzațiile gustative, probele experimentale de Busuioacă de Bohotin au o tendință de creștere a senzației acide, cu o medie ce variază de la 3,7 la proba V1BB la 4,9 la proba V10BB. Probele V9BB, V8BB, V6BB, V3BB au înregistrat cele mai mari valori ale mediei la senzația gustativă dulce. Nota de amar a fost mai intensă la probele V6BB, V7BB și V8BB, fapt relevat prin acordarea de puncte mari.

În **capitolul al VI - lea** sunt inserate datele statistice realizate prin evaluarea influenței unor produse oenologice de maturare asupra caracteristicilor de compoziție și senzoriale ale vinurilor obținute. Studiul din punct de vedere statistic s-a bazat pe analiza corelației dintre compoziția produselor oenologice, doza aplicată din fiecare produs în fiecare probă experimentală și caracteristicile senzoriale percepute prin analiză, astfel au fost inserate în prezenta lucrare rezultatele unidirecționale ale testului ANOVA.

Clasificarea după care a fost urmărită și aplicată metoda statistică, a fost efectuată în funcție de clasa principală de substanțe caracteristică fiecărui produs oenologic de maturare utilizat, dar și în funcție de doza aplicată la cele 12 probe experimentale. În aceste condiții, probele de vin au prezentat particularități din punct de vedere senzorial la nivel de intensitate a senzațiilor olfactive și gustative, în funcție de compoziția produsului utilizat. Datorită tehnologiei de producere, trebuie menționat faptul că produsele de maturare sunt bogate în polizaharide, aminoacizi, peptide și alți compuși cu greutate moleculară mare. Produsele prezintă capacitatea de a păstra notele varietale, de a le potența, și de a aduce un plus valoare

prin îmbogățirea cu note senzoriale, cum ar fi de biscuite, autolizat, crocant, coajă de pâine specifice procesului autolitic, echilibru aromatic și complexitate la nivel gustativ.

A fost efectuată analiza multifactorială dintre compoziția unor produse oenologice de maturare și conținutul de aminoacizi și amine biogene din probele experimentale. Au fost efectuate teste, mai exact testul Fisher LSD, analiza de corelație cu privire la perioada de maturare, doza aplicată (g/10L) și conținutul în azot al produselor aplicate.

Analiza discriminantă s-a utilizat pentru a observa separarea rezultatelor obținute în funcție de cele trei criterii de clasificare, tipul de produs oenologic, compoziția produselor oenologice și doza aplicată la fiecare probă de vin.

Analiza componentelor principale (PCA) s-a aplicat pentru a diferenția conținutul probelor experimentale în amine biogene și aminoacizi în funcție de soiul de struguri din care au fost obținute.

Analiza de cluster a permis analiza evoluției celor 22 de aminoacizi și 7 amine biogene prezente în cele 26 probe de vin. Prin intermediul clusterelor a fost posibilă evaluarea aminelor biogene și aminoacizilor dintre cele două perioade de timp 12 luni de maturare pe depozitul fin de levuri, respectiv 18 luni de maturare, momente când au fost realizate determinările prin intermediul clusterelor, astfel a fost descrisă distribuția aminelor biogene și aminoacizilor în funcție de dozele de produse oenologice administrate.

ABSTRACT

Key words: Sauvignon blanc, Busuioacă de Bohotin, ageing on lees, amino acids, biogenic amines, olfactive descriptors, taste descriptors

The doctoral thesis with the title **”Research on the influence of the use of some oenological products on the ageing on lees of white and rosé wines, obtained in the Iasi-Copou vineyard”** was developed in order to highlight the fact that the wines obtained by the maturation on lees stage with different oenological products, standing out for its better structure and products, for its better structure and aromatic complexity, due to the release through the autolysis process from the yeast cells of numerous macromolecules, which have a major influence on the physico-chemical composition of the wine.

The grape varieties chosen, from which the experimental samples were obtained, were Sauvignon Blanc and Busuioaca de Bohotin because they were considered relevant for this study, considering that Sauvignon Blanc is a variety from which numerous wines are obtained worldwide, and later go through the maturation stage on fine deposit of yeasts. Busuioaca de Bohotin variety is an aromatic variety, which stands out for its characteristic varietal notes, studied for its potential of ageing on lees.

The thesis was structured in two main parts, in accordance with current scientific norms, using as bibliographic material a number of 200 references from specialized literature.

The first part, **”Current stage of knowledge”**, includes the bibliographic research. In this part, information from the specialized literature is presented, which briefly describes the stage of ageing on yeasts in the technological flow of white and rosé wines, the autolysis process of yeast cells, addition by oenological products in that technological stage.

The second part, **”Personal contributions”**, is structured in four distinct chapters, and the conclusions drawn from the studies and determinations made in this scientific work.

Chapter III briefly presents the organisational framework of the Valeriu D. Cotea” Oenology Laboratory within the Faculty of Horticulture, Iasi, where the researchers were carried out. The study material was also described, plus its area of origin in brief.

Chapter IV presents the purpose and objectives of the scientific work. The established objectives are:

- analysis of the main physico-chemical composition parameters of the wines obtained from Sauvignon blanc and Busuioaca de Bohotin grape varieties;
- the identification, determination and quantification of amino acids and biogenic amines in order to characterize some wine and establish the influence of the oenological products used in the maturation stage;
- analysis of the chromatic parameters of the elaborated wines to establish the influence of ageing on lees stage in the technological flow of their production;
- the sensory evaluation of the obtained wines, in order to establish the degree of influence of the oenological products on the sensory characteristics.

The materials and technology applied to obtain the experimental samples were inserted in this chapter. Also, in this chapter were included the analysis methods used to determine the

physico-chemical characteristics of the wine, the method used to determine amino acids and biogenic amines, the methods used for organoleptic analysis and statistical analysis with methods that allowed the interpretation of the data obtained from a statistical point of view.

In order to fulfill the proposed objectives, two varieties of grapes were studied in the scientific work, one cosmopolitan – Sauvignon blanc and one autochthonous, aromatic – Busuioaca de Bohotin. The winemaking process of the experimental samples was carried out in 2020. Immediately after the completion of the alcoholic fermentation process, the new Sauvignon Blanc wine and the new Busuioaca de Bohotin wine, were racked. 13 experimental samples from the Sauvignon blanc variety were obtained, of which 12 samples were treated with different doses of various ageing product and a control sample, with no additions. At the same time, 13 experimental samples from the Busuioaca de Bohotin variety, 12 samples treated with a different dose of various ageing products and one control sample. Thus, 26 experimental samples were taken into study, as to fulfill the objectives undertaken in the doctoral thesis.

The experimental samples were marked with numbers from 1 to 13, followed by SB, in the case of the wine obtained from Sauvignon blanc grape variety, respectively BB, in the case of the wine obtained from Busuioaca de Bohotin grape variety, the list being as follows:

- V1S/V1B (4.02 g product/ 10 L wine);
- V2S/V2B (4.02 g product/ 10 L wine);
- V3S/V3B (4.02 g product/ 10 L wine);
- V4S/V4B (6.01 g product/ 10 L wine);
- V5S/V5B (4.02 g product/ 10 L wine);
- V6S/V6B (2.01 g product/ 10 L wine);
- V7S/V7B (2.01 g product/ 10 L wine);
- V8S/V8B (8.02 g product/ 10 L wine);
- V9S/V9B (3.01 g product/ 10 L wine);
- V10S/V10B (4.02 g product/ 10 L wine);
- V11S/V11B (3.01 g product/ 10 L wine);
- V12S/V12B (4.02 g product/ 10L wine);
- V13S/V13B (no additions).

For the determination of the physico-chemical parameters, the quantification of amino acids and biogenic amines, the experimental samples were analysed in the Oenology Laboratory of the Faculty of Horticulture in Iasi, using the specialized infrastructure provided.

In the **Vth chapter**, the discussions and the obtained results are presented. This chapter is structured in 3 subchapters that describe and analyse the experimental samples according to the main physico-chemical parameters of the wines obtained by using some oenological ageing products, the level of biogenic amines and amino acids identified in the experimental samples after 12 months of ageing on lees, respectively 18 months, and the sensory evolution of the wines under study.

Among the physico-chemical parameters determined to analyse the effect of oenological ageing products are: alcoholic concentration or ethanol content (% vol.), total acidity (g/L $C_4H_6O_6$), real acidity or pH, sugar content (g/L), total dry extract (g/L), non-reducing extract (g/L), volatile acidity (g/L $C_2H_4O_2$), density (g/cm³), content in malic acid (g/L), content in lactic acid (g/L), and physical determination of color parameters.

In the second subchapter, the concentrations of 7 biogenic amines and 22 amino acids are presented, determined after 12 months and 18 months of ageing on lees. More precisely, analysis was made of the variations of biogenic amines and amino acids on the 26 wine samples and the effects they induce. Concentrations of the following biogenic amines were determined: ethanolamine, phenethylamine, histamine, tyramine, spermidine, putrescine and cadaverine.

Large variations of biogenic amines were recorded for tyramine and putrescine in the case of all samples obtained from the Sauvignon blanc variety. Tyramine values were highest in samples V12SB, V4SB, V2SB and V3SB compared to the control sample, V13SB, after a period of 18 months of contact with lees. A very important aspect is the fact that the experimental samples were treated with oenological ageing products, which present in their composition inactivated yeasts belonging to genus *Saccharomyces* and significant amounts of mannoproteins, polysaccharides, peptides and amino acids with antioxidant proprieties. Putrescine recorded high values in samples V12SB, V3SB and V8SB, ageing on lees with products that have a high content of polysaccharides, mannoproteins, and in the case of the product applied to V8SB, a mixture of PVI/PVPP and chitosan.

Also in the case of the experimental samples obtained from Busuioaca de Bohotin variety, the highest values were recorded in the case of the biogenic amines putrescine and tyramine. Experimental samples V1BB, V11BB and V2BB recorded high values of tyramine after ageing on lees a period of 18 months, the increases being attributed to different decarboxylation and hydrolysis reactions through which macromolecules released from yeast wall pass into the wine. In the case of samples V5BB, V4BB, V9BB, V11BB and V10BB, they were distinguished by a high content of putrescine, due to the stage of ageing on lees with oenological products containing representative amounts of mannoproteins, peptides, polysaccharides, which are subjected to different reactions and thus some of them pass into biogenic amines.

Regarding the amino acids content of the experimental samples obtained through ageing on lees stage for 12 months, respectively 18 months, from the Sauvignon blanc variety, the values of the amino acids L-alanine, L-leucine, L-valine, L-lysine, L-glutamic acid and L-aspartic acid were the highest in all experimental samples. As in the case of experimental samples obtained by Busuioaca de Bohotin variety, the amino acid L-alanine recorded the highest values, followed by L-valine, L-leucine, L-glutamic acid, L-threonine and L-lysine after 12 months of ageing on lees. The concentration of L-alanine and L-proline increased considerably following prolonged contact with ageing product, which have a high content of polysaccharides, mannoproteins, peptides and amino acids with antioxidant proprieties.

Also, in that chapter, correlations were made and explained from an oenological point of view regarding the variations of amino acids, and how they ranged according to their passage through enzymatic decarboxylation reactions into biogenic amines.

In the last subsection of this chapter, the charts of organoleptic analysis of the experimental samples obtained from the Sauvignon blanc variety, respectively Busuioaca de Bohotin, carried out in 2020, were commented. The organoleptic analysis was carried out at the end of the ageing on lees period. It can be seen that the V9SB and V11SB samples recorded intense vegetal olfactive notes, the distinction being a recorded average of 4 and 4,1. The stage of ageing on lees had a positive contribution to the mineral note, especially in the case of

samples V7SB, V8SB, V11SB, where oenological products were used that contain in their composition important amounts of amino acids, vitamins, mannoproteins, and polysaccharides. Floral notes predominate in samples V8SB, V7SB, V10SB and V11SB. Is observed after the addition of yeasts and prolonged contact with them, a large increase in V13SB in terms of olfactory notes of biscuits and bread crust, with the highest average values being in V4SB, V12SB, V7SB and V6SB.

Regarding to the taste analysis of the experimental samples of Sauvignon blanc, a decrease in the acid sensation is observed after the ageing on lees stage, a fact attributed to the polysaccharides released through the enzymatic autolysis process, which allow delicate balance of the astringency and acidity of the wine after only a few months of contact with the oenological products of ageing.

The experimental samples obtained from Busuioaca de Bohotin variety, through olfactory analysis, recorded a high average for red fruits note, specifying that pleasant and intense notes of raspberry, strawberry were detected, as can be seen in the samples V7BB, V10BB, V8BB, V4BB and V9BB. Also, exotic fruits such as mango, papaya were detected by organoleptic analysis with a high average in samples V9BB, V10BB, V11BB and V4BB. In contrast, lower scores for the spice olfactory note are observed in samples ageing on lees compared with the control sample.

Regarding the taste sensations, the experimental samples of Busuioaca de Bohotin have a tendency of increase the sour note, with an average that varies from 3,7 in V1BB sample to 4,9 in the V10BB sample. V8BB, V6BB, V3BB recorded the highest mean values for the sweet taste sensation. The bitter note was more intense in samples V6BB, V7BB and V8BB. This fact appears due to the composition of the ageing products.

In the chapter VIth chapter, the statistical data obtained by evaluating the influence of ageing products on the compositional and sensory characteristics of the obtained wines is presented. The study from a statistical point of view was based on the analysis of the correlation between the composition of the oenological products, the applied dose of each product in each experimental sample and the sensory characteristics perceived through the analysis, thus the one-way results of the ANOVA test were inserted in this paper.

The classification according to which statistical method was followed and applied, took into account the chemical class of main substances, from the composition of each oenological products of ageing used, but also the dose applied to the 12 experimental samples. Under these conditions, the wine samples presented particularities from a sensory point of view, at the level of intensity of olfactive and taste sensations, depending on the composition of the product used. Due to the production technology, it should be noted that the ageing products are rich in polysaccharides, amino acids, peptides and other high molecular weight compounds. The products show the ability to preserve the varietal notes, to enhance them, and to bring added value through the appearance of new notes such as biscuit, autolyse, crunchy, bread crust specific to the autolytic process, aromatic balance and complexity at taste level.

Also, from a statistical point of view, the multifactorial analysis was performed between the composition of some oenological ageing products and the content of amino acids and biogenic amines in the experimental samples. Tests were carried out, namely the Fischer LSD

test, correlation analysis regarding ageing on lees period, applied dose (g/10L) and nitrogen content of applied products.

The discriminant analysis was used to observe the separation of the results obtained according to the three classification criteria, the type of oenological product, the composition of oenological ageing products and the dose applied to each wine sample. Principal component analysis was applied to differentiate the content of the experimental samples in biogenic amines and amino acids depending on the grape variety from which they are obtained.

The cluster analysis allowed the analysis of the evolution of the 22 amino acids and 7 biogenic amines present in the 26 wine samples, using clusters. It was thus possible to describe and discriminate the evolution of analysed biogenic amines and amino acids after 12 months of ageing in contact with lees, respectively 18 months of contact, according to the doses of oenological products administered.

PARTEA I
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

PART I
PRESENT STATE OF KNOWLEDGE

CAPITOLUL 1 STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR PRIVIND ETAPA DE MATUARE A VINURILOR PE LEVURI CHAPTER 1 PRESENT STATE OF RESEARCH REGARDING THE AGEING STAGE OF WINES ON LEES

1.1 Generalități privind etapa de maturare pe levuri a vinurilor albe și roze

Încă din Antichitate, romanii au fost printre primele popoare care au observat că vinul rămas pe sedimentul propriu de levuri prezintă caracteristici foarte diferite în comparație cu vinurile ce au fost separate de levuri. Procesele chimice complexe, ce se numesc astăzi maturare pe levuri și implicit autoliză, nu au fost bine înțelese la aceea perioadă, însă diferențele precum onctuositatea, aromele de levuri, de pâine prăjită, biscuite și florale au fost percepute în vinurile finite, plus o scădere considerabilă a acidității și astringenței, toate acestea s-au datorat păstrării vinurilor pe sedimentul propriu de levuri (Robinson J. S., 2006).

De la aceste începuturi, metoda de maturare *sur lie* a avut o evoluție crescătoare, fapt pentru care vinificatorii utilizează metoda acum în tehnologia de obținere a celor mai bune vinuri din lume. Beneficiile procesului de maturare pe levuri au fost studiate în producția de *champagne* în Franța, unde legislația le permite comercializarea abia după maturarea pe depozitul de levuri timp de 15 luni în butelii de sticlă. Pe lângă Franța care utilizează metoda la producerea de *champagne*, de menționat faptul că Franciacorta din Italia, Cava din Spania și Cap Classique din Africa de Sud folosesc tot metoda *sur lie* (Karen MacNeil, 2001).

Maturarea pe levuri este o practică oenologică tradițională folosită în tehnologia producerii vinurilor. După procesul de fermentație alcoolică, vinurile sunt plasate în butoaie de stejar, rezervoare din oțel inoxidabil sau butelii de sticlă și maturate pe levuri sau diverse preparate levuriene timp de câteva săptămâni sau luni. Levurile sunt agitate periodic cu un dispozitiv (*bâtonnage*) (Charpentier C., 2000).

Sur lie reprezintă termenul care se utilizează atunci când vinul este menținut în contact cu levurile și *bâtonnage* este termenul care se referă la amestecarea levurilor și repunerea lor în contact cu masa vinului (Parker R. M. Jr., 2000).

Metoda *sur lie* de maturare a vinului este utilizată în câteva regiuni viticole, în special în regiunile Nantes, Savoie și Burgundia din Franța. Termenul *sur lie* este emis prin decret de producție în aceste regiuni, în special în cazul vinurilor Muscadet, vinurilor din regiunea Nantes (*Gros Plant Nantais*), din regiunea *Golfe du Lion* (*Vin de Pays des Sables du Golfe du Lion*) și din regiunea *Pays D'Oc*. Textele decretelor țin cont de condițiile de producție, precizând în special că vinurile trebuie să fie încă pe depozitul de levuri fine în momentul îmbutelierii (Ferrari G., Feuillat M., 1988).

În regiunea franceză Burgundia, vinurile albe *grands crus* sunt în mod tradițional maturate pe levuri, această tehnică a devenit cunoscută în ultimii ani și utilizată în mod curent în alte regiuni, chiar în etapa de maturare a vinurilor roșii. Etapa tehnologică de maturare pe levuri este realizată pentru a: îmbunătăți structura, crește complexitatea aromatică și corpolența vinului (Charpentier C., 2000).

Vinul, după formare, parcurge etapa de maturare, pentru a obține stabilitate fizico-chimică și a dobândi însușiri calitative superioare. O parte din procesele fizico-chimice din perioada de formare a vinului continuă în această etapă tehnologică, iar prezența oxigenului conduce la transformări chimice complexe și ireversibile. După etapa de maturare, vinul capătă ținută, ce se caracterizează prin limpiditate, culoare, stabilitate, cu un plus de însușiri calitative și organoleptice noi, astfel se formează "bucetul de maturare" al vinului (Țârdea C., 2010).

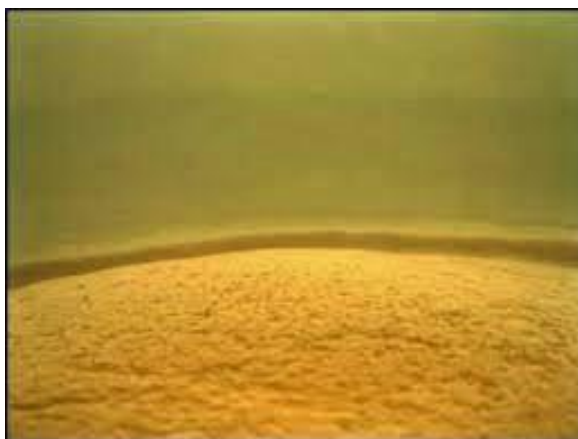


Figura 1.1 – Depozitul de levuri prezent în damigeana de vin (www.brsquared.org)

Figure 1.1 Yeasts present in the wine tank (www.brsquared.org)

Maturarea pe levuri este o tehnică biologică de maturare, ce constă în menținerea vinurilor în contact cu sedimentul de levuri timp de câteva luni/ câțiva ani, pentru a crește intensitatea senzațiilor organoleptice prin eliberarea din celulele de levuri a polizaharidelor, manoproteinelor și a altor compuși chimici, astfel încât prin intermediul unor metaboliți ai levurilor sau prin formarea de noi compuși chimici se îmbunătățește complexitatea aromatică.

Levurile rămase după formarea vinului reprezintă celulele moarte ce au realizat procesul de fermentație alcoolică a mustului. Depozitul de levuri din vin este definit după reglementările franceze astfel: "reziduul care se depozitează în recipientele ce conțin vinurile după fermentație pe durata depozitării sau după tratamentele autorizate pe perioada de vinificație, precum și reziduul obținut prin filtrarea sau centrifugarea vinurilor după procesul de fermentație alcoolică". Trei categorii de levuri, obținute la sfârșitul fermentației alcoolice, au fost distinse de Direcția Generală de Taxe, în Franța, în anul 1987:

- ✓ "levurile curate" (*clear lees*) sunt cele obținute după limpezire, sunt produse de natură microbiologică, ce nu au ajuns la uscarea completă și care mai conțin mici cantități de vin;
- ✓ "levurile grase" (*fatty lees*) sunt cele care conțin mai puțin vin decât "levurile curate";
- ✓ "levurile uscate" (*dry lees*) sunt levurile din care nu se poate extrage nici o cantitate de vin (Charpentier C., 2010).

Un vin este considerat *sur lie*, atunci când nu se realizează nici un tratament de limpezire după încheierea fermentației alcoolice. Încă din anul 1987, în Franța, reglementările

autorizează utilizarea în vinificație a levurilor proaspete, sănătoase, nediluate, în proporție de până la 5%, care provin din producția recentă de vinuri seci (Fleet GH., 1991).

Vinurile maturate după metoda Burgundia se păstrează, în general, în butoaie de 228 L, în care sunt agitate în mod periodic (*stirring*): vinul se agită cu un dispozitiv special pentru a repune în suspensie levurile. Acest procedeu de agitare nu este supus unor reguli precise; frecvența poate varia considerabil în funcție de practica vinicolă din fiecare cramă sau centru de vinificație (Caroline Fornairon-Bonnefond ș.a., 2002).

Maturarea vinului în contact cu levurile moarte (*sur lie*) reprezintă o metodă utilizată cu scopul de a îmbunătăți profilul senzorial al vinului și este utilizată frecvent în tehnologia de producere a vinurilor albe în regiunea Burgundia și mai puțin în fluxul tehnologic de producere a vinurilor roșii. Imediat după moartea fiziologică a levurilor, membranele celulare se autodegradează, permițând enzimelor hidrolitice să intre în contact cu alți constituenți intracelulari (Hough, Maddox ș.a., 1970). Etapa de maturare este utilizată în mod obișnuit și în alte țări viti-vinicole, cum ar fi Elveția, Australia, unde vinurile rămân mai puțin timp pe levuri (2 până la 6 luni comparativ cu 12 până la 15 luni în Franța) (Stuckey W. ș.a., 1991).



Figura 1.2 – Depozitul de celule de levuri prezent în masa vinului

(www.wine-searcher.com)

Figure 1.2 – The deposit of yeast cells presents in the mass of the wine

(www.wine-searcher.com)

Pe perioada contactului levurilor cu vinul are loc procesul de autoliză a levurilor, astfel se eliberează mai mulți compuși chimici care exercită un impact major asupra stabilității și caracteristicilor senzoriale ale vinurilor. Din punct de vedere organoleptic, mai multe cercetări indică faptul că maturarea pe levuri a condus la vinuri echilibrate, fine și la modificarea intensității aromatice a vinurilor (Feuillat M., Charpentier C. ș.a., 1994).

Prin procesul enzimatic de autoliză, se continuă o parte din procesele fizico-chimice din etapa de formare a vinului, astfel apar alte transformări chimice complexe determinate de contactul oxigenului cu vinul, plus acțiunea pe care o exercită asupra vinului. Transformările care au loc sunt ireversibile, iar vinul capătă ținută (intensitate colorantă, limpiditate, stabilitate), plus însușiri organoleptice îmbunătățite (Feuillat M., 1998).

Autoliza levurilor se desfășoară sub influența enzimelor care încep să depolimerizeze învelișurile celulare ale constituenților peretelui celular. În acest proces, nu doar constituenții peretelui celular, ci și conținutul citoplasmatic se eliberează în masa vinului. Pereții celulelor de levuri sunt formați din chitină, glucani și manoproteine. Peretele celular reprezintă 30% din greutatea uscată a levurii, iar în constituția sa polizaharidele reprezintă aproximativ 85% și

proteinele 15%. Polizaharidele din peretele celular al levurilor cresc percepția senzațiilor gustative, reduc astringența și senzația gustativă de amar, îmbunătățind densitatea vinului (Nguyen C. M., ș.a., 1998). Mai mult, maturarea pe levuri este un proces care protejează aromele olfactive fructate, astfel ajută la păstrarea aromelor varietale tipice soiului. Pereții celulari ai levurilor conțin glutatation, o tripeptidă cu grupări tiol, ce prezintă proprietăți antioxidante puternice. Glutathionul este folosit în prezent de mai mulți vinificatori pentru a controla oxidările și a minimiza nivelurile de SO₂, care sunt mai mari în vinurile dulci comparativ cu cele seci (Moine-Ledoux V., Dubourdieu D., 2002).

Autoliza levurilor este un proces foarte lent, ce depinde și de sușa de levură, așa că selectarea sușelor potrivite poate ajuta la accelerarea acestuia. Producția de biomasă de levuri pure dintr-o singură cultură de levuri selectată cu proprietăți potrivite pentru etapa de maturare, îmbunătățește aplicarea din punct de vedere microbiologic a acestei tehnici. Mai mult de atât, preparatele din mai multe specii de levuri pot fi folosite pentru procesele enzimatiche, cum e cazul maturării pe levuri, pentru a crește cantitatea de polizaharide eliberate prin autoliză și a oferi complexitate aromatică vinurilor.

Utilizarea etapei de maturare pe levuri în procesul tehnologic de obținere a vinurilor albe, ajută la îmbunătățirea complexității aromatice și a echilibrului de arome, iar în același timp conferă protecție compușilor de aromă împotriva proceselor oxidative. În plus, maturarea pe levuri poate reduce aciditatea, astfel oferă vinului echilibru necesar. Procesul se aplică în mai multe recipiente: damigene de sticlă, butoaie de stejar, rezervoare din oțel inoxidabil. Se pot folosi mai multe biotehnologii, de la utilizarea levurilor de fermentație până la producerea de levuri pure dintr-o anumită sușă de levuri sau chiar utilizarea levurilor *non-Saccharomyces*.

Chiar dacă etapa de maturare tradițională pe propriul sediment de levuri prezintă avantaje incontestabile, precum ameliorarea stabilității fizico-chimice și a caracteristicilor organoleptice ale vinurilor, poate prezenta și o serie de inconveniente, drept urmare cercetarea oenologică a încercat prin studii amănunțite și diverse teste să elaboreze biotehnologii de obținere a unor adjuvanți tehnologici. Adjuvanți se formează în urma procesului de degradare termoenzimatică a pereților celulari de levuri, testate ulterior, obținându-se astfel produse oenologice ce ajută la accelerarea procesului de maturare a vinurilor prin optimizarea profilului senzorial al vinului tratat, iar în același timp au o contribuție semnificativă în stabilizarea vinului din punct de vedere fizico-chimic (Croitoru C., 2005a).

1.2 Aspecte cu privire la procesul de autoliză a levurilor pe perioada maturării vinurilor

Autoliza reprezintă procesul de autodegradare enzimatică a constituenților din celule de levuri. Procesul are loc imediat după moartea celulelor de levuri, la sfârșitul fermentației alcoolice, în perioada de maturare pe levuri a vinurilor.

Salkowski a folosit pentru prima dată termenul de "autoliză" în anul 1875 (Feuillat M., 1998), iar în anii 1950 s-au realizat primele cercetări privind bazele biochimice ale autolizei levurilor utilizate în panificație (Vosti D. C., Joslyn M. A., 1954).

Autoliza este termenul folosit pentru a descrie reacțiile ce apar la levurile neviabile (levuri care și-au pierdut capacitatea de a se înmulți). Hidroliza biopolimerilor intracelulari de către enzimele endohidrolaze, indusă de moartea celulară și urmată de formarea de produși cu

greutate moleculară mică era definiția autolizei în anul 1981, dată în urma cercetărilor cu referire la fenomenul litic provocat de acțiunea intracelulară enzimatică în celulele de levuri (Babayan T. L. ș.a., 1981).

Cercetările din anii 1980 au divizat mecanismul de autoliză în trei etape distincte: prima fiind desprinderea structurilor intracelulare (membrană citoplasmatică și lizozomi), astfel se produce eliberarea enzimelor hidrolitice și a substraturilor acestora; odată ce enzimele sunt activate, ele interacționează cu polimerii intracelulari, ducând la acumularea de produse hidrolizate în spațiul periplasmatic; în ultimă fază, masa moleculară a produselor de hidroliză scade, astfel încât proteinele, polizaharidele sunt suficient de mici pentru a difuza în afara celulei, în mediul extracelular (Babayan T. L. ș.a., 1985).

Autoliza are loc în mod natural la sfârșitul fazei staționare de creștere, concomitent cu îmbătrânirea celulelor de levuri. Cu toate acestea, cercetătorii au reușit să inducă procesul de autoliză în celulele de levuri. Investigațiile cu privire la factori care influențează procesul autolitic au condus la o distingere a autolizei naturale de autoliza indusă, care este exploatată pe scară largă în diverse aplicații industriale. Într-adevăr, controlul modificărilor autolitice ale levurilor în industria berii, precum și utilizarea autolizei în producerea de nutrienți levurieni au stimulat interesul general privind problematica procesului de autoliză. Compușii de autoliză ai levurilor sunt utilizați pentru a produce compuși volatili în industria alimentară, cu implicații considerabile în aroma și culoarea produselor alimentare. Extractul de levuri este utilizat ca aditiv în producția de pastă de carne, umplutură pentru plăcinte, supe, sosuri și gustări reci. Autolizatul de levuri reprezintă o sursă bună de nutrienți, dintre care menționăm proteine, vitamine, fibre și micronutrienți (Alexandre H., 2011).

Cercetările ulterioare au propus patru etape descriptive a procesului de autoliză a celulelor de levuri:

- degradarea endostructurilor celulare eliberând proteaze vacuolare în citoplasmă;
- inhibarea proteazelor eliberate de către inhibitori citoplasmatici specifici, urmată de o fază de activare datorată degradării acestor inhibitori;
- hidroliza componentelor polimerice intracelulare și acumularea produselor de hidroliză în spațiul restrâns de peretele celular;
- eliberarea produselor hidrolitice atunci când masa lor moleculară este suficient de mică, pentru a deține capacitatea de a traversa porii peretelui celular (Cebollero E. ș.a., 2005).

Procesul prezintă un interes mare în rândul cercetătorilor biochimici, deoarece este utilizat în extracția și purificarea enzimelor și coenzimelor. În industria vinului, autoliza levurilor este importantă în producția de vinuri spumante, sherry, vinuri albe, produse după un contact prelungit cu levurile, metoda *sur lie* (Charpentier C., Feuillat M., 1993).

În cazul vinurilor spumante obținute prin metoda *champenoise*, vinul din sticlă este menținut în contact cu levurile o perioadă lungă de timp (de la un an până la 3 ani), imediat după fermentarea secundară în butelii de sticlă (Alexandre H., Guillox-Benatier M., 2006).

În timpul acestui contact prelungit cu levurile (vinul maturat pe levuri sau vinul spumant), se produce autoliza și în consecință vinul este îmbogățit cu componentele autolizatului. Trebuie remarcat faptul că mulți factori influențează calitatea și cantitatea

autolizatului de levuri. Factorii importanți sunt sușa de levuri utilizată, condițiile sale de creștere și populația formată, temperatura de depozitare, conținutul de alcool, pH-ul vinului și durata contactului cu levurile. Constituenți principali formați pe parcursul procesului sunt compuși azotați, polizaharidele, componentele acizilor nucleici, acizii grași, diverse vitamine și compuși aromatici. Aceștia, plus alți componenți ai autolizatului joacă un rol important în aroma și calitatea finală a vinurilor spumante și liniștite (Martinez-Rodriguez A. J. ș.a., 2001a, 2001b).

În oenologie, înțelegerea procesului de autoliză și a efectelor sale este deosebit de importantă pentru vinurile care sunt maturate în prezența sedimentului propriu de levuri sau pe preparate levuriene perioade îndelungate de timp.

Modificările în organizarea structurală a levurilor pe perioada depozitării/maturării vinului au fost studiate în detaliu la 1982. Studiile realizate au condus la observarea și notarea următoarelor modificări la nivel celular: scăderea dimensiunii celulei, alterarea progresivă a integrității citoplasmei și a organelor celulare, separarea progresivă a membranei plasmatică din peretele celular și îngroșarea peretelui celular, fără a se dezintegra. Suprafața externă a celulei a fost schimbată în totalitate. Aceste schimbări au fost asociate cu două fenomene celulare, creșterea conținutului de polizaharide și a raportului manoză/glucoză la nivelul peretelui celular (Martinez-Rodriguez A. J. ș.a., 2001; Charpentier C. ș.a., 1986).

În vinificație, procesul de autoliză are loc în perioada etapei de maturare pe levuri cu sau fără agitare periodică (*bâtonnage*). Cu toate acestea, vinurile necesită condiții specifice, impuse de procesul de autoliză, mai exact un pH scăzut, cu valori cuprinse între 3,0 ÷ 3,5 și temperaturi scăzute, mai mici de 15 °C. Aceste condiții sunt foarte diferite de cele optime pentru autoliză (pH=5, temperatura de 45 °C), însă scăderea randamentului procesului autolitic este compensată de lungimea perioadei de maturare pe levuri, câteva luni sau câțiva ani (Charpentier C., 2010).

Studiile privind autoliza levurilor în condiții acide au reușit să dividă desfășurarea procesului în două etape distincte: proteoliza și degradarea peretelui celular.

Proteoliza – celula de levuri conține o gamă largă de enzime hidrolitice, implicate în procesul de autoliză, proteazele fiind cele mai studiate dintre acestea. Folosind inhibitori specifici de proteaze, s-a arătat că la pH-ul vinului, proteaza A reprezintă principala enzimă implicată în procesul de autoliză, fiind responsabilă de eliberarea a 85 % din azotul total (Lurton L. ș.a., 1989). Proteaza A este o endopeptidază care prezintă capacitatea de a produce o proporție mare de peptide (Alexandre H. ș.a., 2001).

Din perspectiva biochimică, proteoliza se desfășoară în cinci etape:

- dezintegrarea sistemului membranal al celulei (de exemplu lizozomi, membrana citoplasmatică, alte organite) care permit eliberarea enzimelor hidrolitice în citoplasmă;
- inactivarea inhibitorilor specifici ai enzimelor prin acțiunea proteazelor sau activarea proteolitică a acestor enzime;
- degradarea enzimatică a macromoleculelor intracelulare, ce duce la o acumulare a produselor de degradare în spațiul restricționat de peretele celular;
- creșterea porozității peretelui celular, permițând eliberarea produselor autolitice în mediul extracelular;

- degradarea autolitică suplimentară a substanțelor din mediul extracelular de către enzimele prezente în levuri.

Degradarea peretelui celular – În celula de levuri din specia *Saccharomyces cerevisiae*, peretele celular reprezintă 15÷30 % din greutatea uscată a celulei. Celula de *Saccharomyces cerevisiae* are peretele celular compus în principal din glucani (cu 1,3 – β și 1,6 – β legături), chitină și proteine interconectate prin legături covalente și necovalente. 1,3- β -glucan reprezintă principala componentă a peretelui celular și formează o microfibrilă elastică cu schelet polizaharidic care înconjoară celula, astfel alți compuși sunt ancorați prin legături covalente la peretele celular. Chitina este adesea legată încrucișat de compusul 1,3- β -glucan. Astfel, autoliza reprezintă un fenomen natural în producția vinului, care a fost folosit și ulterior optimizat în vederea obținerii extractului de levuri, cu utilizare în industria alimentară.

Într-adevăr, procesul de autoliză are o importanță pentru producători de vinuri spumante prin metoda clasică, *champenoise* și a celor de vinuri albe, prin metoda de maturare *sur lie*. În cazul vinului spumant produs prin metoda *champenoise*, vinul, după cea de a doua fermentație realizată în butelii de sticlă, este menținut în contact cu sedimentul de levuri o perioadă îndelungată de timp (de 1 până la 3 ani) (Francioli S. ș.a., 2003).

Pe parcursul autolizei au fost depistate o serie de schimbări biochimice și morfologice benefice pentru vinurile spumante, așa cum au fost menționate mai sus, schimbări datorate în mare parte activității enzimelor hidrolitice. Dintre toate enzimele implicate în proces, activitățile proteazei au fost studiate pe larg. În condiții acide folosind inhibitori specifici de proteaze, s-a demonstrat că proteaza A este principala enzimă implicată în etapa de proteoliză, chiar dacă a fost depistată prezența a numeroase enzime proteolitice la nivel celular în levuri. Prin activitatea proteazei A pe parcursul procesului de autoliză se eliberează până la 80 % din azotul total prezent în vinuri. Utilizând o sușă de levuri mutant din specia *Saccharomyces cerevisiae*, mai exact *APEP4* cu scopul de a observa acțiunea enzimei proteaza A, s-a demonstrat că aceasta este responsabilă de 60 % din azotul eliberat pe parcursul procesului de autoliză în condiții de vinificație. De asemenea, au fost identificate și alte proteaze acide, din clasa *Yapsin* (*Yapsin 1*, *Yapsin 2*, *Yapsin 3*) care susțin aceeași teorie și prezintă capacitatea să pună în liberare din celula de levuri în masa vinului până la 80 % din azotul existent (Hernawan T., Fleet GH., 1995).

Într-un studiu recent efectuat, în condiții de vinificație, activitatea proteolitică a levurilor a arătat că o inducție de șase ori, după transformarea și epuizarea zaharurilor, urmată de o scădere a activității proteazei s-a observat în momentul când a început autoliza celulelor de levuri. Pe parcursul maturării, această activitate proteolitică este dependentă de temperatură și de pH. S-a raportat faptul că în vinurile cu valoarea pH de 3, menținute la o temperatură de 10 °C, activitatea intracelulară a proteazei a înregistrat o scădere după 3 luni de maturare, în timp ce în cazul acelorași vinuri, însă depozitate la temperatura de 20 °C, activitatea proteazei la nivel intracelular a scăzut considerabil în primele două luni de depozitare pe levuri. Folosind aceleași condiții, s-a măsurat o activitate a proteazei la nivel extracelular foarte scăzută, fapt ce explică că procesul autolitic este lent.

În cazul vinului spumant, activitatea proteolitică scade în timpul fermentației active în butelii de sticlă și în următoarele luni, însă după cele 9 luni de fermentație și maturare, activitatea proteolitică intracelulară crește foarte mult (Alexandre H. ș.a., 2001). În procesul de maturare pe levuri a vinului spumant, activitatea proteolitică este variabilă și în funcție de sușă

de levuri selecționate utilizată. Deși puține studii de specialitate au reușit să raporteze măsurători ale enzimelor implicate în degradarea peretelui celular pe parcursul autolizei, în condiții de vinificație s-a evidențiat faptul că peretele celular suferă modificări la rândul său, evidențiat adeseori în studii microscopice și în cele cu privire la compoziția peretelui celular pe perioada autolizei (Martinez-Rodriguez A.J. ș.a., 2001).

Peretele celular al speciei de levuri *Saccharomyces cerevisiae* poate reprezenta 20 % sau 30 % din masa celulară uscată. Acesta este compus în principal din manoproteine și β -glucani (85÷90 % din masa uscată a peretelui celular). Glucani constituie stratul interior al peretelui celular, iar manoproteinele sunt încorporate în acest strat și îl acoperă. Cu privire la enzimele implicate în degradarea peretelui celular al levurii, a fost demonstrată intervenția glucanazelor (Klis F. M. ș.a., 2002).

β -glucanazele, clasificate ca endo- și exo-glucanaze, hidrolizează legăturile β -hidroxil-glicozidice ale lanțurilor de β -glucani, fapt ce conduce la eliberarea de glucoză, oligozaharide și manoproteine prinse în peretele celular de β -glucani printr-o legătură covalentă. Nu există încă studii cu referire la cinetica activității β -glucanazei pe parcursul procesului de autoliză celulară în vin, nici despre parametrii oenologici care îi afectează activitatea. Acțiunea enzimelor a fost dedusă din compușii eliberați. Pereții celulari de levuri eliberează aminoacizi pe parcursul autolizei, fapt ce reflectă activitatea proteolitică. În afară de aminoacizi, degradarea peretelui celular conduce și la eliberarea altor macromolecule, cum ar fi polizaharide (Moreno-Arribas V. ș.a., 1996).

Studiile revizuite de cercetători în domeniu au rezumat degradarea peretelui celular astfel: în prima etapă, glucani sunt hidrolizați de glucanaze, astfel are loc eliberarea manoproteinelor prinse sau legate covalent de glucani; în cea de a doua etapă, are loc eliberarea de glucani, fie prin activitatea glucanazelor din interiorul peretelui celular, fie prin activitatea glucanazelor solubilizate în mediu. În ultima etapă, prin activitatea proteolitică are loc degradarea fracțiunii proteice a manoproteinelor.

Concomitent cu studiile biochimice, au fost utilizate diferite tehnici microscopice pentru a putea observa schimbările ce se petrec în peretele celular levurian. Deși, proteazele și glucanazele degradează peretele celular, trebuie menționat faptul că nu are loc nici o ruptură la nivelul peretelui celular. Peretele celular al celulei de levuri, crescută timp de 24 de ore într-un mediu sintetic, este gros și neted, poate fi ușor distins de membrana plasmatică la microscop. După procesul de autoliză, celulele de levuri sunt mult mai mici și prezintă riduri sau pliuri și creste. Aceste riduri sunt atribuite plasmolizei, care este susținută de o creștere a dimensiunii vacuolei în urma solubilizării conținutului citoplasmatic. Aceleași studii au comparat modificările structurale și ultrastructurale la nivel celular în timpul autolizei, într-un sistem model de vin și în vinurile spumante. După 24 de ore de la incubare în sistemul de vin model, celulele de levuri și-au pierdut cea mai mare parte a conținutului citoplasmatic și au o vacuolă mare, în timp ce levurile cu vârsta de 12 luni de la incubare posedă o mare parte din conținutul lor citoplasmatic și o vacuolă mică caracteristică. Aceste observații reflectă faptul că la nivel celular pe perioada maturării vinurilor spumante pe levuri, condițiile de maturare nu sunt printre cele mai optime.

Pentru a rezuma, evenimente diferite au loc în celulele de levuri pe parcursul autolizei, în cazul vinurilor spumante etapele fiind următoarele: inițial, după cea de a doua fermentație,

celulele de levuri sunt alungite și ovoide. Peretele celular este gros și neted. În interiorul celulei, o vacuolă mare este înconjurată de corpuri sferice. La 3-6 luni de maturare pe levuri, celula și vacuola au dimensiuni mai mici. Corpurile sferice sunt distribuite în vacuolă. Peretele celular este aspru și se observă mici riduri sau pliuri. La 9-12 luni, celula pare a fi în colaps, fapt ce explică dimensiunea mică. Peretele celular nu este dezintegrat, însă prezintă câteva creste și pliuri. Celulele de levuri au pierdut o mare parte din conținutul lor citoplasmatic. Pe parcursul maturării pe levuri încă nu se cunosc în totalitate transformările membranei plasmatică (Martinez-Rodriguez A. J. ș.a., 2001).

De asemenea, la nivel celular apar o serie de modificări biochimice, mai întâi are loc o absorbție pasivă a aminoacizilor, apoi o îmbogățirea a mediului în aminoacizi datorită hidrolizei peptidelor și proteinelor. Se observă o creștere semnificativă a conținutului de polizaharide în peretele celular. Degradarea membranei plasmatică începe cu eliberarea lipidelor în mediu. După 9-12 luni, concentrația de aminoacizi scade și predomină eliberarea de peptide, proteine din interiorul celulei în masa vinului. Conținutul de polizaharide, lipide și ribonucleotide din peretele celular crește ușor (Charpentier C. ș.a., 2005).

Produșii de autoliză

Datorită proceselor de hidroliză enzimatică realizate pe parcursul procesului de maturare, vinul este îmbogățit în compuși de origine celulară din peretele celular prin autoliză. Acești compuși sunt substanțe azotate, polizaharide, proteine, peptide (oligo- și polipeptide), aminoacizi, lipide și acizi nucleici.

Compușii eliberați pe parcursul maturării pe levuri contribuie la calitatea vinurilor, prin acțiunea directă pe care o au asupra caracteristicilor fizico-chimice și organoleptice.

Produsele de autoliză se clasifică în două categorii distincte:

- a) produse primare de autoliză, cu acțiune directă asupra vinurilor;
- b) produse secundare de autoliză, ce apar în urma interacțiunii dintre produșii de autoliză și alte componente ale vinurilor (Todd B., 1995).

Principalele produse ale procesului de autoliză a celulelor de levuri sunt substanțele azotate. În mediul extracelular, la un pH optim, de 5 sau 6, se poate difuza aproximativ 50 % din totalul de azot existent în celulele de levuri (Babayan T.L., Bezrukov M.G., 1985). Studiul realizat pe aceste substanțe au demonstrat că proteinele și peptidele eliberate sunt hidrolizate la nivel extracelular, astfel se produce eliberarea de aminoacizi (Babayan T.L., 1985; Moreno-Arribas V. ș.a., 1998; Martinez-Rodriguez A., Polo C., 2000). Procesul se concretizează printr-o activitate hidrolitică, astfel are loc o autodigestie a enzimelor (Babayan T.L., Bezrukov M. G., 1985). Aminoacizii nu sunt cei mai buni markeri ai autolizei, deoarece apar doar după ce proteinele și peptidele sunt eliberate în mediu. De aceea, trebuie realizată o distincție între diferitele etape de eliberare a aminoacizilor, acestea nu trebuie confundate cu procesul de autoliză.

Aminoacizii parcurg mai multe faze pe durata fluxului tehnologic de producere a vinurilor. Mai întâi, aceștia sunt asimilați de levurile ce realizează fermentația alcoolică, apoi fiind folosiți la replicarea celulară sau depozitați în celulele de levuri, în special în vacuole. După ce are loc epuizarea conținutului de zaharuri, pentru a-și susține activitatea metabolică levurile folosesc propriile rezerve. Urmează o eliberare rapidă a aminoacizilor prin exorbție,

astfel celulele de levuri își degenerază rezervorul celular de aminoacizi (această etapă nu este afectată de inhibitorii enzimei proteaza A, alcătuiți în principal din alanină și acid glutamic). Există o perioadă de latență scurtă, timp în care nu apar modificări în ceea ce privește conținutul de aminoacizi. Apoi sunt eliberați alți aminoacizi, mult mai lent de data aceasta, comparativ cu eliberarea prin exorbtie (Feuillat M., Charpentier C., 1982; Kelly-Treadwell P.H., 1988).

Activitatea proteolitică intracelulară depinde de tipul de levuri utilizate și de mediul de creștere. Eliberarea substanțelor azotate este corelată cu această activitate. În urma cercetărilor efectuate cu privire la activitatea proteolitică intracelulară, compoziția și conținutul autolizatorilor în proteine, peptide și aminoacizi sunt rezultate relative, ce nu pot fi comparate. Comparația nu se poate realiza deoarece enzimele peptidaze și proteaze se regăsesc în mediul extracelular după o oarecare perioadă de timp de la declanșarea procesului autolitic celular și rămân active pe tot parcursul procesului enzimatic. Deci, nu este indicat ca extractele de natură proteică și peptică ale autolizatorilor să fie considerate markeri ai procesului de autoliză (Charpentier C., ș.a., 1986). Cu toate acestea, trebuie avut în vedere un aspect extrem de important cu privire la faptul că modificările în timp ale concentrațiilor de aminoacizi din vin nu depind doar de autoliză (Hernawan T., Fleet G. H., 1995).

Cu toate acestea, mai mulți cercetători au analizat fenomenul de eliberare a aminoacizilor și proteinelor pe durata maturării vinurilor pe levuri (Arizumi K. ș.a., 1994). În vinuri, distribuția aminoacizilor liberi este diferită de distribuția proteinelor și peptidelor. Înainte de creșterea conținutului în azot amoniacal, crește conținutul total de azot al vinurilor. Această creștere confirmă faptul că pe parcursul procesului de autoliză, proteinele și peptidele sunt eliberate în primă fază, iar prin degradare enzimatică acestea se transformă în aminoacizi (Moreno-Arribas V. ș.a., 1996).

Cantitatea totală de proteine scade treptat prin descompunerea în compuși cu greutate moleculară mică (Luguera C. ș.a., 1997). Natura aminoacizilor eliberați depinde de compoziția proteinelor și peptidelor ale vinului și de timpul de contact al vinului cu levurile. Astfel, în musturi există o cantitate mai mică de peptide comparativ cu vinurile liniștite și spumante, unde peptidele derivă din levuri sau preparate levuriene. După finalizarea fermentației secundare, se înregistrează o creștere în peptide, atingând un maxim după 12 sau 15 luni, apoi are loc o scădere. Pe perioada contactului cu depozitul fin de levuri crește raportul dintre peptidele hidrofobe și peptidele hidrofile. Calitatea bulelor din vinurile spumante este afectată de hidrofobicitatea peptidelor eliberate, astfel cantitatea și calitatea acestora crește odată cu creșterea cantității de peptide eliberate în masa vinului sunt de părere unii cercetători (Carneviller V., 1999; Moreno-Arribas V., 1996).

Polizaharidele eliberate prin acțiunea enzimelor β -1,3-glucanaze sunt și ele componentele principale eliberate prin autoliză. Au fost utilizate mai multe metode analitice pentru cuantificarea polizaharidelor, cu rezultate care diferă cu un factor de 20 (între 100 și 2230 mg/L) (Feuillat M., 1989). În autolizate se găsește o cantitate foarte mică de zaharuri reducătoare sau glucoză, ceea ce confirmă faptul că moleculele eliberate prin autoliză sunt polizaharide (Hernawan T., Fleet G. H., 1997). Studiile realizate au arătat că s-a eliberat o cantitate mai mare de glucoză decât manoză prin degradarea enzimatică a celulelor de levuri, prin activitatea enzimei β -manoxidazei, localizată în peretele celular (Fleet G. H. ș.a., 1977).

Componentele majore ale polizaharidelor extracelulare din celulele de levuri sunt manoproteinele, cantitatea lor variază în funcție de sușa de levuri, temperatură și timpul de contact al vinurilor cu levurile. Cantitatea acestora devine mai mare în momentul realizării operației de *stirring* în vinurile albe. Eliberarea manoproteinelor are un efect pozitiv asupra stabilității fizico-chimice ale vinurilor (Charpentier C., Feuillat M., 1992).

Eliberarea acidului ribonucleic (ARN) pe parcursul maturării pe levuri este o reacție caracteristică autolizei. Eliberarea acestor compuși este foarte importantă pentru vinurile liniștite, dar și spumante, deoarece sunt potențatori de aromă cu importanță în produsele alcoolice și alimentare (Courtis K. ș.a., 1998).

Studiile realizate pe vinurile spumante obținute prin metoda clasică, au evidențiat că există o corelație bună între activitatea enzimei ribonucleaza și eliberarea acizilor nucleici în vinurile spumante. Activitatea ribonucleazei, care se desfășoară pe parcursul fermentației secundare în butelii de sticlă, se oprește după aproximativ doi ani de maturare în prezența levurilor. Are loc o eliberare a unei cantități de 400÷480 mg/L acizi nucleici pe parcursul celor doi ani. Dacă procesul de autoliză este efectuat într-un mediu tampon fosfat la pH 4,5 și temperatură de 45 °C, trebuie menționat faptul că 85 % din ARN-ul prezent în celulele de levuri dispare (6 % până la 8 % din greutatea uscată a levurii *Saccharomyces cerevisiae*) (Hernawan T., Fleet G. H., 1995). În autolizate, doar 15 % din produsele de degradare a ARN, posibil nucleozide, nucleotide, purine și pirimidine pot fi recuperate (Hough J. S., Maddox I. S., 1970).

Vinurile conțin cantități mici de lipide, din cauza procedurilor de limpezire ce conduc la epuizarea lipidelor. Prin maturarea pe levuri crește cantitatea de lipide. S-a demonstrat că eliberarea din celulele de levuri a lipidelor este dificilă, deoarece acești compuși prezintă tendința de a se agrega, atunci când pH-ul este între 5 și 6, astfel încât doar 3 % din lipide sunt puse în libertate (Ferrari G. ș.a., 1987).

Studiile realizate au evidențiat eliberarea de acizi grași cu lanț scurt, precum acidul octanoic și acidul decanoic, componente ce conferă aromă specifică acidului caprilic vinurilor maturate pe levuri (Chen E. ș.a., 1980).

Lipidele eliberate nu pot fi ignorate, pentru că pot avea diferite implicații în formarea unor compuși cu caracter volatil, cum ar fi cetone, aldehide și esteri. Dintre acizii grași eliberați frecvent în vinurile produse „*sur lie*” sunt acidul palmitic, acidul palmitoleic și acidul stearic. Levurile au un conținut mai mare în acizi grași saturați decât în acizi grași nesaturați, dacă sunt lăsate în contact cu vinul mai mult de 8 luni (Ferrari G. ș.a., 1987).

Prin adăugarea de preparate levuriene benefice procesului de maturare, se produce o creștere a conținutului de acizi grași liberi cu lanțuri lungi. Însă, spre finalul maturării, acizi grași liberi sunt adsorbiți de învelișurile celulare de levuri, astfel încât se înregistrează o scădere în acizi grași a vinurilor (Ancin C. ș.a., 1988).

A fost studiat și conținutul de steroli din vinurile maturate pe depozitul de levuri, aceștia pot afecta interacțiunile dintre proteine și fosfolipide, dar și fluiditatea membranei, activitățile enzimelor membranare. Studiul a permis separarea și identificarea a zece steroli, fiind esterificați și neesterificați pe parcursul autolizei accelerate a levurilor într-un mediu model. S-a demonstrat că autoliza are capacitatea de a induce o reducere a conținutului de steroli esterificați din levuri. Esterii formați din steroli și sterolii au fost eliberați din primele zile ale procesului de autoliză. Utilizarea levurilor în procesul de maturare au avut scopul de a evidenția

diferențele ce apar în prezența și absența oxigenului, mediul oxidativ și mediul reductiv. Diferența dintre cele două medii a fost semnalată la ergosterol, concentrație ce a scăzut cu peste 80 % în mediul oxidativ (Pueyo E. ș.a., 2000).

Prin studiu amănunțit s-a relevat prezența unor vitamine, apărute în urma autolizei, cum ar fi niacina (acidul nicotinic), tiamina (vitamina B1) și biotina, mai ales la bere (Chen E. ș.a., 1980).

Factorii care influențează procesul de autoliză

Factorii principali care afectează procesul de autoliză sunt pH-ul, temperatura, conținutul de etanol și natura speciei și a sușei de levuri. Conținutul în etanol și pH-ul din vin nu pot fi modificate în mare măsură.

Temperatura reprezintă un factor determinant al procesului de autoliză, astfel s-a raportat că temperaturile ridicate favorizează autoliza. Cu toate acestea, în cazul vinurilor spumante, s-a menționat că temperatura optimă pentru activitatea proteolitică a levurilor, în cazul metodei champenoise, variază între 10 și 12 °C (Charpentier C. ș.a., 1993; Martinez-Rodriguez A. J. ș.a., 2001).

Comportamentul sușei (tulpinii) de levuri față de procesul autolitic este foarte variabil. Compararea capacității de autoliză a diferitelor sușe a sugerat faptul că după acest criteriu se vor selecționa acele tulpini dintr-o anumită specie de levuri care se vor utiliza la maturarea vinurilor. Capacitatea autolitică a fost evaluată prin managementul aminoacizilor eliberați de levuri la doar 10 zile după fermentația alcoolică, la temperaturi diferite, în masa vinului. În general, se consideră că sușa de levuri cu capacitate autolitică bună va contribui la obținerea unor vinuri liniștite și spumante de calitate mai bună, în comparație cu o sușă de levuri ce prezintă capacitate autolitică mai scăzută. În cazul vinurilor spumante, s-a demonstrat faptul că prin utilizarea unei sușe de levuri cu capacitate autolitică crescută, se îmbunătățesc mai multe aspecte, cele mai importante fiind considerate densitatea spumei și calitatea acesteia, mai mult de atât, se reduc chiar și costurile de producție, prin micșorarea etapei de maturare, de la 9 la 6 luni (Dupin I. ș.a., 2000).

Autoliza levurilor permite eliberarea compușilor capabili să influențeze calitatea organoleptică a vinurilor (Kocková-Kratochvílová, 1990). Manoproteinele, glucanii, lipidele, proteinele, peptidele, aminoacizii și nucleotidele sunt produși eliberați și descompuși de levuri, în principal din constituția pereților celulari. Levurile sunt organisme eucariote, de obicei de formă elipsoidală sau ovoidă, cu dimensiuni ce variază între 1 și 10 μm. Din exterior spre interior, structura celulelor de levuri este compusă din perete celular, membrană celulară și citoplasmă, componente care conțin diverse organe intracelulare.

Supraviețuirea levurilor se bazează pe prezența pereților celulari intacti; acestea sunt structuri rigide, cu o grosime de aproximativ 100÷200 nm. Manoproteinele, β-glucani și chitinele sunt principalele componente ale pereților celulari de levuri (Kollar R. ș.a., 1997). Membranele celulare reprezintă stratul secundar, ce alcătuiesc o barieră și conțin un strat dublu lipidic compus din fosfolipide, ca grup major de lipide.

Celulele de levuri conțin o serie de structuri importante: vacuole, mitocondrii, reticulul endoplasmatic, aparatul Golgi și nucleolul. Vacuola reprezintă un important compartiment citoplasmatic din celula de levuri, care conține 80÷90 % din totalul aminoacizilor dizolvați.

Mitocondria reprezintă locul unde se realizează metabolismul oxidativ, ce generează molecule de ATP în celulele de levuri. În celula levurilor din genul *Saccharomyces*, în special la specia *Saccharomyces cerevisiae*, volumul total al mitocondriei este de aproximativ 12 % din volumul total celular. Reticulul endoplasmatic reprezintă până la 10 % din volumul câtorva celule și este responsabil de sinteza a noi proteine și lipide membranare. Aparatul Golgi reprezintă un organit celular ce are aspectul unor membrane turtite ca niște saci, care funcționează în asociație cu reticulul endoplasmatic pentru a putea sorta noi proteine sintetizante și a le direcționa către locurile unde se găsesc oligozaharidele asociate cu proteinele, asocieri ce devin blocurile celulare esențiale ale pereților celulari levurieni (Seeman TE, 1994).

Principalele motive pentru care se realizează maturarea pe levuri sunt foarte importante, deoarece această etapă din fluxul tehnologic de obținere a vinurilor liniștite și spumante ajută la îmbunătățirea structurii și caracteristicilor olfactive ale vinurilor, contribuie la corpolența vinurilor (impactul polizaharidelor asupra astringenței), creșterea complexității aromatice, prin eliberarea de compuși responsabili de aromă, profunzimea și persistența acestora fiind mai evidentă. Levurile absorb oxigenul, astfel intervin la menținerea unei oxidări lente și controlate pe durata depozitării pe levuri. Agitarea levurilor crește eliberarea compușilor din pereții citoplasmatici ai levurilor în masa vinului. Omogenizarea induce o senzație onctuoasă plăcută la nivelul papilelor gustative și concomitent oferă complexitate aromatică vinurilor (Parker R. M. Jr., 2000).

Importanța și beneficiile produselor de maturare pentru calitatea și stabilitatea vinurilor sunt cunoscute, de aceea în Burgundia se afirmă că levurile utilizate la maturare sunt "*ca o mamă pentru un copil*". Acest aforism a fost verificat de numeroase studii științifice, astfel încât metodele și timpul de maturare pe levuri trebuie adaptate tipului de vin și stilului de vinificare (Guillox-Benatier M. ș.a., 2001).

1.3 Aspecte cu privire la conținutul de aminoacizi, fizicologice și toxicologice ale aminelor biogene

Aminoacizii din vinuri

Substanțele azotate prezente în vin cuprind compușii care conțin azotul într-o diversitate de forme. Aportul alimentar al substanțelor azotate prezente în struguri, must și vin nu este semnificativ, însă prezintă importanță oenologică prin faptul că sunt o sursă de azot necesară microflorei implicate în procesele de fermentație. Aceste substanțe au capacitatea de a influența caracteristicile gustative ale produselor viti-vinicole, dar pot contribui semnificativ la calitatea vinurilor spumante prin îmbunătățirea calității spumei.

Cantitățile de substanțe azotate se găsesc în proporții diferite în struguri, de 2,4 g/kg struguri, în medie fiind de 1g/kg struguri, în funcție de soiul de struguri, gradul de sănătate, anul de recoltă, gradul de maturare, *terroir* și agrotehnica aplicată. În must se găsesc cantități de 0,2÷1,4 g/L substanțe azotate și în vinuri ajung până la 0,7 g/L. Prin etapa de macerare pe boștină, vinurile roșii au un conținut mai ridicat în substanțe azotate.

Substanțele azotate se împart în două categorii: substanțe azotate anorganice și substanțe azotate organice. În cazul substanțelor organice cu azot, ele se împart în substanțe în care azotul este parte din grupa funcțională amino ($-NH_2$) și alte substanțe care conțin azot în

alte grupe funcționale. Aminele, protidele, proteinele și aminoacizii reprezintă substanțe organice care au azotul în grupa funcțională amino ($-NH_2$) (Cotea V. V. ș.a., 2009).

Aminoacizii din vin sunt inițial derivați din struguri, apoi eliberați din levuri în timpul fermentației alcoolice și apar ca urmare a procesului de autoliză. În plus, proteinele derivate din struguri sunt degradate în peptide și aminoacizi prin hidroliză enzimatică. Fermentația alcoolică reprezintă procesul de transformare a zaharurilor în alcool etilic și dioxid de carbon, ce se desfășoară în prezența levurilor indigene, care pot influența și compoziția de aminoacizi din vin, prin utilizarea și asimilarea acestora și utilizarea ca nutrienți pentru creșterea levurilor.

Printre substanțele azotate prezente în vin, aminoacizii dețin ponderea cea mai mare, aproximativ 70 % din azotul total. Majoritatea provin din struguri și o parte mică se formează pe parcursul fermentației alcoolice. Pentru a se efectua procesul fermentativ, levurile consumă cantități importante de aminoacizi prezenți în must. În acest moment are loc o absorbție a aminoacizilor în mod accelerat din mustul de struguri, cu excepția unora, precum alanină, arginină, prolină, ornitină și citrulină (Ough C. S. ș.a., 1991). Principalul aminoacid din must este prolina și nu poate fi metabolizat de levuri în procesul de fermentație desfășurat în condiții anaerobe. În proporție de 75÷90 % sunt consumați ceilalți aminoacizi prezenți în must. Toate speciile de levuri, în special cele din specia *Saccharomyces cerevisiae*, au nevoie de aminoacizi arginină, izoleucină, triptofan și acid glutamic pentru procesul de creștere (Țârdea C., 2010).

Variații foarte mari ale conținutului de aminoacizi sunt în cazul musturilor deburbate, dar și a celor nedeburbate, cu excepția alaninei care sporește în primele 2 ore de la prelucrarea strugurilor, după care se menține constantă.

La formarea caracteristicilor organoleptice ale vinurilor au o contribuție importantă aminoacizi. Fermentația alcoolică și fermentația malolactică contribuie la modificări ale aminoacizilor prezenți în vin.

În cazul vinurilor spumante, cea de a doua fermentație alcoolică în butelii de sticlă are o contribuție importantă cu privire la conținutul de aminoacizi, în special a acestora: acid glutamic, arginină, acid aspartic, alanină, leucină, prolină și tirozină, iar după aproximativ 5 luni de fermentație secundară în sticle, conținutul maxim de aminoacizi are loc în această etapă tehnologică.

Levurile prezintă capacitatea de a-și asigura necesarul de aminoacizi prin asimilare directă, atunci când sunt prezenți în vin sau printr-o reacție de reaminare a celor existenți în must. Procesul de reaminare are loc prin dezaminarea unui acid diaminomonocarboxilic, de exemplu L-lizină în acid monoaminodicarboxilic, norleucină. Prin procesul de fermentație malolactică are loc reacția de reaminare a aminoacizilor, o parte din cantitățile de aminoacizi ca arginină, tirozină, glicină, alanină, histidină, serină, fenilalanină scad puternic, în timp ce cantitățile altor aminoacizi precum acidul glutamic, acidul aspartic, leucină, izoleucină, triptofan și metionină cresc mult. Prin membranele celulare aminoacizii difuzează ușor, astfel prin prelucrarea strugurilor pot trece în must, unde sunt asimilați de microorganisme, influențând creșterea, dezvoltarea și înmulțirea acestora (Cotea V. V., 2009).

Aspecte fiziologice și toxicologice ale aminelor biogene

Prezența aminelor biogene în produsele alimentare și vinuri devine din ce în ce mai importantă, atât pentru consumatori, cât și pentru producători, din cauza potențialelor amenințări de toxicitate pentru oameni și a implicațiilor comerciale ulterioare.

Aminele biogene, pe lângă polifenoli, sunt utilizate ca markeri pentru a dovedi autenticitatea vinurilor. Ele sunt prezente sub formă de săruri și în stare liberă, devenind reactive cu alți compuși responsabili de aroma vinului, astfel au implicații directe asupra profilului senzorial, cum ar fi pierderea caracterului varietal și imprimarea de mirosuri neplăcute precum mirosul de mușgai, de pește alterat.

Multe amine biogene sunt importante pentru funcționarea normală a sistemelor biologice. De exemplu, în celulele eucariote sunt precursori importanți, cu rol de neuro-transmițători, iar spermidina și putresceina sunt implicate în funcții biologice critice. Cu toate acestea, prezența lor în concentrații mari în produsele alimentare și băuturile alcoolice pot fi toxice. Concentrațiile mari de amine biogene pot provoca dureri de cap, greață, bufeuri, palpitații la nivelul inimii și modificări ale tensiunii arteriale și multe alte probleme fiziologice. Poliaminele, cum ar fi cadaverina, agmatina, spermina și spermidina sunt prezente în mod natural în alimente, fiind implicate în creșterea și proliferarea celulară.

Aminele în prezența nitriților pot fi potențiale substanțe cancerigene atunci când sunt transformate în nitrozamine, cu mențiunea că nitrozaminele formate din poliamine devin un risc pentru sănătatea umană, gradul de toxicitate fiind atins în momentul ingerării unor cantități mari de alimente sau băuturi care au concentrații mari de poliamine.

Cercetările privind toxicologia aminelor biogene, în special în cazul histaminei au raportat că prin ingerarea unei cantități mai mari de 500 ppm histamină se produce otrăvirea organismului, manifestată prin următoarele simptome: probleme de respirație, mâncărime, vărsături, febră, erupții cutanate și hipertensiune arterială. Un aport de 5÷10 mg histamină poate fi considerat că are un efect negativ asupra unor persoane sensibile, doza de 10 mg histamină este în general ca limită tolerabilă, în timp de 100 mg histamină induce senzații neplăcute de toxicitate, iar 1000 mg histamină reprezintă doza cu cel mai mare grad de toxicitate.

Histamina și tiramina sunt considerate cele mai toxice și relevante pentru siguranța alimentară, cadaverina și putresceina potențează efecte negative prin inhibarea enzimelor ce sunt implicate în detoxifierea histaminei.

Aminele biogene ingerate din alimente sunt detoxificate de enzimele aminoxidaze prezente în tractul gastrointestinal și în mucoasa intestinală. În condiții normale, aminele ingerate sunt metabolizate prin reacții de oxidare sau de conjugare în prezența enzimelor aminoxidaze: monaminoxidază (MAO), diaminoxidază (DAO), poliaminoxidază (PAO) și enzima N-metiltransferaza (MOA). În cazul persoanelor ce suferă de boli ale tractului gastrointestinal și prezintă un sistem enzimatic deficitar, implicit au capacitatea slabă de a metaboliza aminele biogene prezente în alimente. În aceste condiții, aminele biogene intră în circulația sistemică, unde pot favoriza eliberarea de noradrenalină și adrenalină, ceea ce conduce la probleme precum debit cardiac crescut, tahicardie, creșterea nivelului de zahăr din sânge și creșterea tensiunii arteriale.

Cu toate acestea, toxicitatea aminelor biogene prin nivelurile de absorbție orală pentru spermină, putresceină și spermidină sunt de 600 ppm și 2000 ppm. În cazul aminelor biogene

tiramină nivelul de toxicitate acută este de 2000 ppm, pentru spermidină de 1000 ppm și pentru spermină de 200 ppm.

Prospețimea alimentelor trebuie evaluată luând în considerare indicele de amine biogene, care include toate aminele biogene prezente în carne și preparatele din carne. Un studiu amănunțit a raportat creșteri ale aminelor biogene în condiții de igienă necorespunzătoare a materiei prime, dar și a practicilor necorespunzătoare de producere a preparatelor din carne. Aspect foarte important al aminelor biogene este impactul pe care îl au asupra aromei și gustului alimentelor.

Monitorizarea nivelului de amine biogene din vinuri poate fi un avantaj important de marketing. Un set mare de date, cum ar fi podgoria, condițiile climatice, *terroir-ul*, anul de recoltă, tehnologia de vinificație aplicată și practicile oenologice sunt necesare pentru a stabili profilurile de amine biogene ca amprentă de vin și pentru a oferi o bază științifică în controlul și siguranța calității în procesul de vinificație.

În ultimii ani, vinificatori depun eforturi mari pentru a reduce conținutul de amine biogene și pentru a îmbunătăți calitatea și siguranța vinurilor. Uniunea Europeană (UE) nu a stabilit reglementări pentru industria vinului, în schimb a sugerat anumite limite sub numele de "valorile pragului de siguranță" (Karavičová J., 2009).

Vinurile importate din Uniunea Europeană sunt adesea însoțite de un certificat de analiză ce include conținutul de amine biogene, nu există încă nici o reglementare UE cu privire la limita lor în vinuri, iar țările precum Germania, Belgia și Franța recomandă ca histamina să nu depășească nivelurile de 2 mg/L, 6 mg/L și 8 mg/L histamină, în timp ce Elveția a impus o limită oficială de 10 mg/L histamină.

Conținutul de amine biogene din vinuri trebuie interpretate cu privire la studiile toxicologice efectuate asupra consumatorilor, cu precizarea că aminele biogene au valori de prag de siguranță diferite în organismul uman, în funcție de condițiile fiziologice.

Pentru evaluarea riscurilor reale ale aportului de amine biogene asociate cu consumul de vinuri, trebuie avut în vedere consumul de vin zilnic, mai exact a unui pahar de vin pe zi, iar în cazul dietei mediteraneene consumul a două pahare de vin pe zi. Este necesar ca toți consumatori să fie corect informați cu privire la conținutul de compuși potențial toxici ai vinurilor și de efectele ce apar în urma ingerării unor anumite cantități de vin ce prezintă nivele diferite ale acestor compuși.

CAPITOLUL 2 STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR PRIVIND UTILIZAREA UNOR PRODUSE OENOLOGICE DE MATURARE ȘI INFLUENȚA LOR ASUPRA CARACTERISTICILOR VINURILOR ALBE ȘI ROSÉ

CHAPTER 2 PRESENT STATE OF RESEARCH REGARDING THE SOME OENOLOGICAL PRODUCTS USED IN MATURATION STAGE AND THEIR INFLUENCE ON THE CHARACTERISTICS OF WHITE AND ROSE WINES

2.1 Caracterizarea produselor oenologice de maturare

Levurile (*lees* - cuvânt englezesc vechi pentru levurile sau sedimentele care se formează la fundul vasului de fermentație) (Robinson J. S., 1994). Celulele de levuri moarte și resturile de levuri sunt componentele majore ale levurilor, astfel levurile din vin reprezintă un amestec complex, ce conține cristale de tartrați, resturi de celule vegetale, polifenoli absorbiți de proteine, lipide și mulți alți compuși (Charpentier C., 2010). Levurile pot fi împărțite în două grupe, în funcție de dimensiunea particulelor: levuri grele, care se depun în 24 de ore după fermentația alcoolică și au particule cu dimensiuni cuprinse între 100 μm și 2 mm și levuri ușoare, care se depun după un timp de 24 de ore, cu dimensiuni ale particulelor de la 1 μm până la 50 μm (Charpentier C., 2010).

Materialul levurian poate să fie clasificat în trei categorii, în funcție de natura și integritatea celulelor de levuri, cum ar fi depozitul de levuri (drojdii), produsele de levuri (de exemplu levuri uscate inactivate și levuri rehidratate). În industria vinului, maturarea pe levuri se realizează pe depozitul de levuri care se formează pe durata procesului de fermentație alcoolică sau se utilizează levuri uscate inactivate, levuri ce devin active în contact cu masa vinului (Rowe J. D. ș.a., 2010).

Levurile uscate inactivate sunt adăugate în vin pentru a îmbunătăți caracteristicile senzoriale, de exemplu s-a observat în urma studiilor, că acestea au capacitatea de a crește/potența senzațiile gustative și a da rotunjime vinurilor, de asemenea au o contribuție semnificativă în ceea ce privește scăderea astringenței și creșterea persistenței aromatice a vinurilor albe și rosé obținute prin etapa tehnologică de maturare pe levuri (Del Barrio-Galán R., Doco T. ș.a., 2011).

Levurile rehidratate sunt cel mai des utilizate în cercetările științifice și studii de laborator în etapa de maturare, astfel au fost adăugate într-un vin model cu scopul de a investiga fenomenul de autoliză. Autoliza conduce la eliberarea ulterioară din celulele de levuri a componentelor de natură chimică (Guilloy-Benatier M., Chassagne D., 2003).

Maturarea pe levuri reprezintă o practică tradițională de vinificație aplicată inițial vinurilor albe în regiunea viticolă Burgundia, Franța și vinurilor spumante obținute prin metoda tradițională, *champenoise*. Cercetările au revizuit funcția oenologică a levurilor în producția de vinuri care include îndepărtarea compușilor nedoriți, de exemplu levurile prezintă capacitatea de a îndepărta din vin particule de ochratoxina A, toxină produsă de diferite specii de mucegaiuri din regnul Fungi, genul *Aspergillus* și genul *Penicillium*, diviziunea *Ascomycota*, ambele din familia *Trichocomaceae*. Ochratoxina A este una dintre cele mai abundente micotoxine, care

contaminează frecvent alimentele, interacționează cu compuși fenolici, inhibă cristalizarea sărurilor tartrice, previne formarea depunerilor proteice (opacitatea vinurilor), potențează compuși volatili ce formează aroma vinurilor și eliberează polizaharide, cu multiple implicații la nivelul caracteristicilor finale și calității vinurilor (Pérez-Serradilla J.A., Castro M.D.L., 2008; Cardí A., 2006).

Cu toate acestea, maturarea pe levuri prezintă și o serie de inconveniente, cum ar fi dezvoltarea timpurie a fermentației malolactice și crește riscul apariției mirosurilor neplăcute, cum ar fi mirosul de hidrogen sulfurat, mercaptani sau disulfuri (Jackson R. S., 2008). Există posibilitatea să apară mirosuri neplăcute în cazul vinului lăsat în contact cu o concentrație mare de levuri o perioadă îndelungată de timp (Judet D. ș.a., 2010).

Se aplică trei tratamente diferite în cazul apariției mirosurilor neplăcute pe perioada de maturare pe levuri. În primul rând, se realizează operația de tragere a vinului de pe depozitul de levuri grosier (Robinson J. S., 1994). În al doilea rând, înainte de a fi adăugate levurile de maturare, se recomandă păstrarea acestora într-o cisternă din inox timp de o lună până la două luni, înainte de a fi refolosite și adăugate în vin (Charpentier C., 2010). În al treilea rând, se realizează agitarea periodică a levurilor, cu scopul de a omogeniza levurile depuse (tehnica *bâtonnage*, utilizată frecvent în tehnologia de producere a vinurilor din Franța) (Jackson R.S., 2008). Agitarea levurilor se poate realiza manual cu ajutorul unei tije sau automat folosind un agitator. Agitarea levurilor se aplică în mod normal de câteva ori pe săptămână. Vasele (tancurile) utilizate în producția de vin spumant au încorporate agitatoare și sistem de control al temperaturii, care permit fermentare mai rapidă decât în butelii de sticlă (Buxaderas S., López-Tamames L., 2012). Cu toate acestea, vitezele de agitare și intensitatea cu care se realizează nu au fost raportate în literatura de specialitate.

Procesul enzimatic de maturare pe sedimentul fin de levuri a vinurilor albe și rosé, prezintă o serie de avantaje incontestabile, cum ar fi îmbunătățirea caracteristicilor organoleptice și fizico-chimice. De aceea, în urma cercetărilor realizate, au fost elaborate biotehnologii de obținere a unor adjuvanți oenologici, care se formează în urma procesului de degradare termoenzimatică a pereților celulari de levuri liofilizate. Produsele sunt considerate adjuvanți de origine levuriană, ce au eliminat o parte din inconveniente pe care le prezintă maturarea vinurilor pe sedimentul propriu de levuri, dețin capacitatea de a îmbunătăți profilul senzorial, de a optimiza stabilitatea fizico-chimică a vinului (stabilizarea vinului din punct de vedere proteic, tartric, polifenolic, aromatic) și de a accelera procesul de maturare, iar în plus oferă protecție antioxidantă (Croitoru C., 2009).

Cercetătorii din domeniu sunt de părere că ameliorarea profilului senzorial al vinurilor maturate cu produse oenologice obținute în urma degradării termoenzimatică a pereților celulari din componența levurilor, este dată de prezența unor concentrații destul de ridicate de peptide, care fac parte din compoziția celulară a levurilor. Acestea exercită proprietăți antioxidante, de accentuare a senzațiilor olfactive și gustative, manifestând un efect sinergic ce crește percepția intensității la nivelul receptorilor olfacto-gustativi a senzațiilor din vinuri (Carneville V. ș.a., 1999; Perot L. ș.a, 2002; Dubourdieu D. ș.a., 2003, Vivas N. ș.a., 2005).

Produsele de maturare reprezintă un amestec complex, ce conțin apă, pereții de levuri și resturi de celule vegetale, polifenoli absorbiți de proteine, peptide, lipide, cristale de acid tartric și mulți alți compuși. Concentrațiile aminoacizilor, nucleotidelor, β -glucanilor și

manoproteinelor din levuri sunt necunoscute din cauza studiilor limitate cu privire la tema aceasta de cercetare (Rice A.C., 1976).

Acidul tartric poate fi o componentă majoră a levurilor din vin. În levurile derivate din vinurile obținute prin fermentația alcoolică a vinurilor produse din soiurile Riesling italian și Pinot noir, cantitățile au variat între $1,49 \div 3,23$ g/L acid tartric. Cercetarea a sugerat faptul că conținutul în acid tartric depinde de tehnica de vinificație aplicată, de originea strugurilor și de arealul de proveniență a acestora. Majoritatea levurilor care au fost utilizate la vinificația strugurilor din soiul Riesling italian au avut un conținut mai redus în acid tartric comparativ cu cel al levurilor provenite din vinificația strugurilor din soiul Pinot noir, fapt ce a fost atribuit diferențelor tehnologice în ceea ce privește metoda de stabilizare aplicată (Vidal S. ș.a., 2004). În vin, acidul tartric există sub formă de bitartrat de potasiu, care cristalizează și precipită în timpul depozitării la temperatură scăzută (Jackson R.S., 1994).

Componentele solubile derivate din levuri sunt polizaharidele, manoproteinele, aminoacizii, peptidele, glicogenul și trehaloza, chitina, glucanul și nucleotidele. Polizaharidele reprezintă componenta cea mai importantă a pereților celulari levurieni. În peretele celular ai speciei *Saccharomyces cerevisiae*, polizaharidele reprezintă $15 \div 25$ % din greutatea uscată și s-au identificat patru polizaharide distincte: glucani – mai exact β -1,3 glucan, β -1,6 glucan, chitina și manoproteine (Feuillat M., 2003; Jiménez-Moreno N., Anćin-Azpilicueta C., 2009).

Polizaharidele sunt principala clasă de macromolecule din vinuri. Au diferite roluri, cel mai important fiind stabilizarea altor molecule în soluție și capacitatea de a induce modificări la nivel organoleptic în vinuri. Acestea sunt prezente în concentrații de la 200 mg/L până la 1500 mg/L în vin. Concentrațiile lor depind de *terroir*, vârsta plantației, soiul de struguri, tehnologia de vinificație, metodele aplicate și stadiul vinificației. Provin din struguri și din microorganisme care își exercită acțiunea pe perioada vinificației, mai exact levuri. Principalele polizaharide ale vinurilor sunt: arabani, arabinogalactani, ramnogalacturonani de tip I și de tip II, ce provin din peretele celular al bachelor de struguri; manoproteinele și glucani, eliberate de levuri pe parcursul fermentației alcoolice și etapei tehnologice de maturare pe levuri (Vidal S. ș.a., 2003).

Prin autoliza levurilor se eliberează polizaharidele neutre și acide, astfel încât conținutul vinului în polizaharide crește proporțional cu perioada de maturare. Creșterea a fost observată în 25 de studii diferite, în vinurile albe și roșii (Del Barrio-Galán R. ș.a., 2015, 2014; Palomero F. ș.a., 2009; Pati S. ș.a., 2010). Concentrația de polizaharide crește în vin pe durata procesului de autoliză, prin eliberarea în mod constant a polizaharidelor cu greutate moleculară mică. Polizaharidele au fost cuantificate pe durata maturării pe levuri a vinurilor roșii, în funcție de greutatea moleculară astfel: cu greutate moleculară > 2000 KDa; cu greutate moleculară de 200 – 300 KDa; cu greutate moleculară de 60 – 80 KDa; cu greutate moleculară ≥ 10 KDa și cu greutate moleculară ≤ 60 KDa (Del Barrio-Galán R., ș.a., 2015).

Inițial a fost înregistrată o creștere considerabilă a conținutului de polizaharide, fiind urmată ulterior de o scădere a conținutului total de polizaharide neutre. Acest fenomen a fost atribuit unei modificări a solubilității.

În urma studiilor efectuate, s-a indus ipoteza că activitatea enzimelor hidrolitice au avut capacitatea de a reduce greutatea moleculară a polizaharidelor și în același timp le a modificat proprietățile hidrofobe, compoziția, drept urmare și solubilitatea (Pati S., ș.a., 2010).

Tehnicile diverse folosite cu scopul de a accelera perioada în care se desfășoară etapa de maturare pe levuri, utilizarea diverselor sușe de levuri selecționate, adaosul de derivați de levuri și adaosul de enzime, au dovedit că au efecte asupra conținutului de polizaharide eliberate pe parcursul autolizei.

Pentru a demonstra efectul pe care îl au diversele sușe de levuri în eliberarea polizaharidelor s-au făcut o serie de investigații. Sușele de levuri utilizate au fost: *Saccharomyces cerevisiae* G3, *Schizosaccharomyces pombe* 936, *Saccharomycodes ludwigii* 980, *Pichia membranifaciens* 956. Acestea s-au utilizat la maturarea unui vin model, pe durata a 142 de zile și s-a constatat eliberarea unei cantități mari de polizaharide prin activitatea enzimatică a sușei de levuri *Saccharomycodes ludwigii* 980 (110,51 mg/L) și cea mai mică cantitate de polizaharide a fost eliberată din sușa de levuri *Pichia membranifaciens* 956 (aproximativ 21,2 mg/L) (Palomero F. ș.a., 2009). Au apărut aceste diferențe considerabile, deoarece sușele de levuri prezintă compoziții chimice și structuri diverse ale peretelui celular (Weijman A.C.M., Goulbev W.I., 1987).

Efectul adaosului derivaților de levuri: sunt adeseori adăugați în vinuri cu scopul de a crește conținutul de polizaharide. De a lungul timpului, au fost evaluate mai multe produse derivate de levuri – de la firma Agrovin s-au utilizat levuri autolizate îmbogățite cu polizaharide sau cu enzima β -glucanază activă. Această firmă a reușit extragerea de polizaharide din pereții celulari de levuri selecționate, astfel au creat un derivat de levuri. Cei de la AEB au comercializat derivați levurieni bogați în manoproteine și nucleotide, cei de la Laffort au derivați ce conțin fracțiuni peptidice și Bio Springer au derivați levurieni cu un conținut ridicat de manoproteine și polizaharide (Del Barrio-Galán R. ș.a., 2014).

Vinurile în care s-au utilizat preparate levuriene bogate în polizaharide, după etapa de maturare, prin determinări de laborator au fost raportate cantități mai mari de polizaharide neutre și totale, la doar 8 săptămâni de maturare pe levuri în damigene de sticlă și 3 luni în butelii de sticlă în comparație cu un vin de control, în care nu au fost adăugate derivate de levuri (Del Barrio-Galán R. ș.a., 2012a, b).

Cercetările au evidențiat faptul că produsele derivate de levuri nu prezintă capacitatea de a pune imediat în libertate polizaharide, eliberarea este una constantă și continuă pe întreaga perioadă în care se desfășoară maturarea. Există o dependență între creșterea cantității de polizaharide eliberate, puritatea și tipul derivaților de levuri folosiți în procesul autolitic. Prin adaosul de enzime, se produce o accelerare a autolizei. β -glucanaza este adesea utilizată, chiar dacă există posibilitatea ca activitatea ei să fie inhibată de etanol. Aceasta prezintă o activitate reziduală suficientă, adaptată la pH-ul vinului, ceea ce permite o descompunere mult mai rapidă a componentelor peretelui celular de levuri comparativ cu autoliza convențională (Torresi S. ș.a., 2014).

Într-un vin a fost realizată evaluarea influenței pe care o prezintă adăugarea de β -glucanază asupra eliberării polizaharidelor. Rezultatele au demonstrat că în doar două săptămâni, conținutul de polizaharide a crescut de la 25,6 mg/L la 68,8 mg/L, fiind mai mare în comparație cu cel produs în vinurile maturate timp de 9 luni, de la 21,8 mg/L la 36,8 mg/L prin metode convenționale (Palomero F., ș.a., 2007). Greutatea moleculară a polizaharidelor eliberate în prezența β -glucanazelor de sușa de levuri *Saccharomyces cerevisiae* 9CV a fost de

35 Kda comparativ cu cea eliberată în etapa de maturare prin metode convenționale, de aproximativ 120 KDa (Torresi S., ș.a., 2014).

În urma autolizei, au fost identificate două **manoproteine**, glicozilfosfatilinozitol - proteina peretelui celular (GPI-CWP) și proteina peretelui celular cu repetări interne (PIR-CWP). S-a demonstrat că stratul exterior al peretelui celular de *Saccharomyces cerevisiae* este constituit de GPI-CWP (Klis F. M. ș.a., 2002). PIR-CWP reprezintă o parte a stratului interior al structurii peretelui celular și legat covalent de o moleculă de β -1,3 glucan.

Glucani - a fost semnalată prezența în pereții celulari de levuri a doi glucani diferiți, ambii sunt polimeri ai glucozei, β -1,3 glucan și β -1,6 glucan (Douwes J., 2005). Întreaga celulă este înconjurată dintr-un schelet intern, format dintr-o rețea tridimensională de β -1,3 glucan, schelet ce conferă rezistență mecanică celulei de levuri (Smits G. J. ș.a., 1999). Glucani sunt compuși alcătuiți din 1500 de unități de monozaharide, legate prin legături glicozidice. Sunt compuși insolubili în apă, iar β -1,3 glucani au o greutate moleculară medie, de ~ 240 kDa (Lipke P. N. ș.a., 1998; Smits G. J. ș.a., 1999; Luo Y. ș.a., 2015).

β -1,3 glucani posedă o conformație elicoidală, fapt confirmat prin utilizarea rezonanței magnetice nucleare în stare solidă (Krainer E. ș.a., 1994). În plus, aceste elice pot avea un singur helix, triplu helix sau bobine dispuse în mod aleatoriu (Williams D. L., 1997). În perete celular levurian, găsim β -1,3 glucani și β -1,6 glucani (Douwes J., 2005; Smits G. J., ș.a., 1999). β -1,6 glucani alcătuiesc aproximativ 15 % din totalul glucanilor prezenți în celulele de levuri și sunt polimeri solubili în apă. Sunt alcătuiți din circa 130÷140 unități de monozaharide, conectate prin legături glicozidice (Kocková-Kratochvílová A., 1990; Lipke P. N., 1998).

Chitina este localizată în membrana celulară, fiind un polimer cu greutate moleculară mare (Ravi Kumar M.N.V., 2000). Chitina are o structură similară cu celuloza, ce este constituită din unități de 2-acetoamido-2-deoxi- β -D-glucoză legate prin legături glicozidice β -1,4, cu excepția unităților repetate de N-acetil-D-glucosaminelor. Chitina este dispusă în 3 moduri diferite: lanțuri antiparalele, lanțuri total paralele și perechi de foi separate prin foi simple antiparalele. Acestea sunt denumite α -chitină, β -chitină și γ -chitină (Garett R.H., Grisham C.M., 2010).

Principalul loc de stocare a aminoacizilor în celulele de levuri este vacuola (Kitamoto K. ș.a., 1988). S-a demonstrat faptul că aproximativ 60 % din totalul aminoacizilor existenți în celulele de levuri de *Saccharomyces cerevisiae* se găsesc în sferoplaste (celule sferice, situate în vacuole, fără perete celular), iar 12 % dintre ei se găsesc în citoplasmă. Aminoacizii preponderenți din vacuole sunt: glutamina, arginina, lizina, citrulina și ornitina, iar din citoplasmă α -alanină, acidul glutamic și acidul aspartic (Wiemken A., Dürr M., 1974). Aminoacizii liberi sunt în formă liberă sau legată de macromolecule, ca de exemplu polifosfatul. În plus, concentrațiile lor în celulele de levuri sunt corelate cu nutrienți disponibili din mediul de creștere.

Aminoacizii citosolici și vacuolari au fost extrași din celulele de *Saccharomyces cerevisiae*, crescute în mediu sintetic, îmbogățite cu diverși aminoacizi. S-a descoperit faptul că cel mare conținut de aminoacizi celulari îl au celulele de levuri crescute pe mediu sintetic, cu adaos de lizină și histidină. A fost identificată și o acumulare de glutamat (mai exact glutamat monosodic, sarea sodică a acidului glutamic) în citosol (matrice citoplasmatică sau hialoplasmă

– reprezintă lichidul ce se găsește în interiorul celulelor, acesta este întregul conținut din cadrul membranei celulare al celulei eucariote).

Pe perioada etapei tehnologice de maturare pe levuri, aminoacizii eliberați în vin nu provin doar din compartimentele celulare ale levurilor, vacuole și citosol, ci și din descompunerea proteinelor și polipeptidelor apar aminoacizi pe durata procesului de autoliză.

A fost studiat fenomenul de eliberare a aminoacizilor din specia *Saccharomyces bayanus* (EC1118) într-un vin model. Pe durata celor patru ore de maturare, la care a fost supus vinul model, principalii aminoacizi eliberați au fost alanina, acidul glutamic, arginina și asparagina (Martinez-Rodriguez A.J., Polo M.C., 2000). Respectivi aminoacizi provin din citosol și vacuolă printr-un proces de exorbție, care ar fi debutat datorită etapei de proteoliză. Exorbția reprezintă procesul prin care compușii cu greutate moleculară mică trec în mediul extracelular printr-un transfer pasiv (Feuillat M., Charpentier C., 1982). După 56 de zile de la maturare, a fost înregistrată o scădere a concentrației de polipeptide și proteine solubile, de la 90 mg/L la 36 mg/L, în timp ce totalul de aminoacizi liberi a înregistrat o creștere, de la 237 mg/L la 316 mg/L. A fost evidențiat faptul că procesul de hidroliză a proteinelor are loc în etapa de maturare pe levuri. Dintre principalii aminoacizi identificați, preponderenți sunt următorii: alanina, fenil-alanina, leucina și γ -4-acid amino-butanoic (Martinez-Rodriguez A. J., Polo M. C., 2000).

Peptidele sunt eliberate pe parcursul procesului de autoliză levuriană, însă foarte puține studii s-au focalizat pe studiul peptidelor din vin, datorită complexității lor și a limitărilor tehnice și analitice cu privire la contribuția lor în alcătuirea celulară a levurilor (Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., 2009). În procesul de producere a vinurilor spumante prin metoda tradițională, cercetători din domeniu au reușit să izoleze și să caracterizeze peptidele (în limitele < 700 și > 700 Da fracții de peptide). Peptidele cu masă moleculară mai mare au fost hidrolizate ulterior, ceea ce a dus la peptide cu greutate moleculară mai mică și în cele din urmă la degradarea lor în macromolecule cu greutate mai mică, mai exact aminoacizi (Moreno-Arribas M. V. ș.a., 1996, 1998a, 1998b).

Glicogenul și trehaloza oferă rezerve de energie celulelor de levuri, sunt zaharide intracelulare, ce oferă protecție celulelor de levuri în fața acțiunii exercitate de alcoolul etilic (Kocková-Kratochvílová A., 1990). Glicogenul este consumat mai întâi în timpul înfometării celulelor, ulterior fiind activat mecanismul de conservare a energiei, astfel producția de trehaloză crește de 5 ori (trehaloza este formată prin condensarea a două molecule de α -glucoză, legate prin legături α, α -1,1-glicozidice, este o dizaharidă nereducătoare). Legăturile α, α -1,1-glicozidice conferă rezistență trehalozei la hidroliza acidă, fiind stabilă în mediu acid și în soluție la temperaturi ridicate (Lucero P. ș.a., 2000). Trehaloza reprezintă singura sursă de energie care poate fi degradată în 45 de minute pe parcursul înfometării celulelor de levuri. Celulele de levuri încep procesul de autoliză, auto-degradare, imediat după epuizarea tuturor surselor de energie.

Trehaloza reprezintă o dizaharidă (α -D-glucopiransil- α -D-glucopiranozidă) formată din două unități de glucoză. Două specii de levuri sunt capabile să producă enzima trehaloză, respectiv *Saccharomyces carlsbergensis* și *Torulopsis dattila*. Acestea pot realiza fermentația, astfel ca un răspuns la căldură, șocul osmotic și alcool sunt capabile să producă trehaloza (Roustan J. L., Sablayrobes J. M., 2004).

Nucleotidele reprezintă blocurile de bază ale celor doi acizi nucleici, acidul dezoxiribonucleic (ADN) și acidul ribonucleic (ARN), situate în nucleul celulelor de levuri. Sunt formate dintr-o bază azotată heterociclică (pirimidină sau purină), o pentoză și un acid fosforic. În nucleotide se găsesc două purine: adenină (A), guanină (G) și trei pirimidine: citozină (C), timină (T) și uracil (U). Termenul nucleozide se utilizează pentru a descrie o pentoză și o bază azotată, legate printr-o legătură glicozidică.

În ADN-ul speciei *S. cerevisiae*, cele două purine și trei pirimidine sunt proporționate astfel: guanină – 18,3 %, citozină – 17,4 %, adenină – 31,7 %, timină – 32,6 % din compoziția totală. În ARN, uracil ia locul timinei (bază pirimidinică) (Kocková-Kratochvílová A., 1990).

Tipul de levuri și calitatea levurilor sunt considerate a fi foarte importante în etapa de maturare. Tehnologii preferă să utilizeze levuri fine, nu levuri în stare brută, grele. Levurile grele sunt definite prin compoziția lor, fiind alcătuite din particule cu greutate de 100 μm până la 2 mm și includ celulele de levuri, bacterii, săruri ale acidului tartric, coloizi, taninuri și particule ce s-au format în urma tratamentelor de limpezire aplicate vinului și se depun în 24 de ore (Martin J.F.G. ș.a., 2013).

Levurile ușoare sau fine sunt alcătuite din particule cu dimensiuni de aproximativ 1 μ sau chiar mai mici, care se depun la doar câteva zile după procesul de fermentație alcoolică și conțin celule de levuri și bacterii lactice ce au fost produse la sfârșitul proceselor fermentative (Feuillat M., 1989).

Oenologul este cel care se ocupă de alegerea tipului de produse de maturare utilizate pentru producerea vinurilor prin metoda *sur lie*.

Primele studii, care au vizat valorificarea unor produse rezultate în urma procesului de degradare termoenzimatică a pereților celulari levurieni, au fost realizate de AEB Group la sfârșitul mileniului trecut. Aceste cercetări au permis obținerea produselor oenologice din prima generație, cunoscute sub numele de BÂTONNAGE PLUS®. Aceste produse au început să fie utilizate în tehnologia de obținere a vinurilor, datorită faptului că maturarea tradițională pe propriul sediment fin de levuri prezintă o serie de inconveniente, printre care incidența economică nefavorabilă cu privire la costurile de producție pe care le vizează realizarea acestui proces lent de lungă durată. De asemenea, s-au evidențiat în urma diferitelor experimente și cercetări realizate în practica vinicolă faptul că pe parcursul etapei de maturare pe sedimentul propriu de levuri:

- se eliberează un procentaj redus de polizaharide, deoarece nu se poate asigura un regim termic corespunzător (15÷17 °C) capabil să favorizeze acțiunea enzimatică ce conduce la eliberarea polizaharidelor în vin;
- apariția dificultăților în realizarea unei omogenizări corespunzătoare pentru punerea în suspensie a levurilor autolizate;
- se impune necesitatea unor sisteme de agitare performante și constatarea că există riscul apariției unor caracteristici organoleptice mai puțin plăcute, cum ar fi mirosurile sulfhidrice;
- creșterea acidității volatile.

Din aceste considerente, la nivel mondial, prin instrumente de cercetare adecvate oenologiei au fost elaborate biotehnologii de obținere a unor produse prin degradarea

termoenzimatică a pereților celulari de levuri. Produsele contribuie la o maturare armonioasă pe levuri a vinurilor (Croitoru C. ș.a., 2001).

Dintre producători, firma AEB este lider în biotehnologii și oenologie, aceasta oferă o gamă variată de produse, astfel încât le permite utilizatorilor să profite de inovație în tehnologiile de procesare și tratare a vinului. Produsele AEB reprezintă rezultatul unor cercetări tehnice și științifice avansate prin formule unice, astfel răspund în mod specific unor probleme cu privire la întregul proces de vinificație.

Oferta lor se remarcă printr-o varietate de levuri selecționate, cu utilizare în domeniul alimentației în diverse etape, cu produse pe bază de azot și derivate de levuri, plus o gamă de enzime ce oferă ajutor oenologului în etapele tehnologice de vinificație. De asemenea, firma produce și derivate din lemn, atât bucăți, cât și taninuri, permițând procesarea unor vinuri structurate și cu o durată de viață lungă.

Cu privire la derivatele de levuri și produsele de batonaj utilizate la maturarea pe levuri, firma AEB se remarcă cu cele din gama BÂTONNAGE PLUS. Acestea se clasifică în funcție de gradul de degradare termoenzimatică în două generații, astfel produsele ce aparțin acestei game și sunt din prima generație, stadiul de degradare termoenzimatică este mai puțin avansat, iar în compoziția lor se găsește preponderent pereții celulari de levuri în combinație cu gumă arabică de puritate înaltă, microgranulată și taninuri din lemn de stejar.

Produsele oenologice de maturare au influență majoră asupra stabilității și calității vinurilor, astfel încât:

- asigură creșterea persistenței și intensității caracteristicilor olfactive ale vinurilor albe și rosé tinere;
- eliberează în vin compuși ce accentuează onctuositatea, volumul și extractivitatea vinurilor;
- îmbunătățesc stabilitatea vinurilor și reduc precipitățile proteice și tartrice;
- evită fenomenele de oxidare prin diminuarea potențialului redox;
- rol în gestionarea înmulțirii asexuate a bacteriilor lactice, deoarece nu se dorește dezvoltarea acestora în vinurile albe seci cu aciditate scăzută, pentru că declanșarea unei fermentații malolactice ar duce la o scădere a acidității;
- formarea de combinații complexe colorante stabile;
- asigură o evoluție favorabilă a complexului polifenolic al vinului;
- conferă caracteristici senzoriale tipice vinurilor maturate pe levuri (note de levuri, de autolizat, biscuite, crocant);
- simplifică etapa de maturare pe levuri și imprimă armonie buchetului final al vinului.

Gama BÂTONNAGE PLUS din prima generație au fost testate de AEB Group, astfel au fost înregistrate următoarele rezultate: vinurilor le conferă amploare, corp și volum, au diminuat potențialul redox și au reușit să țină sub controlul proliferarea bacteriilor lactice (BP BLANC), au redat echilibrul și eleganța senzațiilor gustative (BP ROUGE), au reușit să atenueze caracterul pronunțat olfacto-gustativ tipic de lemn, au definit structura și corpul vinurilor (BP), de asemenea au diminuat astringența, au avut capacitatea de a evidenția gustul suplu oferit de taninurile complexe (BP STRUCTURE) (Spindal – AEB GROUP, Franța).

Vinurile albe tratate cu unul dintre produsele acestei game au înregistrat o diminuare a intensității colorante, atribuită fixării de compuși polifenolici oxidați pe suprafața pereților celulari de levuri (Vivas N., ș.a., 2001a). Produsul prezintă capacitatea de a limita procesul oxidativ al polifenolilor prezenți în struguri și vin, fapt ce a fost evidențiat printr-o creștere a densității optice la 400 nm. De aceea, sensibilitatea vinurilor la degradarea oxidativă a fost eliminată prin supunerea maturării pe levuri în prezența produsului BÂTONNAGE PLUS, fapt datorat compușilor eliberați prin degradarea pereților celulari de levuri. Tot în acest context, a fost demonstrat faptul că ajută la o mai bună stabilitate proteică, astfel a fost posibilă diminuarea dozele de bentonită.

În urma studiilor efectuate, cercetătorii sunt de părere că o doză de 30÷40 g/hL de produs oenologic de maturare reduce cu circa 50 % doza de bentonită utilizată pentru stabilizarea proteică a vinurilor albe. Prin analiza organoleptică, se observă faptul că vinurile tratate cu preparate levuriene din această gamă sunt notate cu un punctaj mai bun comparativ cu proba martor (Vivas N., ș.a., 2001a; Croitoru C., ș.a., 2001a). Vinurile se disting printr-un caracter olfactiv mai pronunțat, fructuozitate mai intensă, limpiditate mai bună, culoare mai intensă, echilibrul fiind perceput între caracterul olfactiv și cel gustativ, cu caracteristici senzoriale superioare probei martor, în cazul utilizării unei doze de 40 g/hL produs. În cazul utilizării unei doze de 20 g/hL, la vinurile obținute din soiul Sauvignon Blanc nu sunt evidențiate diferențe senzoriale între vinul martor și vinurile tratate.

Cu privire la utilizarea produsului în vinurile roșii, se observă capacitatea sa de a exercita efect de cleire prin intermediul compușilor existenți în pereți celulari de levuri și de a reduce conținutul de antociani, iar vinurile se remarcă prin nuanțe intense de roșu-vioaceu (Vivas N. ș.a., 2001a).

Peretele celular de levuri reprezintă 30 % din greutatea uscată a levurilor și este un element de protecție a lor. Compoziția chimică a peretelui celular de levuri este constituită din manoproteine 35÷40 % și β -glucani 50÷60 %. Menținerea formei și a rigidității peretelui celular este asigurată de β -glucani, iar manoproteinele sunt ancorate la aceștia. În timpul procesului de maturare pe levuri, β -glucanaza reprezintă enzima cu capacitatea de a elibera manoproteine din peretele celular în vin.

La maturarea vinurilor albe se utilizează levuri inactivate și alte preparate levuriene. Firma de produse oenologice AGROVIN recomandă diverse alternative utilizate în etapa de maturare pe levuri, astfel încât se evită apariția aromelor reductive din levurile de calitate inferioară sau care și-au pierdut din proprietăți. Două produse sunt utilizate în mod frecvent la maturarea vinurilor, primul fiind format din pereți levurieni ce au o fracție mare de manoproteine (20÷22 %), iar datorită compoziției chimice complexe permite o îmbunătățire a senzațiilor gustative din vin, a stabilității proteice, tartrice și fixează compușii aromatici prin transferul accelerat al polizaharidelor. Cel de al doilea produs oenologic este constituit din levuri selecționate inactivate, cu un conținut ridicat în polizaharide, iar utilizarea în vin imediat după fermentația alcoolică, contribuie la îmbunătățirea echilibrului gustativ al vinurilor și le oferă complexitate aromatică.

Firma Lallemend a lansat un produs oenologic de maturare în colaborare cu INRA Montpellier constituit din levuri selecționate inactivate specifice, cu utilizare pe perioada de maturare, având drept scop asigurarea protecției vinului împotriva oxidării. După finalizarea

procesului de fermentație alcoolică, vinul devine sensibil la oxidare, astfel își pierde aromele varietaționale, fructate și apar note oxidate. Produsul are o mare capacitate de absorbție a oxigenului dizolvat, drept urmare se recomandă utilizarea sa.

2.2 Influența utilizării produselor oenologice de maturare asupra caracteristicilor de compoziție și senzoriale

Produsele oenologice de maturare sunt adjuvanți levurieni ce prezintă capacitatea de a elibera compuși de natură chimică prin autoliză, astfel elimină inconvenientele maturării tradiționale, prin capacitatea de a îmbunătăți stabilitatea fizico-chimică și a optimiza profilul senzorial a vinurilor obținute prin metoda *sur lie*.

În urma studiilor efectuate cu privire la produsele de maturare utilizate în vinuri, s-a evidențiat contribuția considerabilă la stabilizarea proteică, polifenolică și tartrică a vinurilor, protecția oxidativă, plus stabilizare aromatică.

Contribuția produselor oenologice de maturare la stabilizarea proteică a vinurilor – manoproteinele rezultate în urma procesului de autoliză a levurilor pe parcursul procesului de maturare a vinurilor albe seci au influență majoră la stabilizarea din punct de vedere proteic (Croitoru C. ș.a., 2001).

Vinurile albe supuse procesului de maturare pe levuri prezintă o stabilitate proteică mai bună decât vinurile albe obținute prin tehnologia clasică, la care s-a realizat un pritic înainte de vreme, astfel devin mai sensibile la casarea proteică (Ledoux V. ș.a., 1992), aspect datorat capacității levurilor de a elibera din pereții celulari manoproteine pe parcursul procesului de autoliză.

Cercetările au condus la identificarea în masa vinului a unui fragment de invertază cu masa moleculară de ordinul a 32 kDa, fragment de enzimă ce a fost eliberat în cursul procesului de autoliză levuriană, astfel s-a propus administrarea a 30 g/hL din preparatul pe bază de manoproteine obținut prin degradare termoenzimatică, pentru a asigura stabilitate vinurilor din punct de vedere proteic (Moine-Ledoux V. ș.a., 1997).

Cercetători din domeniu au realizat izolarea din levuri a manoproteinelor pe parcursul etapei de maturare a unui vin roșu. Din manoproteinele izolate în vinul respectiv, s-a depistat un conținut de 28,8 % proteine și 71,2 % polizaharide, fapt ce a ajutat la diminuarea unei instabilități proteice induse printr-un tratament termic în vin și a redus mărimea particulelor ce produc turbureala vinului (Water E. J. ș.a., 1993, 1994).

Îmbunătățirea stabilității proteice a vinurilor albe seci pe cale naturală este posibilă datorită concentrației mari de manoproteine eliberate prin autoliză celulară din pereții de levuri prin acțiunea enzimelor glucanazice. Prin procesul de maturare pe levuri, dozele de bentonită indispensabile stabilizării proteice a vinurilor albe s-au redus considerabil. Vinurile sunt instabile din punct de vedere proteic datorită prezenței proteinelor provenite din struguri, deci acesta reprezintă principalul considerent ce duce la instabilitate și reducerea gradului de limpiditate. Vinurile albe îmbuteliate sunt predispuse casării proteice prin păstrarea acestora la temperaturi ridicate și datorită prezenței taninurilor provenite din contactul prelungit cu dopurile de plută, astfel apar depuneri sau tulburări.

După 60 de ani, bentonita încă rămâne singurul material oenologic utilizat pentru a preveni casarea proteică a vinurilor. În cazul utilizării unor doze de bentonită mai mari, cu scopul de a oferi stabilitate bună vinurilor, a fost semnalată o pierdere considerabilă a

compușilor cu rol important în determinarea însușirilor senzoriale a vinului. Efectul este nedorit și se întâlnește des în rândul vinurilor produse din soiul Sauvignon Blanc, tipicitatea lui fiind afectată, chiar și de dozele mici de bentonită (5g/hL). S-a demonstrat diminuarea conținutului de 4-metil-4-mercaptopentanonă cu până la 20 % prin administrarea de bentonită, compus volatil reprezentativ. Compusul prezintă un grad de percepție foarte scăzut în vinuri, mai exact de 3 ng/L vin. În momentul scăderii conținutului de mercaptopentanonă sub pragul de percepție olfactivă, tipicitatea soiului Sauvignon Blanc este puternic afectată, de aceea trebuie evitat scăderea conținutului de mercaptopentanonă (Dubourdieu D., 1995).

A fost urmărită evoluția vinurilor albe seci maturate pe levuri și stabilitatea proteică a acestora, stabilitate conferită de acțiunea manoproteinelor eliberate prin autoliză levuriană din pereții celulari. Pentru cercetarea amănunțită a fenomenului, au fost realizate la I.T.V. Beaune din Franța diverse determinări, mai exact determinări de proteine și manoproteine, astfel a fost testată stabilitatea acestora la încălzire.

Metoda electroforezei capilare a permis determinarea proteinelor și separarea acestora dintr-un vin obținut din soiul Sauvignon Blanc, în cele 7 picuri, ce corespunde fiecare unei fracții de proteine pure. În mustul și vinul apărut în urma fermentației alcoolice a mustului de struguri, picul 7 este absent, acesta își face apariția pe parcursul perioadei de maturare pe levuri. Prin intermediul acestei metode moderne s-a materializat determinarea stabilității termice a diverselor fracții proteice, plus reactivitatea lor în raport cu bentonita; excepție făcând cea de a 7-a fracție, care este stabilă din punct de vedere termic. Celelalte fracții proteice prezintă grade de stabilitate termică diverse, de menționat faptul că cele care au termosensibilitate ridicată sunt cel mai dificil de eliminat prin tratamentul cu bentonită, din cauza stabilității termice singura care nu poate fi adsorbită este fracția 7. În urma acestui studiu a fost posibilă determinarea dozelor de bentonită necesare pentru a asigura o stabilitate proteică și limpiditate bună vinurilor (Croitoru C. ș.a., 2001).

Numeroase experimente s-au realizat de către societatea Spindal – AEB din Franța, pe diverse eșantioane de manoproteine. Pereții celulari de levuri au origine polizaharidică, fiecare perete celular fiind format din două straturi: unul extern, alcătuit din glucan amorf și manoproteine, celălalt intern din glucan fibros, cu mențiunea că manoproteinele sunt solubile, iar glucanii insolubili. Manoproteinele legate slab de glucani se pot extrage prin încălzire la temperatura de 100 °C în mediu apos, iar cele legate puternic se extrag prin acțiunea enzimelor proprii, numite glucanaze, în timpul procesului de autodegradare enzimatică.

Efectul produselor oenologice de maturare cu un conținut ridicat de manoproteine, extrase prin degradarea enzimatică a peretelui celular de levuri, asupra stabilității proteice a fost observat în cazul vinurilor albe obținute din soiul Sauvignon Blanc în cadrul etapei de maturare pe levuri. În urma studiilor efectuate, s-a evidențiat faptul că vinurile sunt mai stabile din punct de vedere proteic deoarece prin îmbogățirea în manoproteine pe parcursul procesului de autoliză celulară, pe cale enzimatică în prezența glucanazelor din pereții celulari de levuri se reduce de 2-3 ori doza de bentonită folosită la stabilizarea vinurilor (de la 95 g/hL la 35 g/hL) datorită îmbogățirii în manoproteine (Dubourdieu D., 1995).

Contribuția produselor oenologice de maturare la stabilizarea tartrică a vinurilor – polizaharidele și polifenolii, considerați polimeri ai vinului, exercită efect de stabilizare față de precipitățile tartrice (Gerbaud V. ș.a., 1997).

A fost realizat un studiu, în care a fost analizat pe un vin model rolul pe care îl au manoproteinele cu privire la stabilizarea tartrică a vinurilor (Lubbers S. ș.a., 1994), cât și pe un vin alb tratat cu diferite preparate manoproteice elaborate și utilizate doar la nivel de laborator (Feuillat M., Charpentier C., 1998).

Cu privire la hotărârea influenței pe care o exercită manoproteinele asupra stabilității tartrice a vinurilor, cercetările s-au bazat pe măsurarea eficienței prin testul la frig a celor două tipuri de preparate manoproteice și prin măsurarea scăderii temperaturii de cristalizare. Preparatele manoproteice s-au administrat în doze de 250 mg/L, iar prin testul la frig s-a dovedit eficiența preparatelor manoproteice în vinul alb, deoarece această doză a inhibat apariția cristalelor de săruri tartrice, după ce probele s-au menținut timp de 96 h la temperatura de 4 °C. De asemenea, prin metoda conductometrică a fost posibilă scăderea temperaturii de cristalizare, fapt ce a demonstrat că ambele preparate pe bază de manoproteine au condus la rezultate comparabile, concretizate prin scăderea temperaturii de cristalizare de la -2,2 °C la -2,3 °C, deci cu o diferență de 0,1 °C (Feuillat M., Charpentier C., 1998).

Au fost testate diverse preparate manoproteice de a lungul timpului. De exemplu, la Facultatea de Oenologie din Bordeaux, produsul MonnostabTM a fost testat, astfel încât s-a dovedit și demonstrat eficacitatea lui asupra stabilizării tartrice a vinurilor. Dozele administrate au fost cuprinse între 10 ÷ 30 g/hL înainte de tratamentul la frig. În cazul vinului obținut din soiul Sauvignon Blanc, produsul a deținut capacitatea de a inhiba cristalizarea tartraților acizi de potasiu în doze de 15 ÷ 25 g/hL, deoarece atunci când produsul se administrează în doze mai mari de 40 g/hL nu mai prezintă capacitatea de stabilizare tartrică (Croitoru C., 2001).

Administrarea acestui produs în vin poate înlocui cu succes anumite procedee tehnologice clasice de stabilizare tartrică. Eficacitatea produsului MonnostabTM s-a comparat cu eficacitatea procedurii de refrigerare prin contact în flux continuu și a tratamentelor cu acid metatartric. Dozele de 1 ÷ 15 g/hL și 2 ÷ 25 g/hL din produs au condus la obținerea de vinuri stabile din punct de vedere tartric, fapt ce demonstrează că acesta are un rol protector mai puternic și mult mai durabil în fața precipitărilor tartrice comparativ cu tratamentul cu acid metatartric și refrigerarea în flux continuu.

Contribuția produselor oenologice de maturare la stabilizarea polifenolică a vinurilor – primele cercetări asupra interacțiunilor dintre compușii polifenolici din vin și pereții celulari levurieni au fost realizate în anul 1986.

În urma cercetărilor, s-a demonstrat faptul că în prezența produselor de maturare (mai exact a pereților celulari de levuri) se înregistrează o creștere a valorilor celor doi parametri, intensitatea și tenta culorii. De asemenea are loc o diminuare a participării compușilor antocianici liberi la formarea culorii vinurilor roșii, în timp ce crește conținutul complexilor tanini-antociani decolorabili cu SO₂ (dTA%), în plus taninurile din vin sunt mai puțin reactive cu fracțiile proteice ale gelatinei (Augustin M., 1986).

Alte cercetări au confirmat faptul că prin inocularea de produse oenologice ce conțin manoproteine extrase din pereții celulari de levuri, se înregistrează o scădere a indicelui de gelatină, fapt ce corespunde unui tip de cleire care conduce la inactivarea taninurilor; acest aspect a fost explicat de incidența combinațiilor taninurilor cu compuși lipsiți de structură fenolică, cum sunt glicoproteinele (Llauberes R. M., 1987).

Sub acțiunea polizaharidelor din pereții celulari de levuri se realizează un mecanism ce face posibilă stabilizarea vinurilor din punct de vedere fenolic. Cercetările s-au reluat 10 ani mai târziu și astfel proprietățile de autoasociere ale flavonilor au fost puse în evidență prin apariția unei ușoare tulburări în masa vinului. Proprietățile de autoasociere ce corespund cu apariția unei tulburări, au demonstrat că există posibilitatea eliminării apariției fenomenului de instabilitate coloidală prin adăugarea de polizaharide, în acest sens interacțiunea proteinelor, nu doar cu molecule izolate de procianidine (oligomeri polifenolici, ce aparțin clasei de flavonoizi proantocianidici formați din molecule de catechină și epicatechină, sunt considerați fenoli naturali), ci și cu agregatele formate în urma autoasocierii lor, au fost evidențiate în acest studiu. Astfel, a fost permisă elaborarea mai multor ipoteze cu privire la formarea a noi tipuri de interacțiuni între taninuri și diverse macromolecule, cu mențiunea că prezintă probabilitatea apariției unor efecte asupra caracteristicilor senzoriale ale vinurilor, iar favorabilitatea acestor interacțiuni se asociază cu noțiunea de "taninuri bune" sau "împresurate" (Saucier C., 1997).

Cu privire la interacțiunea macromoleculelor existente în peretele celular cu polifenolii din vin, cercetările au evidențiat în urma procesului de fermentație alcoolică cu o sușă de levuri selecționată din *Saccharomyces cerevisiae*, ce prezintă capacitate biologică superioară de producere a manoproteinelor și în cazul utilizării la producerea vinului roșu, acesta oferă o intensitate mai redusă a culorii vinului roșu (Escot S., 1999).

În anul 1999, a fost propus un index care permite caracterizarea vinurilor din punct de vedere structural, astfel polizaharidele și posibil manoproteinele prezintă un efect la fel de important precum glicerolul asupra senzațiilor gustative de astringență, amăreală, onctuozitate și aciditate (Bertuccioli M., Ferrari G., 1999).

Senzația de astringență a unui vin roșu devine mai pronunțată pe măsura creșterii gradului de agregare a taninurilor. A fost studiată capacitatea diverselor polizaharide de a se combina cu taninurile, astfel cercetările au evidențiat faptul că interacțiunea celor două componente chimice depinde de natura polizaharidelor rezultate prin autoliză. Polizaharidul complex, ramnagalacturonanul II prezintă capacitatea de a accentua fenomenul de agregare a taninurilor din bacele de struguri, mai exact din semințe, în timp ce arabinogalactanii nu exercită nici un impact asupra fenomenului de agregare (Bertuccioli M., Ferrari G., 1999).

Manoproteinele au capacitatea de a preveni fenomenul nedorit de agregare a taninurilor în procesul de maturare, de menționat faptul că prevenția depinde de compoziția lor chimică și mai ales de proporția componentelor existente, de natură proteică și polizaharidică (Escot S., 2003).

În urma utilizării unui produs oenologic de maturare adecvat, rezultat prin degradarea termică și enzimatică a pereților celulari de levuri autolizate, din gama BÂTONNAGE, prima generație, mai exact BÂTONNAGE PLUS 150 KD, în procesul de maturare a unui vin roșu obținut din soiul Cabernet Sauvignon, a fost evidențiată o reducere a intensității colorante comparativ cu proba martor (Croitoru C. ș.a., 2007b).

Contribuția produselor oenologice de maturare la îmbunătățirea aromatică a vinurilor – autoliza levurilor este benefică deoarece îmbunătățește echilibrul aromatic al vinurilor, prin favorizarea fenomenului de eliberare a anumitor componente (lipide, acizi ribonucleici, polizaharide, substanțe azotate și vitamine), ce sunt considerate precursori de arome care influențează profilul aromatic final al vinurilor.

În literatura de specialitate, levurile sunt asociate cu vinurile pentru a oferi corpolență și rotunjime senzațiilor olfactive și gustative, plus de a le îmbunătăți capacitatea de păstrare a calităților. În general, macromoleculele eliberate afectează considerabil vinurile din punct de vedere calitativ.

Prin tratamentele de limpezire aplicate vinurilor liniștite, în special celor albe seci, se elimină un conținut de 30 % de macromolecule, ceea ce afectează vinurile din punct de vedere senzorial, prin diminuarea persistenței aromatice (Feuillat M. ș.a., 1987). După contactul prelungit a vinurilor cu sedimentul fin de levuri, datorită eliberării în vinuri a diferitelor cantități de macromolecule, se constată un efect favorabil la nivel senzorial. Acest fenomen ce implică diferențe la nivel olfactiv, a fost atribuit existenței interacțiunilor dintre macromoleculele din levuri și compușii aromatici prezenți în vinuri (Ferrari G. ș.a., 1988). Cu toate acestea, numeroasele experimente realizate cu polizaharide extrase și purificate din vin (manoproteine derivate din levuri în urma procesului de fermentație alcoolică și de autoliză) nu au efecte semnificative asupra proprietăților organoleptice ale vinului (Will F. ș.a., 1991).

Au fost studiate interacțiunile dintre macromoleculele parietale de levuri și compușii volatili responsabili de aroma vinului pe un mediu model. Acest mediu model reprezintă o soluție hidroalcoolică tamponată, ce conține compuși volatili responsabili de aromă (hexanoat de etil, n-hexanol, acetat de izoamil și β -iononă), manoproteine din levuri și proteine din struguri, cu pH 3,5 (Lubbers S. ș.a., 1993).

Într-un mediu model, se pare că interacțiunile dintre macromoleculele din vin și compușii volatili depind de partea proteică a macromoleculelor și de natura hidrofobă a substanței aromatice. Macromoleculele din vin nu prezintă capacitatea de a interfera în manieră unilaterală deoarece pot crește sau scădea volatilitatea relativă a substanțelor aromatice din vinuri, aceste fenomene se produc în aceeași măsură și în același timp. De exemplu, multe molecule nepolare pot fi fixate de macromolecule (Feuillat M. ș.a., 1998).

Interacțiunea ce apare între macromolecule, levuri și constituenți responsabili de caracterul olfactiv al vinurilor a fost evaluată prin utilizarea a două tehnici: prin tehnica dializei la echilibru, ce face separarea membranară lichid-lichid, dar și dozarea în mod direct a concentrației compușilor volatili ce sunt fixați pe o oarecare macromoleculă și tehnica "head-space" ce permite calcularea unui coeficient de separare a unui compus olfactiv între faza lichidă și faza gazoasă (Lubbers S. ș.a., 1993, 1994).

Cercetările din anul 1986 au utilizat un alt mediu model, cu scopul de a monitoriza modificările ce apar la cantitățile de compuși volatili eliberați din levuri prin autoliză simulată. Majoritatea compușilor volatili s-au întâlnit în concentrații mai mari atunci când timpul de maturare pe levuri a fost mai îndelungat. Cu toate acestea, o creștere a biomasei inițiale nu conduce sistematic și la o creștere proporțională a cantităților de compuși volatili (Chung SH., 1986).

Studiile cu privire la modificările compoziției compușilor responsabili de aroma vinurilor spumante, folosind preparate levuriene pe durata maturării pe levuri au evidențiat faptul că temperatura are o influență asupra concentrațiile unor compuși, ca de exemplu cei cu un punct de fierbere ridicat (unii acizi grași și esteri etilici). În plus, s-a constatat faptul că concentrațiile compușilor volatili sunt de cinci ori mai mari la vinurile maturate cu levuri fine comparativ cu cele maturate pe sedimentul de levuri grosier. Cu toate acestea, foarte important

e faptul că nu toți compușii volatili eliberați prin autoliză contribuie la îmbunătățirea proprietăților organoleptice ale vinurilor spumante (Molnar I. ș.a., 1981).

Maturarea pe levuri a unor vinuri albe produse din soiul Riesling italian, realizată timp de 45 de zile, la temperatura de 10 °C, reduce cu 52 % cantitățile de compuși glicolizați și precursori aromatici nevolatili în comparație cu vinurile care nu sunt maturate. Componentele glicolizate sunt degradate prin acțiunea enzimelor glicozidaze prezente în spațiile periplasmice ale levurii și sunt eliberate în mediu pe durata autolizei (Zoecklein B. ș.a., 1997).

O serie de cercetători au exprimat opinii diferite despre comparația clasică dintre vinurile maturate pe levuri și vinul martor, cu mențiunea că acestea sunt de o calitate mai bună. A fost confirmat faptul că adaosul de levuri într-un vin obținut din soiul Chardonnay și cu agitare periodică (*stirring*), au dus vinul într-o "nouă dimensiune". Vinul a obținut echilibrul la nivel olfactiv și gustativ, cu o îmbinare armonioasă a notelor olfactive de fructe cu cele date de levuri și de lemn (Stuckey W. ș.a., 1991). A fost găsită o corelație între eliberarea compușilor cu efecte pozitive asupra vinurilor maturate pe levuri și eliberarea de aminoacizi, după 5 luni. Aminoacizi pot să se transforme prin reacții chimice în compuși volatili, cu implicații benefice în profilul senzorial al vinurilor, ca în următoarele cazuri:

- reacția de dezaminare a aminoacidului L-treonină în acid α -cetobutiric, care la rândul său este transformat în 3-hidroxi-4,5-dimetil-2(5H)-furanona, cunoscută sub denumirea de sotolon (este o lactonă și un compus aromatic, care în concentrații mari are un miros tipic de curry, schinduf sau semințe de leuștean, iar în concentrații mici are miros de zahăr ars, caramel sau sirop de arțar). În vinurile maturate pe levuri sau învechite în butoaie de stejar, compusul are o notă olfactivă de nuci verzi;
- formarea compusului vitispiran (metabolit ce se regăsește în celulele de levuri din specia *Saccharomyces cerevisiae* sau este produs de această specie de levuri), un compus tipic vinurilor maturate și învechite, cu arome florale, care se formează din metionină (Feuillat M., Charpentier C., 1982).

Studiile au demonstrat că vinurile produse în Burgundia sunt preferate imediat după limpezirea efectuată la sfârșitul fermentației alcoolice în detrimentul celor maturate pe levuri, cu toate că din punct de vedere calitativ sunt mai echilibrate cele cu perioadă de maturare. Cu toate acestea, vinurilor de tip *champagne*, cărora li s-au adăugat produse obținute din levuri autolizate, au primit note mai bune la degustare pentru tipicitatea soiului, intensitatea și persistența aromatică. S-a demonstrat că absența produselor oenologice de maturare sunt benefice în primul an, dar după acest timp absența lor devine un dezavantaj (Ferrari G., Feuillat M., 1988; Chung S., 1986).

Metoda de maturare pe levuri se utilizează la nivel industrial cu scopul de a contracara planeitatea inițială a strugurilor, la producerea vinului din soiul Kosu în Japonia (hibrid din *Vitis vinifera*, cu caracteristici organoleptice asemănătoare cu soiul Sauvignon Blanc). Analizele cu privire la calitățile senzoriale ale vinurilor, cu evaluarea perioadei de contact considerată optimă dintre vin și levuri, au demonstrat că cele mai bune vinuri au fost cele lăsate în contact cu levurile timp de cinci până la șase luni în cazul celor maturate în butelii de sticlă și timp de patru luni la vinurile maturate în cisterne de inox (Arizumi K. ș.a., 1994).

În cele din urmă s-a demonstrat faptul că agitarea periodică a levurilor pe perioada maturării a crescut cantitatea de polizaharide eliberate în mediu, diferență ce nu a fost sesizabilă la degustarea vinurilor. De asemenea, aspect foarte important a fost că vinurile maturate pe levuri au fost mai preferate decât vinurile de control.

Cu toate acestea, s-a remarcat că polizaharidele au un efect direct asupra calităților organoleptice ale vinurilor albe maturate pe levuri, adăugând rotunjime, onctuozitate, complexitate și persistență gustativă (Llauberes R. M., 1987).

Contribuția produselor oenologice de maturare la protecția vinurilor împotriva oxidării – Produsele oenologice oferă protecție compușilor de culoare și de aromă pe perioada de maturare. Cercetătorii din domeniu au realizat mai multe studii pe vinurile albe seci, obținute prin etapa de maturare pe levuri, cu privire la beneficiile pe care le au peptidele și glutatationul eliberate prin autoliză împotriva procesului de oxidare.

Glutatationul, o tripeptidă cu sulf, are capacitatea de a evita brunificarea culorii vinurilor și degradarea profilului aromatic varietal al vinurilor albe seci, în special a celor obținute din soiul cosmopolit Sauvignon blanc. Studiul a încercat, într-o primă fază să evidențieze prezența în formă redusă a tripeptidei în musturi, concentrația fiind variată în funcție de gradul de avansare a procesului de fermentație alcoolică și de concentrația de azot a musturilor, de până la 20 mg/L. De asemenea, studiul s-a concretizat prin faptul că administrarea unei doze de 10 mg/L glutatation în vinurile albe seci, înainte de a se realiza îmbutelierea, permite vinurilor să aibă o dezvoltare armonioasă pe durata maturării, fără apariția de mirosuri neplăcute, apariția fenomenelor de îngălbenire și brunificare (Dubourdieu D. ș.a., 2003).

La finalul procesului de fermentație alcoolică și ulterior pe parcursul maturării pe levuri se eliberează în vinuri oligopeptide din celulele de levuri (Perrot L. ș.a., 2002). Prin eliberarea de oligopeptide, vinurile obținute sunt îmbogățite din punct de vedere senzorial, devin mai echilibrate, cu mențiunea că concentrația de oligopeptide este de 10÷15 ori mai mare comparativ cu cea din musturi (Carnevillier V. ș.a., 1999).

Peptidele sunt compuși chimici ce prezintă proprietăți antioxidante și senzoriale. S-a evidențiat faptul că unele peptide au gust amar în apă, rareori dulceag, în timp ce în vin au o concentrație inferioară pragului de percepție, însă intervine un efect sinergic format cu alți compuși (Desportes C. ș.a., 2001). Prin administrarea de 20 mg/L glutatation într-un vin roșu, au fost observate valori mai scăzute a intensității galbene după 60 de zile, fapt ce demonstrează că vinurile suferă o oxidare mai slabă în prezența compusului glutatation (Vivas N. ș.a., 2005).

Un vin alb are la începutul procesului de autoliză o concentrație de 10÷12 mg/L glutatation, însă printr-o creștere ușoară a acestei concentrației, de doar 10 mg/L, conduce la o accentuare a fructuozității (au fost depistate creșterii de 40 % ale conținutului 3-mercaptohexol, un tiol volatil cu aromă fructată, tropicală, ce are efect favorabil asupra profilului senzorial al vinurilor albe obținute din soiul Sauvignon blanc) și o conservare a caracteristicilor aromatice ale vinurilor (Dubourdieu D., Lavigne V., 2005).

S-au realizat diverse experimente pe vinurile albe și rosé cu un produs din gama BÂTONNAGE, cu scopul de a evidenția capacitatea antioxidativă și cea antioxidantă a produsului BÂTONNAGE PLUS 20 KD în vinuri. Toate probele de vin ce au fost tratate cu doze de 40 g/hL au prezentat o creștere de 15÷20 % a concentrației de polizaharide, dar și de molecule cu capacități antioxidante, ușor solubile în vin, precum peptide, aminoacizi cu sulf și

glutation ce prezintă efect tampon față de acțiunea oxigenului din aer (Croitoru C. ș.a., 2007b). Important e faptul că produsul de maturare, prin fracțiunea proteică formată din proteine, polipeptide, peptide și aminoacizi, are capacitatea de a reduce evoluția oxidativă nedorită a vinurilor (Vivas N. ș.a., 2001b).

A fost testată și capacitatea pe care o prezintă produsul în diminuarea producerii de compuși cu sulf dezagreabili, precum metan-tiolul, etan-tiolul, hidrogenul sulfurat (Moine-Ledoux V. 1995; Croitoru C. ș.a., 2001b) și în cursul fermentației alcoolice producerea esterului acid metiletilpropil-3-acetic, moment când levurile sunt determinate să acționeze din pricina condițiilor de stres ce sunt create de factori tehnologici restrictivi (Sieczkowski N., 2005).

CAPITOLUL 3 CADRUL ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU DESFĂȘURAT CERCETĂRILE

CHAPTER 3 THE ORGANISATIONAL AND INSTITUTIONAL FRAMEWORK IN WHICH THE RESEARCH WAS CARRIED OUT

3.1 Descrierea Centrului de Cercetări pentru Oenologie “Valeriu D. Cotea”

Centrul de Cercetări pentru Oenologie reprezintă primul centru cu profil agricol din Academia Română și este în colaborare cu activitățile desfășurate de Laboratorul de Oenologie de la Facultatea de Horticultură, din cadrul Universității de Științele Vieții “Ion Ionescu de la Brad” din Iași, situat în partea de N-V. Ambele unități își desfășoară activitatea într-un spațiu comun, cercetătorii utilizează aceeași dotare tehnică.

Înființarea acestui cadru a fost posibilă prin crearea unor condiții favorabile pentru desfășurarea unor preocupări cu caracter științific, ce corespund cerințelor impuse de dezvoltarea în mod continuu a domeniului vitivinicol (Academia Română – Filiala Iași, 2012). Prezența Centrului la manifestări tehnice și științifice la nivel internațional sub patronajul Organizației Internaționale a Viei și Vinului (OIV), cum ar fi: Adunările generale ale OIV, Congresele mondiale ale OIV, Lucrările științifice ale Comisiei de Oenologie, Reuniuni ale Comitetului Executiv și ale Comitetului Științific și Tehnic, întrunirile și evaluările realizate de Grupul Experților de “Securitate alimentară”, “Consum, nutriție și sănătate”.

Chiar de la înființare, activitățile științifice și didactice s-au desfășurat în cadrul Laboratorului de Oenologie ale Centrului, aflat în incinta Stațiunii experimental-didactice Vasile Adamachi, în orașul Iași, de o echipă de cercetători cu o pregătire bună în domeniul oenologiei.

Centrul a reușit să realizeze un studiu amplu cu caracter științific bazat în totalitate pe condițiile ce au o contribuție majoră la calitatea vinurilor și marea varietate climatică și geografică a țării, cu titlul “Podgoriile și Vinurile României”, carte ce a luat premiul OIV în anul 2001, fiind în anul 2003 editată și în limbile engleză, franceză.

Printre preocupări, cea mai importantă o reprezintă studiul unor vinuri de mare marcă din lume, cu referire la tehnologii speciale, fiind sintetizate ulterior în cărți și lucrări științifice. Au fost studiate mai multe teme oenologice, precum tehnologiile de obținere a vinurilor spumante, cu cea de a doua fermentație în butelii de sticlă, tehnologiile de obținere a unor vinuri aromatizate ca vinul pelin, vermouthul și retsina, un vin tradițional din Grecia. Studii cu privire la diferite etape ale vinificației, stabilizarea vinurilor față de precipitățile tartrice, studiul capacității tampon a vinurilor, microbiologia vinului, efectele biologice și medicale ale vinurilor, toate cu scopul unei eficiente și bune monitorizări a tehnologiilor de producere și condiționare a vinurilor liniștite și speciale.

Centrul de Cercetări pentru Oenologie are utilaje necesare pentru micro- și mini-vinificație de ultimă generație: instalații de vinificație necesare, prese pneumatice, zdrobitoare-desciorchinătoare, cisterne din oțel inoxidabil pentru fermentația alcoolică și pentru macerare (cu pompe de reciclare și pentru macerare la rece, macerare carbonică), vase de sticlă (damigene) de dimensiuni diferite folosite la fermentația vinurilor. De asemenea, în micro-cramă găsim filtre clasice, pompe, cisterne de macerare-fermentare cu temperatură controlată

și atmosferă protectoare de azot, macerare termo-barică, macerare cu microunde și macerare cu ultrasunete, dispune de echipament de pasteurizare ce oferă posibilitatea unei sterilizării cu apă ozonată, cu aburi sau sterilizare directă cu ozon.



Figura 3.1 – Laboratorul de Oenologie al Universității de Științe Vieții “Ion Ionescu de la Brad” Iași (original)

Figure 3.1 – Oenology Laboratory of “Ion Ionescu de la Brad” University of Life Sciences (original)

Laboratorul dispune de aparatură pentru determinările fizico-chimice formată din:

- spectrofometru UV-VIS care se utilizează la determinarea culorii produselor solide sau lichide, ce a permis introducerea metodei C.I.E. Lab.76, ce a perfecționat și a condus la obținerea expresiei numerice a caracteristicilor cromatice ale vinului (cromaticitate, luminozitate, tenta culorii, coordonata culorilor galben-albastru, roșu-verde), prin transmisie sau reflexie, indicele Folin-Ciocalteu (IFC), conținutul total de compuși fenolici (D280), conținutul de antociani totali;
- analizator automat oenologic, spectrofotometre portabile cu emisie de plasmă utilizate la cuantificarea metalelor, dispozitive refractometrice, afrometre, analizator portabil multiparametru Px;
- spectrometre FTIR ce permit cuantificarea și evaluarea reziduurilor solide din lichide;
- aparatură necesară pentru inițierea și efectuarea unor studii microbiologice pentru analiza microorganismelor existente în mediul fermentativ sau pe suprafața fructelor; autoclavă, microscopie cu epiluminiscență, hotă cu flux laminar, lupă binoculară, incubator CO₂, MALDI-linear TOF cu baze de date SARAMIS utilizate la evaluarea în mod rapid a probelor de funghi și

bacterii, plus autoclave pentru sterilizarea instrumentelor de sticlă din laborator sau a mediilor de cultură;

-diverse unități de cromatografie lichidă pentru analiza acizilor fenolici, taninurilor, antocianidinelor, proantocianidinelor, polizaharidelor, aminoacizilor, acizilor organici, zaharurilor, vitaminelor, proteinelor, micotoxinelor, pigmentilor naturali și de sinteză, profilare metabolomică: LC-DAD-qMS, LC-PDA-IT-TOF, LC x LC – dinamic DAD;

-echipamente utilizate la determinarea compușilor semi-volatili și volatili: trapHS-GC-3Qms, GC-FID, GCxGC, LC-GC-FID cu detector FID-μECD-dFDP, GC X GC – FID, SBSE-balistic GC-ITMS, SPME/MEPS-GC-MS.

Toate rezultatele obținute prin utilizarea aparaturii moderne ale laboratorului sunt ulterior procesate prin intermediul mai multor servere integrate și sisteme informatice în rețeaua științifică a Centrului de Cercetare pentru Oenologie al Academiei Române – Filiala Iași.

Centrul este relaționat la o viață oenologică internațională, fiind apreciat ca o organizație științifică, ce se bucură de prestigiu la nivel mondial datorită activității cercetătorilor și mai ales a Academicianului Valeriu D. Cotea. Laboratorul de Oenologie are legături științifice cu Catedrele de Viticultură și Oenologie de la UȘAMV București, Cluj și Craiova, cu Institute de Cercetare, ICDVV Valea Călugărească, SCDVV din Iași, Murfatlar, Bujoru, Odobești, Blaj. Centrul are relații foarte bune și la nivel internațional cu instituții de prestigiu din străinătate, cum sunt: Institutul Național pentru Viticultură și Vinificație al Republicii Moldova, Universitatea Tehnică din Moldova, Academia de Științe din Moldova; Universitatea de Științe Agricole din Torino (Italia), Eurofins Scientific Analytics, Nantes (Franța), Instituto Agrario, San Michele all'Adige (Italia), Central Science Laboratory – MAFF, Sand Hutton, York (Marea Britanie), Institute for Health and Consumer Protection of the Joint Research Center, Ipra (Italia), Institutul Experimental pentru vin din Asti (Italia), Mittelelungen Klosterneuburg (Austria), Fachbereich Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie (Berlin), Estação Vitivinícola Nacional (Portugalia).

Cercetările cu privire la influența pe care o au produsele oenologice la maturarea vinurilor albe și rosé obținute din soiurile Sauvignon blanc și Busuioacă de Bohotin s-au realizat în cadrul Laboratorului de Oenologie.

3.2 Descrierea arealului de proveniență al strugurilor, centrul viticol Copou, podgoria Iași

Podgoria Iași este situată în nord-estul României, unde se face contactul dintre Câmpia colinară a Moldovei și Platoul Central Moldovenesc, contact ce este marcat de “Coasta Iașului”. Cadrul natural îndeplinește condițiile necesare dezvoltării viței-de-vie față de factorii externi (biologici și climatici) și factorii suport (litologici, pedologici și morfologici). Din această podgorie fac parte mai multe centre viticole, precum Bucium, Galata, Copou, Uricani, Tomești, Bohotin, Covasna și Comarna (Cotea V.D. ș.a., 2003).

Substratul litologic este reprezentat de sedimentele sarmațianului superior și mijlociu, fiind alcătuit dintr-un complex de argile cu nisip, marne erodate, iar în diverse zone apar straturi subțiri de conglomerate și calcare fosilifere (Liliana Rotaru ș.a., 2009).

Relieful este dispus în două trepte, ce corespund celor două subunități geomorfologice: Podișul Central Moldovenesc cu o altitudine de 300-350 m, reprezentat de Coasta Iașului și

Câmpia Moldovei cu o altitudine de 150 m, caracterizat printr-un relief de platouri și de coline netede, joase și bine însoțite. Solurile care le găsim în podgoria Iași sunt de mai multe tipuri: solurile cenușii, regosolurile, cernoziomurile cambice și solurile antrice (Mustea M. ș.a., 2004).

Resursele hidrice, de adâncime și de suprafață sunt suficiente, atât cantitativ, cât și calitativ, pentru a asigura nevoile viticole. Prutul, prin cursul său mijlociu și Bahluiul, prin cursul său inferior reprezintă colectoriile unor pâraie scurte și cu debite destul de reduse anual. Apele freatice au debite relativ reduse, fiind descărcate prin izvoare sau interceptate prin fântâni.

Vegetația face tranziția de la stepă la silvostepă sarmato-pontică în colinele din sudul Câmpiei Moldovei și etajul inferior al Coastei Iașului. Este reprezentată prin resturi ale pădurilor de stejar, gorun, tei, carpen cu sau fără fag (Cotea V.D., ș.a., 2003).

Climatul este temperat continental cu nuanțe excesive, repercusiune a poziției de interferență care se produce la 200÷250 m în panta Câmpiei Moldovei între climatul excesiv continental al Câmpiei Moldovei și climatul moderat continental al Podișului Central Moldovenesc.

3.3 Descrierea soiurilor de struguri luate în studiu

Soiul Sauvignon blanc

Sinonime: *Fumé, Blanc fumé, Sauternes, Fié, Sauvignon jaune, Sauvignon vert, Surin, Sauvignon a gros grains* – în Franța; *Feigentraube, Muskat sylvaner, Sylvaner musque* – în Germania.

Origine. Soiul ocupă suprafețe mari în Franța, mai exact podgoria Sauternes situată în regiunea viticolă Bordeaux, face parte din Proles Occidentalis. În Franța are ca direcția de producție obținerea vinurilor dulci (Liliana Rotaru, 2009).



Figura 3.2 – Struguri din soiul Sauvignon Blanc (www.vitadeviedemasa.ro)

Figure 3.2 – Grapes from Sauvignon Blanc variety (www.vitadeviedemasa.ro)

Caracteristici tehnologice. Este un soi cosmopolit, ce preferă versanții însoriți cu orientare sudică sau sud-vestică, care au capacitatea de a asigura condiții optime pentru supramaturarea strugurilor. Cu privire la aspectele tehnologice, soiul este de calitate superioară

în toate podgoriile. În funcție de arealul de cultură, la maturitatea deplină soiul acumulează între 195 și 220 g/L zaharuri, aciditatea totală variază între 4,5 și 5,5 g/L H_2SO_4 , de aceea se permite cultivarea și în zone mai secetoase.

Se obțin vinuri seci, cu aromă caracteristică și fină specifică soiului. În cazul obținerii vinurilor demidulci și dulci, strugurii trebuie să ajungă la supramaturare și botritizare.

Vinurile obținute din soiul Sauvignon Blanc prezintă arome florale, asemănătoare cu cele ale florilor de viță de vie și de soc, proaspete și arome fructate. Gustativ se remarcă prin note de fructe tropicale, precum pepene galben, papaya.

Zonare. Producțiile și rezultatele cele mai bune ale soiului Sauvignon blanc se obțin în sudul Moldovei, Podișul Transilvaniei, podgoriile subcarpatice ale Olteniei și Dobrogea (Marinela Stroe, 2012).

Soiul Busuioacă de Bohotin

Sinonime: *Tămâioasă de Bohotin, Busuioacă vânată, Busuioacă* – în România.

Origine. Soiul este din același sortogrup cu soiul Tămâioasă românească și prezintă o capacitate de adaptare foarte bună la condițiile climatice și pedologice ale podgoriei Huși, centrul viticol Bohotin. Franța se remarcă cu un soi asemănător, *Muscat violet de Frontignan*.

Caracteristici tehnologice. Este un soi cu adaptabilitate foarte bună condițiilor ecoclimatice din NE Moldovei (Bohotin). Rezultatele cele mai bune se obțin pe terenuri însoțite, situate în pantă, cu expoziție sudică și soluri cu fertilitate mijlocie. Cu privire la aspectele tehnologice, soiul produce cantități de struguri mai mici decât soiul Tămâioasă românească, de $6 \div 8$ t/ha (Glăman Gh. ș.a., 2018).



Figura 3.3 – Struguri din soiul Busuioacă de Bohotin (www.viesivin.ro)
Figure 3.3 – Grapes from Busuioacă de Bohotin variety (www.viesivin.ro)

La maturitate deplină, soiul acumulează între 185 și 200 g/L zaharuri, depășind la supramaturare 240 g/L zaharuri și aciditatea totală de 4 g/L H_2SO_4 . Cantitățile de substanțe colorante acumulate sunt puține, de aceea vinurile obținute au o culoare roșie violacee, cu nuanțe cărămizii și aromă specifică soiului (Doina Damian ș.a., 2011).

Vinurile obținute din soiul Busuioacă de Bohotin se remarcă prin arome de busuioc, trandafir și gustativ prezintă note de dulceață de trandafiri, citrice suculente și arome subtile de piersici.

Zonare. Soiul Busuioacă de Bohotin prezintă o plasticitate ecologică limitată, arealul de cultură fiind restrâns la podgoria Huși și zona viticolă Dealu Mare, având rezultate excepționale în centrele viticole Bohotin și Pietroasa (Liliana Rotaru ș.a., 2008).

**PARTEA A II A
CONTRIBUȚII PROPRII**

**PART II
PERSONAL CONTRIBUTIONS**

CAPITOLUL 4 SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII, MATERIALUL ȘI METODA DE CERCETARE CHAPTER 4 PURPOSE AND OBJECTIVES OF RESEARCH, MATERIAL AND METHOD

4.1 Scopul și obiectivele științifice ale cercetărilor întreprinse

Maturarea pe levuri reprezintă o etapă tehnologică utilizată pe parcursul producerii vinurilor, în special în Franța, dar a pătruns și în alte țări viti-vinicole. După realizarea procesului de fermentație alcoolică, vinurile sunt plasate în damigene de sticlă, recipiente din oțel sau butoaie de stejar (baricuri) și maturate pe levuri sau diverse preparate levuriene timp de câteva săptămâni sau luni, cu agitare periodică a levurilor pentru a favoriza procesul de autoliză.

Imediat după parcurgerea acestei etape, vinurile se remarcă printr-o stabilitate fizico-chimică și însușiri calitative noi. Calitatea vinurilor se determină prin evaluare organoleptică și este constituită dintr-un complex de compuși volatili responsabili de aroma vinurilor. Aroma unui vin reprezintă rezultatul interacțiunii dintre compușii chimici ce sunt capabili să devină volatili și să formeze parametrii senzoriali ce au rol determinant în aprecierea senzorială a vinurilor. Totodată, aroma este un activator al receptorilor olfacto-gustativi ce se găsesc la nivelul papilelor gustative și celulele receptoare olfactive bipolare ce transmit impulsurile nervoase către aria corticală senzorială olfactivă.

Din alt punct de vedere, calitatea vinurilor reprezintă un concept ce își are originea în calitatea strugurilor utilizați la producerea lor, calitate ce este influențată de modul în care se concretizează fiecare etapă tehnologică ce contribuie la formarea și evoluția vinurilor.

Maturarea vinurilor este favorabilă tehnologiei de producere a vinurilor deoarece în timpul acestui proces are loc o eliberare a unor compuși extractibili ce duc la o îmbunătățire a caracteristicilor calitative și senzoriale. Repunerea levurilor în suspensie are scopul de a asigura păstrarea lor în contact cu vinurile. Autoliza levurilor eliberează în masa vinului aminoacizi, manoproteine, acizi grași, polizaharide, compuși ce reacționează între ei și ceilalți compuși ai vinului, astfel îi oferă acestuia arome noi (de unt, pâine prăjită, crocant, autolizat), textură, structură și complexitate.

Aspect important este menținerea sub observație a sedimentului de levuri, pentru a evita apariția unui dezechilibru. Pe parcursul maturării intervin mai mulți factori, care pot afecta evoluția vinului, de aceea este indicat să se utilizeze produse adecvate care să realizeze o maturare pe levuri armonioasă.

Studiul are ca scop principal determinarea influenței pe care o au produsele oenologice de maturare asupra compoziției fizico-chimice și caracteristicilor organoleptice ale vinurilor albe și rosé obținute din soiurile Sauvignon blanc și Busuioacă de Bohotin. Pentru realizarea acestor deziderate, s-a luat în considerare influența pe care o au 12 produse de maturare, cu compoziție diferită, administrate vinurilor după fermentația alcoolică în doze diferite, cu mențiunea că vinurile au fost obținute în anul 2020.

Pentru studierea influenței unor produse oenologice la maturarea vinurilor albe și rosé, s-au fixat câteva obiective științifice:

- analiza principalilor parametri de compoziție fizico-chimică a vinurilor obținute din soiurile Sauvignon blanc și Busuioacă de Bohotin;
- identificarea, determinarea și cuantificarea aminoacizilor și aminelor biogene în vederea caracterizării vinurilor și stabilirii influenței pe care au asupra vinurilor;
- analiza parametrilor cromatici a vinurilor elaborate în vederea stabilirii influenței pe care o are etapa de maturare pe levuri;

- evaluarea senzorială a vinurilor obținute pentru stabilirea influenței pe care o au produsele de maturare asupra caracteristicilor organoleptice.

Procesul de maturare are un rol determinant în obținerea vinurilor, deoarece prin adaosul de produse oenologice de maturare, vinurile dobândesc stabilitate tartrică, polifenolică, proteică și în același timp li se îmbunătățește semnificativ profilul senzorial.

4.2 Materiale și metode de cercetare utilizate pentru atingerea obiectivelor științifice

4.2.1 Materiale utilizate și tehnologii aplicate în procesul de cercetare

La realizarea studiului privind influența utilizării unor produse oenologice la maturarea vinurilor albe obținute din soiul Sauvignon blanc și vinurilor rosé obținute din soiul Busuioacă de Bohotin s-a utilizat material biologic din centrul viticol Averești.

Strugurii recoltați din centrul viticol Averești au fost transportați în incinta Stațiunii experimentale didactice "Vasile Adamachi" din Iași, unde s-a realizat vinificația. Recepția cantitativă a constat în cântărirea strugurilor. Recepția calitativă a avut în vedere mai multe aspecte, mai exact: analizarea stării de sănătate a strugurilor, controlul autenticității soiurilor, după care s-a realizat desciorchinatul și zdrobitul strugurilor cu ajutorul unui dispozitiv numit zdrobitor-desciorchinător. Această etapă este indispensabilă și importantă în tehnologia de obținere a vinurilor albe de calitate, cu implicații considerabile în conservarea caracterelor fructate tipice fiecărui soi.

Mustuiala obținută a fost sulfitată, pentru a o proteja de acțiunea dăunătoare a microorganismelor și de oxidare. A urmat macerarea prefermentativă la 10 °C, timp de 5-6 ore. Procesul de macerare s-a efectuat cu scopul de a omogeniza periodic mustuiala și pentru a se stimula difuzia compușilor de aromă în must, rotirea cisternelor, remontarea mustului. Se realizează controlul temperaturii din recipiente pentru a se evita atingerea temperaturilor mai ridicate de 25 °C.

Imediat după obținerea boștinei urmează operația de presare a boștinei, fiind ultima fază de prelucrare a strugurilor, astfel se obține mustul de presă. Operațiunea de presare a mustului se efectuează atunci când boștina este proaspătă, imediat după scurgerea mustului prin scurgătoare dinamice gravitaționale.

Asamblarea musturilor s-a realizat prin omogenizarea mustului ravac cu mustul de primă presă, urmată de limpezirea mustului prin deburbare, astfel se obțin vinuri curate, fine și cu aromă tipică soiurilor din care provin.

Au fost realizate analize fizico-chimice de laborator și s-au determinat conținutul de zaharuri și aciditatea totală a mustului obținut din soiul Sauvignon blanc, respectiv a mustului obținut din soiul Busuioacă de Bohotin.

Însămânțarea mustului obținut din strugurii soiului Sauvignon blanc – mustul a avut o aciditate totală $A_t=3,84$ g/L acid tartric și conținutul în zaharuri a fost de 211 g/L. Însămânțarea cu levuri selecționate uscate a fost realizată prin respectarea protocolului de rehidratare recomandat de producător. Pentru realizarea fermentației alcoolice s-au folosit levuri uscate de fermentație, mai exact un amestec de două levuri, Excellence® FTH în doză de 30 g/hL și Excellence® TXL tot de 30 g/hL, plus activatori de fermentație, 6 mL/hL.

După aproximativ 2 săptămâni de la însămânțarea mustului cu levuri selecționate s-au adăugat aceste produse: Opthiols – 30 g/hL, Optiesters – 30 g/hL și 500 g/hL Nutristart Arom.

Însămânțarea mustului obținut din strugurii soiului Busuioacă de Bohotin – mustul obținut a avut un conținut de 238 g/L zaharuri și o aciditate totală $A_t=6,3$ g/L acid tartric. S-a realizat însămânțarea mustului cu levuri selecționate în concordanță cu protocolul de rehidratare, astfel s-a adăugat Excellence® STR în doză de 30 g/hL, plus activatorul de fermentație Optiflor Activator – 500 g/hL. După câteva zile de la însămânțare s-a adăugat Optiesters în doză de 30 g/hL și 500 g/hL Nutristart Arom.

Variante tehnologice luate în studiu – După ce s-a realizat fermentația alcoolică, vinul a fost transvazat de pe depozitul de levuri format într-o altă cisternă. S-au prelevat în 13 damigene de sticlă, cu capacitatea de 10L, probe de vin din cisternă, pentru a se realiza maturarea pe levuri. Au fost utilizate 12 produse oenologice de maturare, în doze diferite, în funcție de precizările producătorilor din fișele tehnice, astfel obținându-se 13 variante tehnologice din vinul alb (12 variante tratate fiecare cu câte un produs și o variantă martor) și 13 variante tehnologice din vinul rosé (12 variante tratate cu câte un produs și o variantă martor). Variantele experimentale au fost notate cu cifre de la 1 la 13, urmate de SB, în cazul vinului obținut din soiul Sauvignon blanc, respectiv BB, în cazul vinului obținut din soiul Busuioacă de Bohotin, lista fiind următoarea:

- V1SB/V1BB – BÂTONNAGE PLUS 20KD® (4,02g produs/10L vin)
- V2SB/V2BB – BÂTONNAGE PLUS 150KD® (4,02g produs/10L vin)
- V3SB/V3BB – BÂTONNAGE PLUS ÉLEVAGE® (4,02g produs/10L vin)
- V4SB/V4BB – BÂTONNAGE BODY® (6,01g produs/10L vin)
- V5SB/V5BB – SUPER-MANN® (4,02g produs/10L vin)
- V6SB/V6BB – SPHÈRE BLANC® (2,01g produs/10L vin)
- V7SB/V7BB – SPHÈRE EXPRESS® (2,01g produs/10L vin)
- V8SB/V8BB – TRAP' METALS® (8,02g produs/10L vin)
- V9SB/V9BB – FRESH AROM® (3,01g produs/10L vin)
- V10SB/V10BB – OENOLESS® (4,02g produs/10L vin)
- V11SB/V11BB - OENOLESS® MP (3,01g produs/10L vin)
- V12SB/V12BB - POWERLEES® ROUGE (4,02g produs/10L vin)
- V13SB/V13BB – PROBE MARTOR.

Caracterizarea produselor oenologice utilizate la maturarea vinurilor albe și rosé:

Produsele care aparțin gamei BÂTONNAGE PLUS se administrează imediat după ce vinul a fost transvazat de pe depozitul grosier de levuri. Se realizează o agitare mecanică a recipientelor, astfel o omogenizare optimă în masa vinului asigură o eficacitate a produselor. Interacțiunile care se stabilesc între compușii vinului și componentele produselor din această gamă sunt favorizate de o perioadă mai lungă de contact cu levurile. Prin faptul că nu afectează turbiditatea vinului dețin cea mai bună proprietate, vinul rămâne limpede după parcurgerea etapei de maturare.

Din compoziția acestor produse fac parte pereții celulari de levuri pretratați, polizaharide levuriene, enzime pectolitice cu activitate β -glicozidazică ridicată și compuși azotați cu masă moleculară mică. Fiecare componentă acționează în mod diferit asupra vinurilor și exercită o acțiune sinergică. Pereții celulari de levuri au capacitatea de a acționa ca un agent de cleire și

au efect de limpezire. De asemenea, prin efectul de adsorbție pe care îl manifestă contribuie semnificativ la eliminarea conținutului de taninuri.

Polizaharidele levuriene prezintă capacitatea de a permite realizarea unei legături între taninurile agresive cu ceilalți constituenți ai vinului, legătură ce conferă o senzație gustativă mai amplă prin intensificarea fructuozității, prospețimii și a caracterelor cromatice pe o perioadă îndelungată de timp. Enzimele pectolitice cu activitate β -glicozidazică ridicată sunt implicate în stabilizarea compușilor de aromă și le asigură protecție împotriva oxidării (fenomen realizat prin capacitatea enzimelor de a crește potențialul redox).

Compușii azotați asigură protecție vinului în prezența oxigenului, prin capacitatea selectivă de a fixa oxigenul, astfel permit intensificarea senzațiilor olfactive și a caracteristicilor cromatice.

Produsele utilizate la realizarea experimentului au fost următoarele:

-BÂTONNAGE PLUS 20 KDA[®] – se obține prin degradarea complexă și în profunzime la temperatura de 40 °C a pereților celulari de levuri, astfel ajunge la o concentrație mai ridicată de aminoacizi și peptide cu sulf. Produsul deține capacitatea de a elibera din masa vinului cantități considerabile de peptide cu sulf și aminoacizi, suficiente pentru a asigura protecție antioxidantă și antioxidază vinurilor albe seci. Masa moleculară este medie, de 20 KDa, se utilizează în doze de 10÷40 g/hL și prezintă efecte diverse: îmbunătățirea caracteristicilor olfactive, prin amplificarea volumului de vin în cavitatea bucală, în același timp le sporește vinurilor caracterul reductiv printr-o accentuare la nivel olfactiv și gustativ a prospețimii și fructuozității, efect de limpezire și efect antioxidant;

-BÂTONNAGE PLUS 150 KDA[®] – produs obținut printr-o biotehnologie ce asigură extragerea polizaharidelor prin degradarea termoenzimatică a pereților celulari de levuri și integritatea macromoleculelor de polizaharide. Prezintă capacitatea de a pune în libertate o cantitate mai mare de polizaharide într-un timp relativ scurt în comparație cu cantitatea de polizaharide rezultată pe parcursul a două, trei luni de maturare a vinului pe sedimentul propriu de levuri. Are o masă moleculară de 150 KDa, se utilizează în doze de 10 ÷ 40 g/hL și prezintă următoarele efecte: efect antioxidant, prin evitarea tentelor oxidative cu nuanțe portocalii; efect de limpezire, efect senzorial manifestat prin sporirea senzațiilor olfactive și gustative a vinurilor albe, oferă complexitate și reduce senzațiile amare și astringente în cazul vinurilor roșii;

-BÂTONNAGE PLUS ÉLEVAGE[®] – produs rezultat prin degradarea termoenzimatică a pereților celulari de levuri. Compoziția sa este complexă, formată din levuri inactivate, manoproteine, peptide și aminoacizi cu proprietăți antioxidante. Se administrează în doze de 20÷60 g/hL la finalul fermentației alcoolice, în funcție de scopul urmărit de vinificator. Efectele pe care le manifestă în vin sunt următoarele: îmbunătățirea caracteristicilor olfactive și păstrarea aromelor varietale, intensificarea culorii vinurilor și oferirea unui echilibru gustativ, antioxidant (Croitoru C., 2008a, 2008b).

-BÂTONNAGE BODY[®] – reprezintă un derivat levurian cu conținut ridicat de manoproteine și proprietăți unice, pe care le manifestă în contact cu masa vinului: îmbunătățirea senzațiilor gustative prin creșterea intensității, persistenței aromatice și amplitudinii din cavitatea bucală. Produsul oenologic de maturare se administrează în doze de 10 ÷ 30 g/hL la vinurile albe și în doze de 10 ÷ 40 g/hL la vinurile roșii.

-SUPER-MANN® – produs levurian cu un conținut ridicat de manoproteine, ce sunt alcătuite din resturi de manoză legate de proteine. Sunt localizate în peretele celular al celulelor de levuri ce aparțin genului *Saccharomyces*, iar cele din specia *S. cerevisiae* au o masă moleculară cuprinsă între 20÷5000 KDa. În vinuri prezintă efect de stabilizare a aromelor, de stabilizare a culorii, în special în cazul vinurilor roșii, datorită interacțiunii manoproteinelor cu polifenolii prezenți în vinuri. Prezintă efect de stabilizare tartrică prin capacitatea de a se opune creșterii cristalelor de tartrați. În cazul vinurilor spumante, îmbunătățește calitatea perlaului prin interacțiunea CO₂ cu proteinele. Se administrează în doze de 10÷25 g/hL în vinurile albe și 10÷40 g/hL în vinurile roșii.

-SPHÈRE BLANC® – are în constituția sa levuri specifice inactivate, aminoacizi, vitamine și compuși minerali. Prin granulometria sa permite formarea unei suprafețe mari de contact între vin și compușii eliberați din levuri prin autoliză. Contribuie la amplificarea percepțiilor gustative și stabilizarea vinurilor, prin interacțiunile dintre polizaharide și compușii de aromă ai vinului. Se administrează în doze de 10÷20 g/hL.

-SPHÈRE EXPRESS® – produs ce conține levuri inactivate, aminoacizi, vitamine și compuși minerali, se administrează în doze de 5÷20 g/hL în vinuri. Are o contribuție semnificativă la îmbunătățirea caracteristicilor organoleptice ale vinurilor, prin amplificarea senzațiilor olfactive și gustative.

-TRAP' METALS® – are același conținut cu SPHÈRE EXPRESS® și în plus doi copolimeri PVI/PVP, astfel prezintă capacitatea de reducere a concentrației de fier din vinuri de la 25 % până la 50 %. Are efect de limpezire asupra vinurilor, efect antioxidant și contribuie la îmbunătățirea caracteristicilor organoleptice, intensificându-le în același timp. O altă acțiune cu importanță majoră pe care o are produsul la contactul cu vinul este scăderea riscului apariției fenomenului de „*pinking*” la vinurile albe, o problemă ce apare frecvent la vinurile cu conținut ridicat de polifenoli și vinificat în condiții reductive. Produsul se administrează în doze de 20÷80 g/hL.

-FRESHAROM® - reprezintă un produs oenologic, ce conține levuri inactivate ce asigură o protecție aromatică foarte bună vinurilor albe și rosé, plus peptide, aminoacizi și glutatone. Datorită compoziției sale unice, prezintă o serie de avantaje: ajută la creșterea conținutului de glutatone, asigură protecție aromatică vinurilor, prezintă efect antioxidant, astfel inhibă apariția fenomenului de brunificare a culorii vinurilor. Produsul se administrează în doze de 30 g/hL și conduce la obținerea unor vinuri cu un profil aromatic complex.

-OENOLESS® MP – reprezintă un extract din pereți celulari de levuri ce îmbogățește vinul cu polizaharide și peptide, obținute prin intermediul procesului de autoliză enzimatică a celulelor de levuri. Se administrează în doze de 10÷30 g/hL în vin și formează o ușoară turbiditate în momentul administrării, cu efect instant datorită faptului că este 100 % solubil în vin. La nivelul senzațiilor organoleptice din vinurile rosé și roșii creează un echilibru, prin reducerea astringenței și acidității.

-OENOLESS® - reprezintă un extract celular din pereții celulari levurieni și se utilizează cu scopul îndepărtării polifenolilor responsabili de vâscozitatea și gustul amar al vinurilor. Contribuie cu succes la eliminarea excesului de polifenoli și îmbunătățește considerabil senzațiile gustative, prin conținutul ridicat de peptide eliberate prin autoliză (Moine V., 2007).

Se administrează în vinurile albe, rosé și roșii, fiind recomandată omogenizarea sa foarte bine în masa vinului, printr-o agitare puternică a sedimentului de levuri format în vasele de maturare. -POWERLEES® ROUGE – este un produs ce are în compoziție o formulă specifică de levuri selecționate inactivate, bogate în enzime (β -glucanaze) și manoproteine. Sunt utilizate după fermentația alcoolică a mustului de struguri pentru ”finisajul” vinurilor. Administrarea produsului se realizează în doze de 15÷40 g/hL, urmat de o agitare energică în vasul de maturare, prezintă o distribuție rapidă în masa vinului, fiind special adaptat pentru o distribuție uniformă. Datorită compoziției sale, produsul asigură un efect de accelerare a extracției componentelor din pereții levurilor inactive, mai exact manoproteine ce oferă un plus de suplețe și finețe vinurilor. Facilitează extracția compușilor volatili cu potențial senzorial ridicat datorită peptidelor prezente în învelișurile celulare ale levurilor inactive, dar o parte din ele sunt formate și eliberate prin procesul de autoliză a levurilor. Are efect stabilizator dat de manoproteinele provenite din levuri și în același timp ușurează etapa de filtrare a vinurilor.

Batonajul vinurilor a fost realizat prin scoaterea dopului din fiecare damigeană de sticlă și introducerea unui dispozitiv ce produce o agitare puternică a levurilor situate în partea inferioară a damigenei pentru a le repune din nou în contact cu vinul. Dispozitivul de batonaj se aseamănă cu o tijă din lemn uscat și curat, agitarea a fost realizată la un interval de 2-3 zile, timp de 6 săptămâni.

Imediat după realizarea operației de *stirring*, vinurile au fost filtrare. Filtrarea a constat în separarea fazei lichide de faza solidă, depozitul de levuri. Filtrarea are ca obiectiv obținerea fazei lichide limpede, fără sedimentul format (reziduu) care exercită o influență negativă asupra stabilității vinului. Pentru operația de filtrare a fost utilizat un filtru cu plăci și material filtrant plăci de celuloză-azbest, ajustate între ramele filtrului. După fiecare damigeană filtrată, au fost schimbate plăcile.

Îmbutelierea probelor experimentale în butelii de sticlă de 0,75 L a reprezentat etapa finală din fluxul tehnologic.

4.2.2 Metode fizico-chimice folosite la determinarea principalilor parametri de compoziție

Caracteristicile fizico-chimice ale celor 26 de probe experimentale, 13 obținute din soiul Sauvignon blanc și 13 obținute din soiul Busuioacă de Bohotin au fost determinate la Centrul de Cercetări pentru Oenologie Iași, prin utilizarea unor metode recunoscute și acceptate de standardele de stat și internaționale impuse de Organizația Internațională a Viei și Vinului (OIV).

Probele obținute au fost supuse analizelor fizico-chimice, astfel s-au stabilit următoarele: conținutul în zaharuri reducătoare, aciditatea totală, aciditatea reală (pH-ul), concentrația alcoolică, aciditatea volatilă, extractul sec total, extractul nereducător, conținutul în acizii malic și lactic.

Determinarea zaharurilor reducătoare – a fost respectat standardul internațional, OIV-MA-AS311-01C și realizată prin metoda iodometrică de dozare Luff-Schoorl la cald, a excesului de ioni cuprici, în mediu alcalin. Se titrează oxidul cupros cu o soluție de tiosulfat de sodiu până ce proba se colorează în galben-muștar, iar conținutul de zaharuri reducătoare se

determină prin intermediul tabelelor și formulelor de calcul. Zaharurile reducătoare se exprimă în g/L.

Determinarea acidității totale – conform cu standardul OIV-MA-AS313-01 și a fost utilizată metoda titrimetrică. În prealabil, a fost efectuată decarbonatarea probei experimentale supusă analizei. Neutralizarea acizilor din vin cu o soluție de hidroxid de sodiu 0,1 N și albastru de bromtimol, a fost efectuată până la pH 7. Punctul de neutralizare a fost indicat de virarea culorii indicatorului de la galben-portocaliu la verde-albăstrui. Aciditatea totală se exprimă în g/L acid tartric.

Determinarea acidității reale (pH-ul) – s-a realizat prin metoda potențiometrică, cu ajutorul pH-metrului, respectând standardul OIV-MA-AS313-15. Principiul metodei constă în măsurarea diferenței de potențial ce apare între cei doi electrozi imersați în proba de vin supusă analizei. Un electrod are potențialul dependent de valoarea pH a probei analizate, iar celălalt electrod are potențialul fix și este electrodul de referință. Rezultatul final reprezintă rezultatul medii aritmetice a două determinări succesive. Între cele două determinări nu se permit diferențe mai mari de 0,1 unități de pH.

Determinarea concentrației alcoolice – conform cu standardul OIV-MA-AS312-01, astfel a fost realizată o distilare a fiecărei probe experimentale la Distilatorul extractor automat și s-a stabilit conținutul în alcool etilic al vinului la 20 °C, exprimat în procente de volum.

Determinarea acidității volatile – metoda constă în antrenarea cu vapori de apă a acizilor volatili și titrarea distilatului obținut cu hidroxid de sodiu 0,1N soluție, în prezența fenoftaleinei ca indicator. Se formează o colorație roz-pal care persistă timp de 10 secunde, iar rezultatele obținute se exprimă în g/L acid acetic. Metoda de determinare a acidității volatile este în conformitate cu standardul OIV-MA-AS313-02. Aciditatea volatilă este dată de totalitatea acizilor volatili care fac parte din seria acidului acetic și se găsesc în stare liberă, combinată sau sub formă de săruri în vin.

Extractul sec total – reprezintă totalitatea substanțelor nevolatile care le găsim dispersate în vin și apar prin evaporarea probei de vin la temperatura de fierbere a apei. Metoda densimetrică s-a utilizat la determinarea extractului sec total, calculat prin formula Tabarié și exprimarea rezultatelor s-a realizat în g/L.

Extractul nereducător – reprezintă diferența dintre extractul sec total și conținutul total de zaharuri în g/L.

Determinările extractului sec total și a extractului nereducător au fost realizate în conformitate cu standardul OIV-MA-AS2-03A.

Determinarea conținutului de acid malic total – a fost utilizată metoda dată de standardul internațional OIV-MA-AS313-10. Mai întâi are loc separarea acidului malic printr-o coloană de schimb de anioni, apoi urmează determinarea colorimetrică prin măsurarea colorației galbene formate în prezența H₂SO₄ concentrat și adăugarea acidului cromotropic. Urmează o corecție a substanțelor interferente prin substragerea absorbantei rezultate după folosirea acidului sulfuric de concentrație 86 % și a acidului cromotropic (acidul malic nu reacționează la concentrațiile acizilor), din absorbanta obținută prin utilizarea concentrației de 96 % a acizilor. Conținutul total de acid malic se determină în mai multe etape, care se desfășoară astfel: pregătirea și activarea rășinii schimbătoare de ioni, pregătirea coloanei

schimbătoare de anioni, desfacerea acidului DL – malic, urmează dozarea acidului malic, trasarea curbei de calibrare și calculul rezultatelor.

Rezultatul final al acidului malic este dat de trasarea absorbantei pe graficul de calibrare și obținerea conținutului de acid DL – malic în g/L, exprimat cu o zecimală.

Analizarea și cuantificarea conținutului de acid lactic – s-a realizat în conformitate cu metoda OIV-MA-AS313-06 de determinare a acidului lactic. Metoda constă în separarea acidului lactic prin parcurgerea unei rășini schimbătoare de ioni, eluat și oxidat până la acetaldehidă prin oxidarea cu sulfat de ceriu. Acetaldehida (etanalul) reacționează cu piperidina și nitroprusiatul de sodiu, astfel se formează un compus de colorație violetă și acidul lactic se determină prin utilizarea unui spectrocolorimetru. Etapele care conduc la determinarea acidului lactic sunt: pregătirea coloanei schimbătoare de anioni, desfacerea acizilor din vin, dozarea acidului lactic, realizarea curbei de etalonare, calcularea și corecția rezultatelor (Van Den Driessche S., Thys L., 1982).

Prin raportarea absorbantei probei de vin la curba de etalonare se determină conținutul vinului în acid lactic și se exprimă în g/L, cu o singură zecimală (Țârdea C., 2007).

Determinarea parametrilor cromatici – senzația percepută la nivel vizual a uneia sau mai multor frecvențe de lumină (lungimi de undă) din refracția sau reflexia luminii pe suprafața obiectelor reprezintă culoarea.

Culoarea este lumină, o noțiune perceptivă și este dependentă de tipul de lumină, stimularea luminoasă sau iluminată ce nu trebuie confundată cu lungimea de undă, noțiune fizică. Capacitatea ochiului uman este limitată, fiind incapabil să distingă între galbenul monocromatic (lumină cu o singură lungime de undă) și o compoziție de roșu și verde. Fenomenul acesta poartă numele de iluzie optică, ce permite afișarea culorii galbene pe ecranul monitorului prin intermediul componentelor elementare verde și roșu, mai exact sinteza tricromă RGB. Lumina este foarte variabilă și într-o oarecare măsură la fel și culoarea.

Culoarea vinului este una dintre cele mai importante caracteristici vizuale percepute la nivelul globului ocular. Aceasta oferă o cantitate mare de informații relevante despre vin. Vinul absoarbe doar o parte din radiațiile luminii care se propagă și reflectă altă culoare, ce ajunge ulterior la ochii privitorului, făcându-l să experimenteze senzația de culoare. Un exemplu relevant este senzația de vin roșu foarte închis, datorată în întregime faptului că radiația incidentă este absorbită de vin.

Determinarea caracteristicilor cromatice conform C.I.E. Lab. – Resolution OENO 1/2006 prin metoda spectofotometrică, este utilizat pentru a defini procesul de măsurare și de calculare a caracteristicilor cromatice ale vinurilor, băuturilor alcoolice și non-alcoolice, derivate din componentele tricromatice: X, Y și Z, în conformitate cu Comisia Internațională de l'Eclairage (CIELab, 1976).

În mod standard se determină culoarea vinului, prin ridicarea spectrelor VIS de transmitanță sau reflectanță cu cuve de 1 mm, 2 mm sau 10 mm grosime. Cuvele de un 1 mm sunt utilizate pentru probele de vin alb sau rosé.

Parametrii cromatici ai probelor experimentale de vin, obținute din soiurile Sauvignon blanc și Busuioacă de Bohotin au fost prelucrate și stabilite prin efectuarea de calcule, în funcție de spectrul de absorbție înregistrat de fiecare probă în parte, conform metodelor CIELab 76.

Spectrele au fost ulterior prelucrate cu un program realizat și implementat de colectivul Centrului de Cercetări pentru Oenologie (CCO), Academia Română, Filiala Iași, cu scopul obținerii valorilor parametrilor cromatici ai vinurilor supuse analizei spectrofotometrice: L (luminozitatea), C (saturația), H (nuanța), a, b și I (intensitatea).

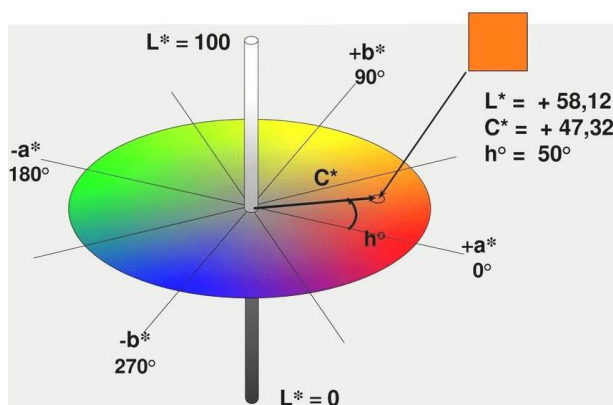


Figura 4.1 Diagrama de cromaticitate în sistemul CIE, a*, b* (www.researchgate.net)

Figure 4.1 Chromaticity Diagram in CIE, a*, b* (www.researchgate.net)

În spațiul numit solidul culorilor CIELab 76, culoarea este perfect determinată de parametrii cartezieni (L^* , a^* , b^*) sau cilindrici (L^* , C^* , H°) (Figura 4.2). Culoarea vinurilor, fie alb, rosé sau roșu poate fi reprezentată grafic într-un sistem cartezian ortogonal cu parametri cromatici enumerați anterior, sistem cu axe reprezentate de parametrii cromatici L^* , a^* , b^* .

Luminozitatea **L**, cunoscută și sub numele de claritate psihometrică, caracterizează axul vizual mai mult sau mai puțin "strălucitor" al culorii vinului; luminozitatea are posibilitatea să aibă valorile cuprinse între zero, pentru un model negru-opac, și până la 100, pentru modele incolore transparente.

Parametrul **a** reprezintă coordonata culorilor complementare roșu-verde; acest parametru înregistrează valori negative la vinurile albe, unde tonalitățile verzi sunt preponderente față de cele roșii și valorile pozitive la vinurile roșii.

Parametrul **b** reprezintă coordonata culorilor complementare galben-albastru, la vinurile în mod curent aceste valori sunt pozitive, astfel încât nuanțele galbene sunt dominante față de nuanțele albastre.

Cu privire la parametri cromatici **H** (nuanța) și **C** (saturația culorii), de menționat faptul că ei rezultă din transformarea coordonatelor ortogonale carteziene **a** și **b** în coordonate polare **C** și **H**; coordonata **L** este singura ce rămâne neschimbată în ambele sisteme de reprezentare.

Spectrofotometrul rămâne conectat la un program de calculator pe parcursul determinărilor pentru a facilita calcularea coordonatelor colorimetrice (L^* , a^* și b^*) și a magnitudinilor derivate a lor (C^* și H^*), prin utilizarea unor algoritmi matematici corespunzători.

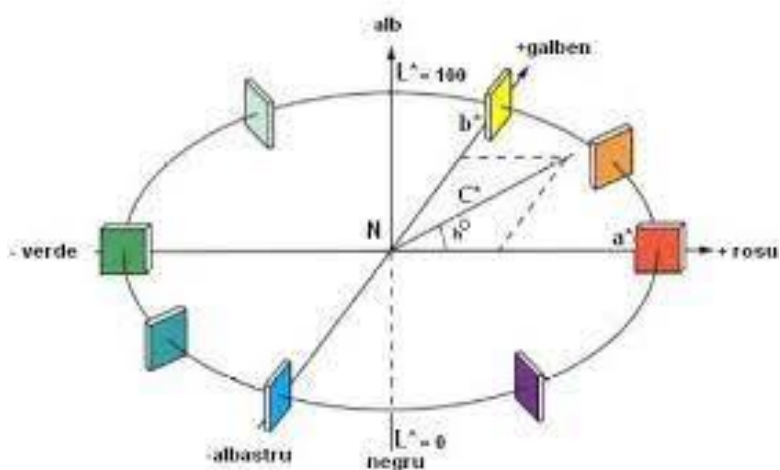


Figura 4.2 – Coordonatele rectangulare și cilindrice ale spațiului CIELab (www.tex.tuiasi.ro)

Figure 4.2 – Rectangular and cylindrical coordinates of CIELab space
(www.tex.tuiasi.ro)

Axa luminozității L^* este perpendiculară pe axa a^* (verde/roșu) și b^* (albastru/galben) în planul a^*b^* , se întinde de la domeniul negru ($L^* = 0$ – ideal) trecând prin punctul neutru gri (N), acromatic, până ajunge la albul ideal ($L^* = 100$). C^* (croma) reprezintă distanța de la L^* pe axa centrală. Valoarea lui C^* este zero la centru și crește cu distanța de la centru. Gradul de saturație al culorii este indicat de distanța din punctul considerat prin raportare la punctul acromatic. Punctele ce sunt situate pe o linie ce se intersectează cu un punct de pe axa acromatică prezintă aceeași nuanță. Unghiul h° alcătuit în sens invers acelor de ceasornic de linia ce reprezintă C^* cu axa a^* este o măsură a tipului de nuanță.

Simularea culorii probelor de vin luate în studiu – pentru simularea culorii fiecărei probe de vin a fost utilizat programul Digital Colour Atlas 3.0 Demo. Programul este reprezentat de un software profesional, ce asigură compararea și echilibrarea tonurilor de culoare din peste 150 de sisteme de culoare cu o bază de calcul a valorilor măsurătorilor spectrofotometrice pentru fiecare culoare în parte.

În cazul probelor experimentale au fost luați în vedere trei parametri cromatici: L^* , a^* și b^* . Prin introducerea acestor parametri în programul Digital Colour Atlas 3.0 Demo s-a obținut valorile parametrilor de culoare pentru modelul cromatic RGB (roșu-galben-albastru), ce au permis ulterior simularea culorii probelor experimentale studiate (Wardam R. H., 1994).

4.2.3 Metode folosite la identificarea și cuantificarea aminelor biogene și a aminoacizilor

Aminoacizi sunt compuși cu azot, ce provin din surse diferite. Cei aflați în compoziția strugurilor sunt de origine indigenă și pot fi metabolizați parțial sau total de levuri pe parcursul fazei de fermentație alcoolică; unii sunt eliminați de levuri sau sunt eliberați prin etapa de proteoliză în cursul autolizei levurilor, alți sunt produși din struguri, prin degradarea enzimatică a proteinelor. După cum bine se știe, aminoacizii prezenți în struguri depind de condițiile

climatice și de fertilizare, dar și de durata etapei de macerare a pielitelor bachelor de struguri în must.

Instrumente utilizate – Determinarea și cuantificarea aminoacizilor și aminelor biogene se realizează prin folosirea unui sistem cromatografic de tip UltiMate™ 3000 UHPLC (Thermo Scientific™, Waltham, Massachusetts, USA), prevăzut cu un sistem de pompe alcătuit din 2 pompe: prima e cuaternară de tip UltiMate™ 3000, cu o presiune de 1000bar, iar cea de a doua pompă e binară de tip UltiMate™ LPG-3400RS, tot cu o presiune de 1000bar; compartiment termostatat al coloanei de tip UltiMate™ TCC-3000RS, sistem de autoinjectarea a probelor de tip PAL LX, ce permite analiza aminelor biogene și a aminoacizilor la o temperatură de maxim 110 °C, în plus sistemul mai este dotat cu o structură de valve interschimbabilă (VIM).

În vederea divizării compușilor din probele experimentale a fost utilizată precum suport o coloană de tip Kinetex C18, cu un diametru intern de 2,1 mm, particular de 1,7 μm și o lungime de 150 mm. Detecția compușilor a fost realizată prin intermediul unui spectrometru de masă de tip TSQ Quantum Access Mac, cu tehnologie tripluquadropol.

Prelucrarea și interpretarea compușilor a fost efectuată cu programul software Xcalibur, care a permis evaluarea ariilor și determinarea concentrațiilor fiecărui compus identificat în probele de vin.

Substanțe și reactivi utilizați – Pentru cuantificarea aminoacizilor din probele experimentale supuse analizei, au fost folosite standarde de lucru omologate pentru următorii compuși chimici: L-alanină, L-glicină, L-leucină, L-valină, L-izoleucină, L-serină, L-metionină, L-treonină, L-cistină, L-prolină, trans-4-hidroxi-L-prolină, L-glutamină, L-asparagină, L-fenilalanină, L-lizină clorhidrat, L-tirozină, L-triptofan, L-histidină monohidrat clorhidrat, L-arginină clorhidrat, L-arginină clorhidrat, acid L-glutamic, acid L-aspartic.

Substanțele au fost achiziționate de la firma Sigma-Aldrich din SUA, cu o puritate de 98 %. Acidul heptfluorobutiric și metanolul au fost furnizate de firma Merck KgaA Germania, cu o puritate LC-MS corespunzătoare.

Condițiile cromatografice – Separarea aminoacizilor și aminelor biogene a fost realizată în următoarele condiții: trecerea printr-o fază mobilă formată din două soluții care au eluat în mod gradient. Faza mobilă A (FMA) este formată dintr-un amestec de 0,1 % acid heptafluoroaminobutiric în apă și faza mobilă B (FMB) este formată dintr-o concentrație de 0,1 % acid heptafluoroaminobutiric în metanol. Pe parcursul identificării aminoacizilor incluși în analiză s-a produs variația concentrațiilor celor două faze mobile, eluția a fost de tip gradient. Mai exact, programul de eluție a început cu utilizarea unui amestec FMA și FMB (85:15 % V/V) timp de doar 2 minute, iar ulterior timp de 3 minute s-a realizat modificarea concentrației FMA la 73 % (V/V) și respectiv 27 % FMB, program ce a continuat timp de încă 4 minute până la obținerea unui amestec egal FMA:FMB, 50%:50% (V/V), iar în continuare programul a lucrat în mod izocratic timp de 2 minute. A urmat reechilibrarea coloanei la condițiile inițiale de lucru în 3,5 minute.



Figura 4.3 – Sistem cromatografic de tip UltiMate™ 3000 UHPLC (original)
Figure 4.3 – UltiMate™ 3000 UHPLC system chromatographic (original)

A fost posibilă identificarea aminoacizilor și aminelor biogene conform spectrelor prin utilizarea unei surse de tip ionizare, electrospray pentru spectrometrul de masă, dar și o celulă de coliziune ce a permis identificarea unui ion precursor a fiecărui compus, plus un fragment caracteristic. În aceste condiții, potențialul de ionizare a fost 3kV, presiunea gazului auxiliar a fost de 10psi și a gazului de nebulizare de 35psi, temperatura sursei de ionizare de 350 °C. Tubul capilar de focalizare a fasciculului de ioni a fost de 35V și polarizarea pozitivă.

Cu privire la optimizarea condițiilor de separare s-au utilizat numeroase variații ale fazei mobile, de la o concentrație în acid heptafluorobutiric mai scăzută în amestec cu acid formic, plus utilizarea unor solvenți organici cu tărie elutropică diferită.

În final s-a realizat distribuția compușilor după următorul program de timpi de retenție (Tabelul 4.1). Pentru fiecare compus, pe domeniul de liniaritate cuprins între 2,0 μg/mL și 40 μg/mL au fost obținute domeniile de liniaritate și coeficienții de corelație între aria compușilor, aferente concentrațiilor introduse la începutul analizei.

4.2.4 Analiza senzorială a probelor experimentale

Vinul este un obiect de artă pentru mulți producători de vin și pasionați, deși se găsește în formă lichidă. Atenția este acordată detaliilor, în descoperirea individualității, menținerea caracteristicilor primite de la soare, sol, butuc, altoi, portaltoi și culminează în momentul în care este turnat în pahar, învârtit, sorbit, savurat și înghițit cu scopul de a analiza, descrie percepțiile și a rămâne în memoria degustătorului.

Analiza senzorială a vinurilor reprezintă una dintre cele mai elegante plăceri ale vieții, drept urmare procesul necesită o atenție aparte. Degustătorii de vinuri experimentați urmează etapele de degustare și folosesc o terminologie specializată pentru a descrie gama de arome olfactive și gustative percepute, plus alte caracteristici ale unui vin. Este esențial pentru realizarea unei degustări precise să se țină cont de anumite etape, deoarece degustarea precisă are ca scop compararea unuia sau a mai multor vinuri cu un standard real sau teoretic.

Pe parcursul acestui scurt interludiu dintre alfa și omega vinului, consumatorul este expus unui spectru fascinant de senzații. Prin perceperea senzațiilor, degustătorul primește informații cu privire la proveniența vinurilor, stilul de vinificație, originea varietală, vârsta, complexitatea și locul unde se situează pe treptele de calitate. Chiar dacă majoritatea vinurilor nu necesită și nu beneficiază de un control riguros, important de menționat este faptul că vinurile echilibrate, fine și complexe compensează eforturile și munca oenologului. Degustătorul nu poate intui niciodată cu precizie ce se află într-un pahar, de aceea fragmentarea unor pași dintr-o degustare formală sau omiterea unei etape prezintă riscul identificării unor caracteristici sau percepției unor senzații senzoriale ce pot fi cuantificate și păstrate în memoria senzorială.

Cu privire la tehnica de degustare, nici una nu este universal valabilă. Caracteristicile cele mai importante ale unui bun degustător sunt voința, dorința și abilitatea acestuia de a acorda atenția necesară și a se concentra asupra caracteristicilor vinului. Specialiștii sunt de părere că e foarte important înainte de o degustare clătirea gurii cu vin, pentru a familiariza simțurile cu caracteristicile vinurilor ce urmează a fi degustate. Nu este indicat clătirea gurii între vinuri cu apă, deoarece apa influențează și alterează sensibilitatea, astfel percepția senzațiilor gustative și compararea vinurilor devine complicată (Peynaud E., 1987).

Evaluarea senzorială este definită ca o metodă științifică pentru a sugera, măsura, analiza și interpreta răspunsurile la produsele percepute prin intermediul receptorilor vizuali, olfactivi, gustativi, tactili și auditivi (Stone H., 2004).

Mirosul și gustul unui vin sunt asociate în mod direct cu chimia procesului de vinificație. Prin aromă, se înțelege o combinație între miros și gust. Când se realizează evaluarea senzorială a caracteristicilor unui vin, se utilizează termenul *degustare*, care indică faptul că este analizată aroma vinului. Din struguri, mustul de struguri, fermentarea mustului și ulterior procesul de maturare, etapa de învechire a vinului provin compușii responsabili de aroma vinului (Clarke R. J., 2004).

Vinurile sunt degustate din pahare transparente, în formă de leale, cu picior, excepția o constituie vinurile efervescente, care sunt evaluate mai bine din pahare subțiri și înalte, care facilitează observarea efervescenței și perlarea vinului. La degustare se utilizează pahare identice și umplute până la același nivel, aproximativ un sfert până la o treime din pahar. Se consideră că un volum de 30-50 mL este suficient, pentru a facilita menținerea vinului într-o poziție înclinată (pentru a observa mai bine culoarea, limpezimea) și rotirea energetică (cu scopul intensificării aromelor).

Într-o primă etapă se vor analiza senzațiile vizuale ale vinurilor și se vor aprecia caracteristici precum: culoarea vinului, limpiditatea, vâscozitatea, efervescența (în cazul vinurilor spumante). Pentru a îmbunătăți transmisia luminii, probele de vin vor fi analizate la un unghi de 30÷45 °C pe un fundal alb.

Percepția culorii este complexă. Implică intrările directe de la conurile individuale și integrarea lor. Cunoașterea culorilor implică integrarea impulsurilor de la conurile L (minus cele din conurile M și S adiacente) și conurile S (minus cele din conurile L și M adiacente). În plus implică informații de la receptori cu privire la intensitatea luminii și contrastul dintre regiunile colorate.

Detectarea luminozității se bazează pe suma răspunsurilor primite de la cele trei conuri, iar nuanța provine din substrucție și strălucire. Deci, nu s-a stabilit nici o relație simplă între măsurătorile spectrofotometrice și percepția culorii umane.

Culoarea influențează mult perceperea calității și perceperea gustului. Analiza culorii vinului are în vedere două caracteristici importante: nuanța și intensitatea. Cele două aspecte oferă indici cu privire la: maturitatea strugurilor, tipul de macerare, tipul de fermentație, perioada de maturare a vinurilor (Jackson R.S., 2020).

Vâscozitatea vinului reprezintă caracteristica referitoare la rezistența vinului la curgere. Este influențată de conținutul vinului în glicerol, zaharuri și alcool. Diferențele sunt mai evidente la vinurile de tip desert sau vinurile cu un conținut alcoolic ridicat. Lacrimile care apar pe pereții paharului și curg după învârtirea acestuia reprezintă un indicator brut al conținutului de alcool al vinului.

Evaluarea olfactivă reprezintă singura formă prin care simțurile umane sunt expuse la aromele cele mai volatile ale vinului. Organul de simț responsabil de percepția aromelor este nasul și comparativ cu gustul prezintă o sensibilitate mult mai ridicată.

Senzațiile olfactive transmise de vin sunt recepționate de către degustător, cu o atenție ce implică următoarele etape tehnice, astfel se realizează o analiză olfactivă corespunzătoare:

- fiecare probă de vin impune mirosirea la gura paharului, înainte de învârtirea acesteia în pahar;
- recepționarea și înregistrarea naturii parfumului și intensității aromelor;
- rotirea paharului pentru a ușura eliberarea constituenților aromatici din proba de vin;
- mirositul vinului la gura paharului și mai profund în interiorul paharului;
- analiza amănunțită a fiecărei arome percepute și înregistrarea ei în memoria olfactivă.

Aroma vinului este analizată și corelată cu atribute precum: intensitatea, calitatea și atributele temporale. Intensitatea aromei se raportează la amplitudinea ei, calitatea la modul de descriere a aromei cu clase vegetale (flori, fructe, legume) și asociate cu diferite experiențe aromatice (miros de trandafir, de mere, de căpșuni, de ardei gras, de trufe) sau răspunsuri emoționale (rafinat, subtil, parfumat, intens, prăfos, metalic). Atributele temporale se referă la modificările pe care le suferă aroma din punct de vedere a intensității cromatice și a calității.

Percepțiile gustative și simțurile înregistrate la nivelul cavității bucale sunt rezultate din două seturi de chemoreceptori. Gustul este asociat cu receptori primari specializați, ce se găsesc pe papilele gustative și pe limbă. Aceștia generează cinci senzații gustative: dulce, amar, acru, sărat și umami. Prin activitatea terminațiilor nervoase libere apar senzațiile de vâscozitate, astringență, uscăciune, răceală, căldură, înțepături și durere. Senzațiile texturale sunt generate de cristalele de sare sau de sedimentele prezente în proba de vin, dar poate fi asociat și cu impactul bulelor unui vin spumant asupra papilelor gustative ca aspect textural.

Receptori gustativi se găsesc pe limbă, dar pot apărea și pe palatul moale, faringe, laringe, câteva porțiuni din esofag, chiar și în stomac. Pe limbă apar pe papilele gustative. Studiile au demonstrat că receptori ce prezintă o sensibilitate asemănătoare sunt grupați în

papile gustative. Impulsurile lor se reunesc în regiuni specifice ale cortexului gustativ, excepție fac receptorii gustului sărat.

Analiza gustativă a vinului presupune îndeplinirea următorilor pași: mai întâi se ia în gură o cantitate mică de vin, 6-10 mL, apoi se plimbă în gură pentru a acoperi toate suprafețele limbii, obrajilor și cerului gurii pentru a simți cele patru gusturi, a reține unde sunt percepute, care e detectat primul, durata de percepție și cum își schimbă intensitatea, percepția. Trebuie acordată atenție senzațiilor tactile: astringent, înțepător, căldură, corp al vinului, astfel se realizează o înregistrare a acestor senzații și cum se combină una cu cealaltă.

Identificarea acestor senzații prezintă o dependență la diferențele de intensitate, precum și la numărul acestora, în timp ce persistența indică intensitatea maximă percepută de către degustător.

Post-gustul reprezintă totalitatea senzațiilor rămase la nivelul cavității bucale după înghițirea probei de vin și durata lor. Degustătorii acordă atenție sporită senzațiilor olfactive și gustative percepute, care au rămas la finalul degustării, observând durata acestora, astfel se realizează o apreciere în ansamblu a vinului. Se poate face și o evaluare a potențialului, adică posibilitatea unui vin de a deveni mai bun cu trecerea timpului, evaluare ce este în concordanță cu cunoștințele și experiența degustătorului.

La final se realizează o evaluare generală, astfel este definită calitatea vinului, ce implică aspecte cu privire la zona și regiunea de cultivare, soiul de struguri din care a fost obținut, dar și durata, dezvoltarea și complexitatea aromelor, intensitatea, persistența senzațiilor olfactive și gustative, de aprecierea echilibrului și de acuitatea perceptivă a degustătorului (Amerine A., 1983).

4.2.5 Analiza statistică a probelor experimentale

Analiza de varianță (dispersională sau ANOVA) este utilizată pentru testarea ipotezei egalității mediilor pentru două sau mai multe probe p, adică a provenienței din aceeași populație sau din populații care nu diferă semnificativ.

Testul ANOVA permite o comparație între două sau mai multe grupuri în același timp pentru a putea determina ce tip de relație există între ele. Rezultatul testului ANOVA se numește statistica F și permite efectuarea analizei mai multor grupuri de date, astfel se determină variabilitatea în cadrul eșantioanelor și între mediile eșantioanelor.

Pentru a determina diferențe semnificative din punct de vedere statistic între populațiile analizate se formulează două ipoteze: ipoteza nulă și ipoteza alternativă. Ipoteza nulă trebuie testată, astfel există presupunerea că ipoteza nulă ar fi cea adevărată, iar ipoteza alternativă este cea care contrazice ipoteza nulă într-un fel sau altul, drept urmare se numește și ipoteza de lucru.

Analiza de corelație studiază legea medie de comportare a fiecărei variabile în funcție de valorile celeilalte variabile, dar și măsurarea dependenței existente între variabilele considerate.

Corelația reprezintă termenul ce se referă la puterea unei relații dintre două variabile în care o corelație mare semnifică că două sau mai multe variabile au o conexiune puternică una cu cealaltă, în timp ce o corelație mică semnifică faptul că variabilele sunt lipsite aproape de legătură. Matricea de corelație este o metodă statistică ce arată relația dintre două sau mai multe variabile și relația dintre mișcările lor. Ajută la definirea relației și dependenței dintre variabile.

Coeficientul de corelație Pearson este tipul de coeficient de corelație ce reprezintă relația dintre două variabile, care sunt măsurate pe aceeași scală de raport sau pe același interval. Acest coeficient măsoară puterea relației dintre cele două variabile continue. Coeficientul Pearson r are o plajă de valori situată între -1 și $+1$, care indică intensitatea relației existente între variabile, cu mențiunea că semnul ($-$ sau $+$) oferă indicații cu privire la intensitatea relației. În cazul aplicării coeficientului Pearson r există trei situații:

- -1 reprezintă situația în care corelația este perfect negativă;
- 0 corelație nulă;
- $+1$ reprezintă situația în care corelația este perfect pozitivă.

Analiza discriminantă liniară (ADL) reprezintă o generalizare a discriminantei Fisher liniar. ADL este strâns legată de analiza de regresie și de analiza varianței (ANOVA) și exprimă variabila dependentă cu o combinație liniară de alte măsuri sau caracteristici. Această analiză folosește variabile independente continue pentru a explica o variabilă dependentă calitativă.

Analiza componentelor principale (PCA) reprezintă o analiză statistică utilizată pentru a identifica un număr mic de variabile cunoscute dintr-un set mare de date, necorelate ca și componente principale. Se utilizează ca instrument în analiza datelor exploratorii și în modelele predictive și a fost inventată în 1901 de Karl Pearson.

Analiza de cluster, cunoscută și sub numele de analiza de taxonomie sau de segmentare are ca scop identificarea unui set de grupuri omogene prin gruparea elementelor, astfel poate minimiza variația în cadrul grupe și poate maximiza variația în cadrul grupe. Deci, analiza de cluster este o tehnică multivariată ce cuprinde un număr de algoritmi de clasificare a unor obiecte în grupuri omogene. Această analiză este cea mai utilizată tehnică statistică, prin care se poate realiza gruparea diferitelor unități datorită caracteristicilor comune.

CAPITOLUL 5 REZULTATE ȘI DISCUȚII

CHAPTER 5 RESULTS AND DISCUSSIONS

5.1 Cuantificarea parametrilor fizico-chimici ai vinurilor obținute prin utilizarea unor produse oenologice de maturare

Vinul reprezintă una dintre cele mai complexe și interesante matrici, iar parametrii fizico-chimici ai acestuia îl definesc. Ei sunt importanți în vederea realizării unei evaluări preliminare și pentru încadrarea lui în anumite categorii de calitate.

Maturarea vinurilor pe levuri implică menținerea vinurilor în contact cu celulele de levuri moarte timp de câteva luni/câțiva ani. Prin această etapă se realizează transferul compușilor chimici între celulele moarte de levuri și vin.

Efectul maturării pe levuri a fost studiat pe 26 de probe experimentale obținute folosind 12 produse comerciale de maturare, din soiurile Sauvignon Blanc și Busuioacă de Bohotin, în podgoria Iași-Copou.

Maturarea pe levuri este utilizată în producția de vinuri deoarece contribuie la îmbunătățirea calităților fizico-chimice și senzoriale ale vinurilor, datorită eliberării din pereții celulari de levuri a diversilor compuși prin autoliză. Cu toate acestea, autoliza este un proces lent și complex, ce implică și o serie de modificări microbiologice, care pot afecta calitatea finală a vinurilor (Andújar Ortíz I., ș.a., 2009).

În tabelul 5.1 sunt prezentate principalele caracteristici compoziționale ale probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc după aproximativ două luni de maturare pe levuri în damigene de sticlă. Imediat după filtrarea vinurilor și transferarea lor în butelii de sticlă de 0,75L au fost prelevate probe și supuse analizelor fizico-chimice, conform metodelor impuse de O.I.V. în cadrul Laboratorului pentru Oenologie.

În zonele cu climat temperat continental, concentrația alcoolică (conținutul în alcool) a vinurilor depinde în mod direct de gradul de maturitate a strugurilor, mai ales de conținutul în zaharuri existent în boabele de struguri. Concentrația alcoolică depinde de condițiile naturale ale podgoriei, condițiile climatice din anul respectiv, de starea de sănătate a strugurilor (Ribéreau-Gayon P. ș.a., 2006).

Pe parcursul maturării pe levuri în damigene de sticlă, concentrația alcoolică a vinurilor a scăzut puțin, din cauza unui proces de combinare a alcoolului etilic cu alți compuși chimici și s-au format acetali, esteri.

Conținutul de etanol reprezintă rezultatul procesului de fermentație alcoolică, prin conversia monozaharidelor din must (glucoză și fructoză, în special glucoză) în etanol și dioxid de carbon, astfel apar o serie de modificări cantitative și calitative la nivel compozițional în probele experimentale (Moreno J., Peinado R., 2012). Analiza arată o variație a concentrației alcoolice între 13 % vol. alcool și 13,4 % vol. alcool. Din datele inserate în graficul din figura 5.1 observăm că după procesul de maturare pe levuri nu s-au înregistrat diferențe mari ale concentrației alcoolice între probele experimentale și nici creșteri considerabile în raport cu proba martor (V13SB). În cazul probelor V8SB, V7SB, V9SB, V10SB s-au înregistrat scăderi foarte mici ale concentrației alcoolice, fapt ce relevă o influență scăzută a produselor de maturare utilizate.

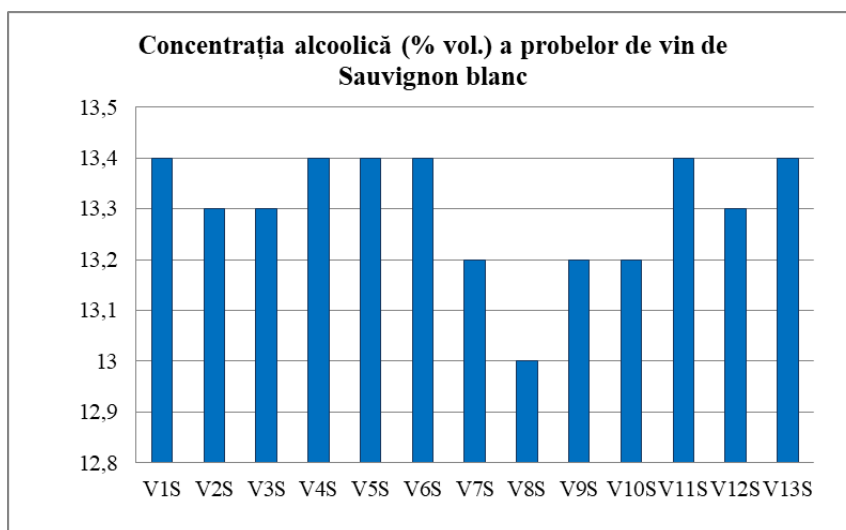


Figura 5.1 – Valorile concentrației alcoolice a vinurilor de Sauvignon blanc 2020

Figure 5.1 – Alcoholic strengths of Sauvignon Blanc wines obtained in 2020

În graficul din figura 5.2, în cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin nu s-au înregistrat creșteri în raport cu proba martor (V13BB), care prezintă 14 % vol. alcool. La probele V6BB, V9BB și V1BB s-au înregistrat scăderi foarte mici ale concentrației alcoolice.

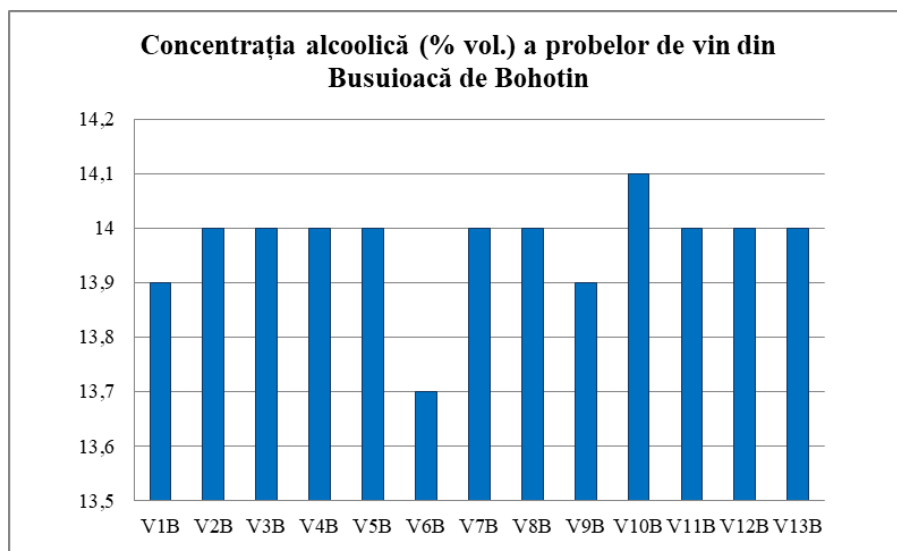


Figura 5.2 – Valorile concentrației alcoolice a vinurilor de Busuioacă de Bohotin 2020

Figure 5.2 – Alcoholic strengths of Busuioaca de Bohotin wines obtained in 2020

Deci, în urma etapei de maturare pe levuri și a produselor oenologice utilizate, s-a constatat faptul că produsele, indiferent de doza aplicată și de compoziția lor chimică, nu produc schimbări majore în ceea ce privește conținutul în alcool etilic al vinurilor, mai ales având în

vedere faptul că sunt administrate după procesul de fermentație alcoolică a mustului de struguri din ambele soiuri luate în studiu.

Acizii sunt parte din structura esențială a vinului. Ei conferă fructuozitate și prospețime vinurilor albe, vivacitate vinurilor roșii. Alcoolii și acizi sunt principali agenți de conservare ai vinurilor. În vin se găsesc acizi proveniți din struguri în mare parte, dar o mică parte se formează pe parcursul fermentației alcoolice a mustului (Țârdea C., 2010).

Termenul aciditate se referă la prezența acizilor în compoziția chimică a vinului. Acizii în vin se găsesc fie în stare liberă, fie sub formă de săruri și pot fi de natură anorganică și organică. În acest sens trebuie să existe o diferențiere clară între termenii oenologici de aciditate volatilă, aciditate reală (pH) și aciditate totală, astfel se înțeleg mai bine efectele acestor parametri asupra caracteristicilor organoleptice ale vinurilor.

Aciditatea totală, cunoscută și sub numele de aciditate titrabilă este dată de prezența în vin a acizilor anorganici, acizilor organici și a aminoacizilor. În comparație cu mustul din care se formează, vinul poate fi mai acid sau mai puțin acid ca acesta, în funcție de totalitatea acizilor ce sunt formați în procesul de fermentație alcoolică și poate fi egală sau nu cu aciditatea pierdută prin fenomenul de precipitare a sărurilor tartrice (Cotea V. D., 1985).

Senzația fiziologică acidă a vinului este conferită de ionii liberi de hidroniu rezultați în urma fenomenului de disociere a acizilor și a sărurilor acide. Capacitatea tampon a vinului reprezintă o barieră de protecție în fața acțiunii de neutralizare exercitată de alcalinitatea salivei, drept urmare senzația acidă persistă în cavitatea bucală în momentul degustării unei probe de vin (Țârdea C., 2010).

Aciditatea totală prezintă o influență majoră asupra caracteristicilor organoleptice ale vinurilor. Aciditatea conferă vinurilor o senzație de prospețime, cu privire la vinurile cu rest de zahăr, o valoare mare a acidității face foarte plăcută dulceața lor. Atunci când aciditatea înregistrează valori scăzute, vinurile sunt plate, iar când înregistrează valori ridicate, vinurile prezintă o duritate, acestea capătă o acrială, fiind neplăcute la nivel gustativ, fapt pentru care nu sunt destinate consumului, excepție fac vinurile cu rest de zahăr, unde gustul acid este atenuat de gustul dulce (Cotea V. D., 1985).

Procesul de fermentație alcoolică este influențat de acizii prezenți în struguri, ce trec în must și inhibă evoluția microorganismelor nedorite, astfel contribuie la desfășurarea în bune condiții a procesului biologic de transformare a zaharurilor în alcool etilic. În plus, este bine cunoscut faptul că acizi sunt implicați în diferite reacții, cum ar fi reacția de esterificare cu alcoolii, ce duc la formarea de compuși noi, cum ar fi esteri, cu un rol important în caracterizarea vinurilor din punct de vedere aromatic. Pe parcursul etapei de maturare și de învechire a vinurilor, compuși formați de acizi au rol în constituirea buchetului de învechire.

Studiile cu privire la aciditatea totală a vinurilor, au menționat faptul că o aciditate totală cu valori cuprinse între $4,5 \div 7,7$ g/L acid tartric în corelație cu o cantitate de zaharuri remanente duc la existența unui echilibru în vinuri, prin evidențierea senzației de prospețime și de note fructate.

Aciditatea totală, exprimată în g/L $C_4H_6O_6$, în cazul probele experimentale a fost inserată în graficul din figura 5.3. Se poate observa că în cazul probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc în anul 2020, s-a situat între o minimă de 6.43 g/L (proba V8SB – tratată cu un produs de maturare, ce are în compoziția sa chimică PVI/PVPP, chitosan) și o

valoare maximă de 6.89 (proba V4SB – s-a aplicat un produs de maturare ce conține o cantitate mare de polizaharide, compuși ce sunt eliberați prin autoliză și dețin capacitatea de a crește intensitatea, gradul de prospețime și persistența aromatică a vinurilor tinere albe). Proba V4SB a înregistrat aceeași valoare cu proba martor V13SB și cu probele V9SB, V12SB. Prin urmare, în urma maturării pe levuri timp de 6 săptămâni în damigene de sticlă, nu s-au înregistrat schimbări foarte mari ale acidității probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc.

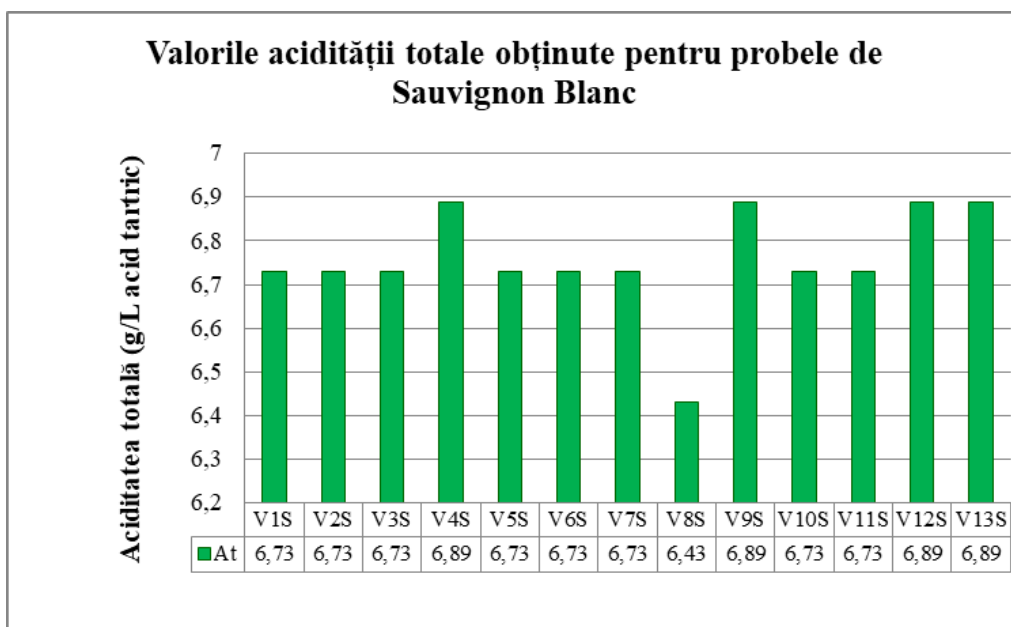


Figura 5.3 – Valorile acidității totale obținute pentru probele de Sauvignon Blanc

Figure 5.3 – Values of total acidity obtained for Sauvignon Blanc samples

În cazul probelor obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, aciditatea totală a înregistrat valori cuprinse între 6,12 ÷ 6,56 g/L acid tartric. Valoarea minimă a acidității totale, de 6,12 g/L acid tartric a fost în cazul probei V8BB, maturarea pe levuri s-a realizat cu același produs ca în cazul probei V8SB, iar valoarea maximă de 6,56 g/L acid tartric înregistrată la proba V7BB, maturată cu un produs bogat în manoproteine provenite din pereții celulari de levuri. Se poate sublinia faptul că unele manoproteine existente în compoziția produsului SPHÈRE EXPRESS® s-au transformat în aminoacizi, ce au contribuit la creșterea acidității totale în comparație cu proba martor V13BB, cu o valoare de 6,43 g/L acid tartric.

Cum se observă din cele două grafice, valorile acidității totale au fost mai ridicate în cazul probelor obținute din Sauvignon blanc comparativ cu probele obținute din soiul Busuioacă de Bohotin. Este bine cunoscut faptul că vinurile albe se caracterizează printr-o aciditate mai ridicată, de aici și prospețimea lor.

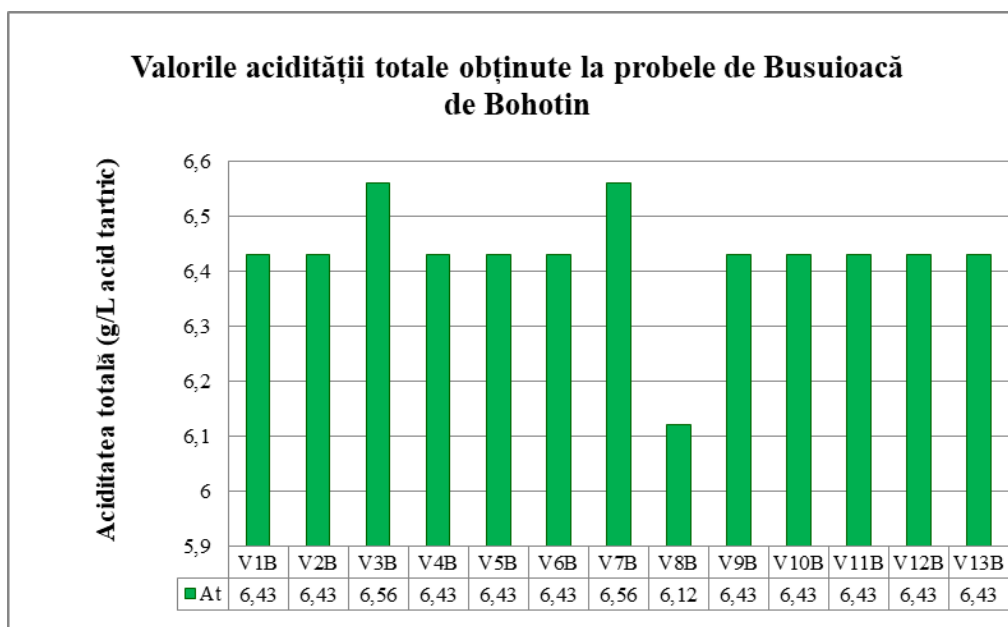


Figura 5.4 – Valorile acidității totale obținute pentru probele de Sauvignon blanc

Figure 5.4 – Values of total acidity obtained for Sauvignon Blanc samples

Aciditatea reală numită și aciditatea ionică sau pH, este utilizată pentru a indica proprietățile (caracteristicile acide) ale unor medii lichide. Deci, pH-ul măsoară concentrația ionilor de H^+ liberi din mediul supus analizei, mai exact determină tăria unui acid. Ionii de H^+ eliberați prin disociere sunt mai numeroși în cazul unui acid mai tare (Cotea V. D., 1985).

În anul 1909 a apărut noțiunea de pH și a fost numită exponentul ionului de hidrogen. Aciditatea reală are o influență majoră și prezintă impact asupra fiecărei caracteristici a vinului. Astfel, pH-ul prezintă influență asupra stabilității vinurilor, aromei, absorbției dioxidului de carbon și implicit asupra ratei procesului fermentativ, procesului de precipitare a tartraților, în plus este implicat în majoritatea proceselor chimice ce se desfășoară în vin după finalizarea fermentației alcoolice.

În momentul în care se înregistrează un nivel scăzut al acidității, vinul va avea un gust plat, fără corpolență. Datorită unui pH cu valori cuprinse între $3,0 \div 3,75$ și a proprietăților microbiene pe care le dețin acizi grași nu este permisă evoluția microorganismelor în vin. Pentru vinurile albe, un pH optim are valori cuprinse între $3,1 \div 3,4$, cu mențiunea că valori mai mari de 3,9 influențează negativ stabilitatea vinurilor (Singleton V. L., 1987).

Tabelul 5.1/ Table 5.1

Principalele caracteristici fizico-chimice și de compoziție ale vinurilor obținute din soiul Sauvignon blanc în anul 2020
 The main physico-chemical and compositional characteristics of the wines obtained from Sauvignon Blanc variety in 2020

Proba exp.	Etanol % vol. alc.	Aciditatea totală g/L C ₄ H ₆ O ₆	Aciditatea volatilă g/L C ₂ H ₄ O ₂	Zaharuri g/L	Extractul sec total g/L	Extractul nereducător g/L	Densitatea Δ g/cm ³	pH	Acid malic g/L	Acid lactic g/L
V1SB	13,4±0,1	6,73±0,02	0,31±0,02	1,6±0,05	18,5±0,05	16,9±0,1	0,98965±0,01	2,93±0,02	1,6±0,02	0,5±0,04
V2SB	13,3±0,1	6,73±0,02	0,3±0,04	1,9±0,05	18,8±0,05	16,9±0,05	0,98994±0,02	2,92±0,02	1,5±0,04	0,4±0,05
V3SB	13,3±0,1	6,73±0,03	0,32±0,02	1,2±0,05	19,6±0,05	18,4±0,05	0,99021±0,03	2,98±0,02	1,4±0,05	0,5±0,05
V4SB	13,4±0,1	6,89±0,02	0,3±0,02	1,6±0,05	18,8±0,05	17,2±0,05	0,98983±0,01	2,95±0,02	1,6±0,05	0,5±0,02
V5SB	13,4±0,1	6,73±0,02	0,31±0,03	1,2±0,05	18,8±0,05	17,6±0,05	0,98978±0,02	2,95±0,02	1,6±0,05	0,4±0,02
V6SB	13,4±0,1	6,73±0,02	0,3±0,05	0,9±0,04	18±0,05	17,1±0,05	0,98952±0,01	2,91±0,03	1,5±0,04	0,4±0,1
V7SB	13,2±0,1	6,73±0,01	0,31±0,02	1,6±0,02	18±0,04	16,4±0,05	0,98977±0,02	2,93±0,02	1,6±0,03	0,4±0,05
V8SB	13±0,1	6,43±0,02	0,3±0,02	1,6±0,03	17,2±0,05	15,6±0,03	0,98971±0,01	3±0,05	1,5±0,05	0,4±0,05
V9SB	13,2±0,1	6,89±0,04	0,31±0,02	1,3±0,05	18,5±0,05	17,2±0,03	0,99003±0,02	2,95±0,05	1,4±0,07	0,5±0,05
V10SB	13,2±0,05	6,73±0,02	0,32±0,03	1±0,05	17,7±0,05	16,7±0,04	0,9897±0,03	2,96±0,02	1,5±0,05	0,4±0,03
V11SB	13,4±0,1	6,73±0,02	0,3±0,02	1,4±0,05	18,3±0,05	16,9±0,03	0,98958±0,02	2,93±0,02	1,5±0,04	0,4±0,05
V12SB	13,3±0,1	6,89±0,02	0,2±0,02	1,4±0,05	18,8±0,05	17,4±0,05	0,98994±0,03	2,93±0,03	1,5±0,05	0,4±0,05
V13SB	13,4±0,1	6,89±0,03	0,31±0,02	1,1±0,05	18±0,05	16,9±0,05	0,9895±0,01	2,93±0,02	1,5±0,02	0,4±0,1

Tabelul 5.2/ Table 5.2

Principalele caracteristici fizico-chimice și de compoziție ale vinurilor obținute din soiul Busuioacă de Bohotin în anul 2020
 The main physico-chemical and compositional characteristics of the wines obtained from Busuioaca de Bohotin variety in 2020

Proba exp.	Etanol % vol. alc.	Aciditatea totală g/L C ₄ H ₆ O ₆	Aciditatea volatilă g/L C ₂ H ₄ O ₂	Zaharuri g/L	Extractul sec total g/L	Extractul nereducător g/L	Densitatea Δ g/cm ³	pH	Acid malic g/L	Acid lactic g/L
V1BB	13,9±0,04	6,43±0,02	0,3±0,05	1,6±0,05	21,6±0,02	20±0,04	0,99035±0,05	3,10±0,05	1,6±0,02	0,3±0,05
V2BB	14±0,07	6,43±0,04	0,32±0,03	1,2±0,04	22,2±0,03	21±0,02	0,99041±0,02	3,13±0,03	1,5±0,05	0,3±0,02
V3BB	14±0,04	6,56±0,03	0,29±0,02	1,7±0,05	21,6±0,02	19,9±0,03	0,99019±0,02	3,11±0,02	1,5±0,05	0,3±0,04
V4BB	14±0,04	6,43±0,05	0,3±0,07	1,5±0,05	22,4±0,05	20,9±0,02	0,9905±0,03	3,14±0,03	1,5±0,05	0,4±0,05
V5BB	14±0,04	6,43±0,06	0,34±0,04	0,6±0,05	22,2±0,05	21,6±0,04	0,99041±0,03	3,16±0,02	1,5±0,05	0,3±0,05
V6BB	13,7±0,04	6,43±0,03	0,31±0,04	1,6±0,05	21,1±0,05	19,5±0,04	0,99039±0,02	3,11±0,04	1,5±0,02	0,3±0,02
V7BB	14±0,07	6,56±0,04	0,31±0,03	1,5±0,05	21,6±0,02	20,1±5,7	0,99018±0,02	3,13±0,03	1,5±0,04	0,4±0,05
V8BB	14±0,07	6,12±0,03	0,31±0,02	1,1±0,01	21,4±0,05	20,3±0,05	0,99005±0,03	3,18±0,02	1,4±0,02	0,2±0,05
V9BB	13,9±0,04	6,43±0,03	0,31±0,04	1,6±0,05	21,9±0,03	20,3±0,04	0,99053±0,02	3,12±0,02	1,6±0,02	0,3±0,05
V10BB	14,1±0,02	6,43±0,03	0,29±0,02	1,5±0,07	22,2±0,05	20,7±0,02	0,99029±0,03	3,1±0,05	1,5±0,07	0,2±0,05
V11BB	14±0,04	6,43±0,06	0,31±0,03	1,3±0,04	21,9±0,05	20,6±0,03	0,9903±0,07	3,12±0,03	1,5±0,03	0,3±0,02
V12BB	14±0,04	6,43±0,03	0,31±0,03	1,5±0,06	22,7±0,05	21,2±0,02	0,99058±0,05	3,11±0,03	1,5±0,04	0,3±0,03
V13BB	14±0,03	6,43±0,03	0,3±0,02	1,4±0,05	22,4±0,05	21±0,07	0,99047±0,04	3,11±0,03	1,5±0,03	0,3±0,04

În ceea ce privește pH-ul vinurilor analizate, acesta se prezintă astfel: vinurile obținute din soiul Sauvignon blanc au un pH cu o valoare minimă de 2,91 (proba V6SB – tratată cu un produs obținut din pereți celulari de levuri, ce conține cantități considerabile de aminoacizi și vitamine) și o valoare maximă de 2,98 (proba V3SB – tratată cu un produs ce are în compoziție un conținut ridicat de peptide, aminoacizi cu efect antioxidant și polizaharide). Astfel, în cazul probei V3SB cu valoarea cea mai mare a pH-ului se observă o scădere a acidității totale, ce prezintă valoarea de 6,73 g/L acid tartric comparativ cu proba martor V13SB, cu o valoare de 6,89 g/L acid tartric. Între aciditatea totală și pH există o corelație, astfel se observă că o creștere a valorii pH determină o scădere a acidității totale. Între cei doi parametri fizico-chimici se stabilește o relație invers proporțională.

În cazul vinurilor obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, pH-ul variază între o maximă de 3,18 (V8BB – tratată cu un produs de maturare ce are în compoziție un amestec de PVI/PVPP și chitosan) și o minimă de 3,10 (V1BB – tratată cu un produs de maturare obținut din pereții levurieni și are un conținut bogat în polizaharide). În acest caz, corelația dintre pH și aciditatea totală este invers proporțională, proba V8BB are o valoare a acidității totale de 6,12 g/L acid tartric.

Influența produselor oenologice de maturare asupra acidității vinurilor este datorată compușilor ce fac parte din compoziția lor chimică și de capacitatea lor de descompunere în aminoacizi și alți acizi în urma procesului enzimatic de autoliză celulară.

Aciditatea volatilă reprezintă aciditatea vinului dată de prezența în stare liberă sau legată sub formă de săruri a acizilor alifatici monocarboxilici saturați. Apar ca produși secundari din procesele de fermentație alcoolică, fermentație malolactică sau din procesul nedorit de fermentație acetică (Cotea V. D., 1985).

Cantitatea de acizi este influențată de mai mulți factori, precum starea de sănătate a materiei prime, compoziția strugurilor, condițiile tehnologice de prelucrare a mustului, de conținutul enzimatic al levurilor și bacteriilor responsabile de fermentația alcoolică și de fermentația malolactică, temperatura de fermentație, de prezența oxigenului, de pH, concentrația de SO₂ și de potențialul de oxido-reducere.

În vin, aciditatea volatilă este corelată cu prezența acidului acetic și a acetatului de etil, compuși de metabolism ce apar în urma unui fenomen aerob în care sunt implicate bacteriile acetice (Ribereau-Gayon P., 2006).

Conform cu Legea Viei și Vinului 164/2015, aciditatea volatilă trebuie să aibă valori de 1,08 g/L CH₃COOH în cazul musturilor de struguri ce au fost fermentate parțial, vinurile albe, rosé și de 1,2 g/L CH₃COOH în cazul vinurilor roșii.

Cu privire la probele experimentale luate în studiu, se observă că cele obținute din soiul Sauvignon blanc au valori cuprinse între 0,2 (V12SB) și 0,3 (V2SB) g/L acid acetic, iar cele din soiul Busuioacă de Bohotin au valori cuprinse între 0,29 g/L (V3BB) și 0,34 g/L (V5BB) acid acetic.

Probele experimentale obținute din cele două soiuri de struguri luate în studiu în anul 2020 prezintă valori apropiate ale acidității volatile, cu mențiunea că vinurile au fost obținute din recolte sănătoase, iar vinificația s-a realizat conform etapelor tehnologice de vinificație în alb, respectiv în rosé.

Senzația de dulce percepută în vinuri la nivel senzorial este datorată conținutului de zaharuri, care se găsesc în mare parte sub formă de glucoză și fructoză. O concentrație de aproximativ 0,2 % zaharuri în vinuri este necesară pentru a putea fi perceput gustul dulce la nivel gustativ.

Principalul rol al zaharurilor în vinuri este cel de potențiator de aromă. Acestea au capacitatea de a fixa substanțele volatile prezente în compoziția vinurilor, astfel devin un agent esențial în descrierea organoleptică. În cazul vinurilor seci, senzația de dulce apare în urma asocierii între gustul dulce conferit de glicerol, etanol și compușii aromatici cu caracter volatil. Zaharurile remanente au capacitatea de a reduce senzațiile astringente sau excesiv acide ale vinurilor. Echilibrul fizico-chimic și organoleptic al vinurilor este asigurat de asocierea zaharurilor cu concentrația alcoolică și aciditatea (Cotea V. V. ș.a., 2019).

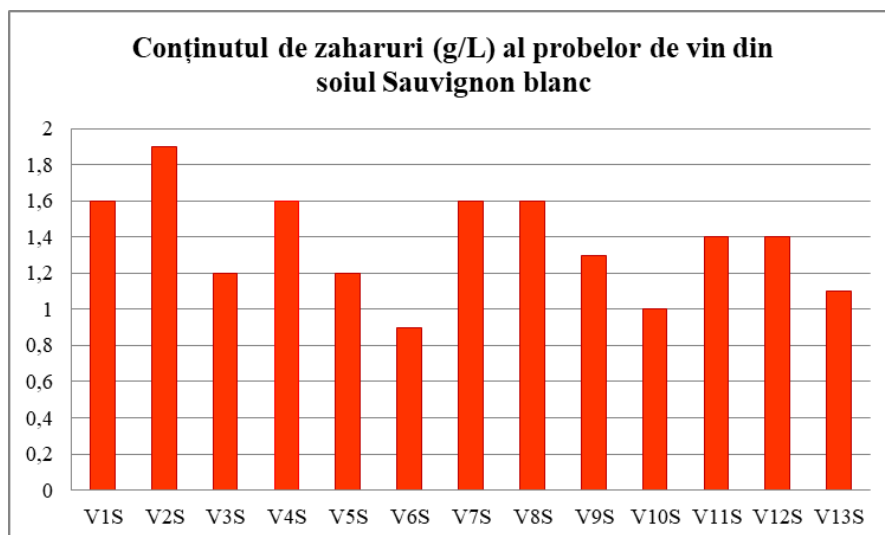


Figura 5.5 – Conținutul de zaharuri (g/L) al probelor de Sauvignon blanc în anul 2020

Figure 5.5 – Sugar content (g/L) of Sauvignon Blanc samples obtained in 2020 vintage

În urma determinărilor efectuate, conținutul în zaharuri al probelor de Sauvignon blanc, inserate în graficul din figura 5.3 au valori cuprinse între 0,9 g/L (V6SB) și 1,9 g/L (V2SB). Se observă o creștere a conținutului de zaharuri în cazul probelor V2SB, V1SB, V4SB, V7SB, V8SB, V11SB și V12SB în comparație cu proba martor V13SB, aspect datorat administrării de produse de maturare cu un conținut ridicat în polizaharide.

Probele experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin au înregistrat o valoare maximă de 1,7 g/L zaharuri (V3BB) și o valoare minimă de 0,6 g/L zaharuri (V5BB). Proba V5BB a fost tratată cu un produs oenologic de maturare, bogat în peptide, manoproteine și polizaharide, a avut loc o creștere în compușii eliberați prin procesul enzimatic de autoliză celulară, cu capacitatea de a face vinurile mai armonioase și corpulente.

Dat fiind faptul că probele experimentale obținute din cele două soiuri prin etapa de maturare pe levuri au prezentat valori ale zaharurilor reducătoare sub 4 g/L, au fost încadrate în categoria vinurilor seci în conformitate cu legislația OIV.

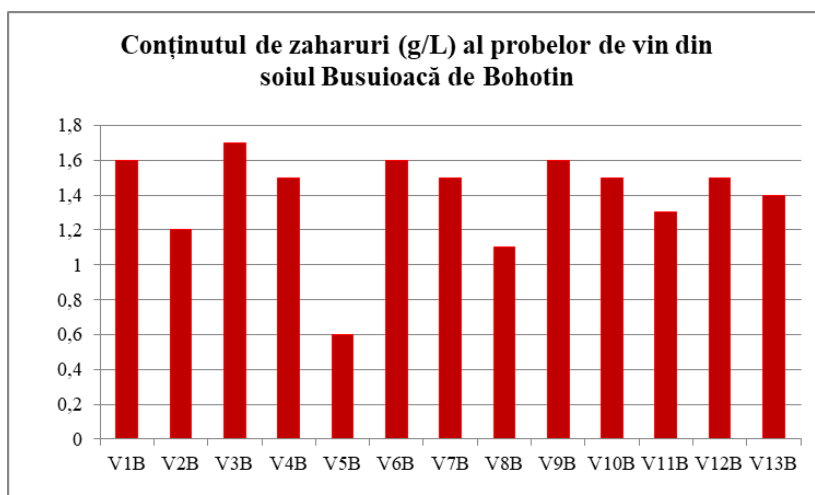


Figura 5.6 – Conținutul de zaharuri (g/L) al probelor de Busuioacă de Bohotin în anul 2020
Figure 5.6 – Sugar content (g/L) of Busuioaca de Bohotin samples obtained in 2020 vintage

Extractul sec total reprezintă totalitatea substanțelor din vin care în condiții de laborator nu se volatilizează, ci rămân sub formă dizolvată sau sub formă coloidală, numite și reziduu. Substanțele nevolatili din must sau vin se găsesc sub diferite forme chimice: glucide, acizi organici nevolatili, sărurile lor, glicerol, alcoolii superiori și substanțe tanante, iar acestea se exprimă în g/L în vin. (Cotea V.D., 1985).

În vederea identificării practicilor frauduloase, precum adaosul de zahăr alimentar sau adaosul de alcool în vin se utilizează destul de des raportul dintre conținutul de alcool al vinului și extractul sec total. Extractul sec exprimă potențialul de calitate al soiurilor de struguri și al podgoriilor din care provin, este puternic influențat de *terroir* și reprezintă un parametru fizico-chimic important pentru determinarea și stabilirea categoriilor de calitate ale vinurilor (Zamfir C.I., 2009).

În cazul vinurilor albe seci, valoarea extractului sec total se va situa sub 25 g/L și a celor cu denumire de origine controlată, valoarea acestui parametru trebuie să fie mai mare de 19 g/L.

Extractul nereducător reprezintă diferența dintre extractul sec total și conținutul total de zaharuri (OIV, 2018). Extractul sec total s-a determinat prin aplicarea formulei Tabarié.

Extractul sec total (EST – g/L) – probele experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc înregistrează o creștere a extractului sec total, cea mai mare valoare o are proba V3SB (19,6 g/L) în comparație cu proba martor, V13SB (18 g/L).

Extractul nereducător (EN – g/L) – a înregistrat valori cuprinse între 15,6 g/L (V8SB) și 18,4 g/L (V3SB). Se observă la determinarea celor doi parametri fizico-chimici faptul că cele mai mari valori le înregistrează proba V3SB, probă la care a fost realizată etapa de maturare pe levuri cu un produs oenologic bogat în peptide, manoproteine și aminoacizi cu proprietăți antioxidante.

În cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, extractul sec reducător a înregistrat cea mai mare valoare la proba V12BB (22,7 g/L) în comparație cu proba

martor, V13BB (22,4 g/L) și valoarea cea mai mică la proba V6BB (21,1 g/L). Cu privire la valorile extractului nereducător, valorile au fost cuprinse între 20 g/L (proba V1BB) și 21,6 g/L (proba V5BB). Proba V5BB a fost maturată pe levuri prin administrarea unui produs oenologic ce conține cantități mari de manoproteine.

Creșterea extractului sec total și a extractului nereducător este posibilă după realizarea procesului de maturare pe levuri, unde prin autoliză enzimatică se eliberează din pereții celulari de levuri compuși chimici în cantități diferite.

Acidul malic este prezent în vin în cantități de 2 g/L până la 4 g/L, în funcție de zona climatică unde este situată podgoria și de soiul de viță de vie. Acidul malic deține o putere de aciditate mai slabă în comparație cu acidul tartric (Țârdea C., 2010).

În cazul acidului malic, este bine cunoscut faptul că în faza de must și până la formarea vinului, are loc aceeași reducere cantitativă ca la acidul tartric. De asemenea, tot o reducere din punct de vedere cantitativ se înregistrează și pe parcursul procesului de maturare și în etapa de păstrare a vinului (Țârdea C., 2010).

Acidul malic prezintă instabilitate biologică, astfel încât o parte din levurile ce aparțin genului *Saccharomyces* și sunt implicate în procesul de fermentație alcoolică, metabolizează 10÷15 % din acidul malic, în timp ce levurile din genul *Schizosaccharomyces* au capacitatea de a metaboliza până la 70÷80 % din acidul malic prezent în mustul de struguri. În cazul în care se realizează și fermentația malolactică, bacteriile malolactice au capacitatea de a transforma integral acidul malic în acid lactic și dioxid de carbon (Cotea V.D., 1985).

Referitor la conținutul acidului malic în vin, cercetările au reușit să evidențieze faptul că în mod predominant se întâlnește forma de acid L (-) malic și doar o mică cantitate de acid D (+) malic, ce nu poate fi metabolizat de către bacteriile lactice.

Probele experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc, după perioada de maturare pe levuri, au înregistrat valori de 1,4 g/L acid malic (cazul probelor V3SB, V9SB), de 1,6 g/L (probele V4SB, V5SB, V7SB, V11SB). Probele de vin obținute din soiul Busuioacă de Bohotin au avut valori ale concentrației de acid malic situate în același interval ca în cazul vinurilor din soiul Sauvignon Blanc. Astfel, se poate observa o scădere a conținutului de acid malic, ce a înregistrat variații foarte mici între probele experimentale.

Acidul lactic reprezintă un produs secundar al vinului, ce apare în urma proceselor fermentative. Levurile dețin capacitatea de a transforma doar 0,05 % din zaharurile existente în must în acid lactic, de aceea în vin nu depășește valoarea de 400 mg/L (Fell G., 1961).

Cu privire la probele experimentale, s-au înregistrat valori între 0,4÷0,5 g/L în cazul celor obținute din soiul Sauvignon blanc, iar cele obținute din soiul Busuioacă de Bohotin au valori între 0,2÷0,4 g/L. Deci, vinurile nu sunt predispuse la o infecție microbiană, având în vedere faptul că o cantitate mai mare de 0,5 g/L poate declanșa o fermentație zaharolactică, ce conduce la acrirea lactică a vinurilor, fenomen ce apare frecvent la vinurile cu rest de zahăr când sunt depozitate la temperaturi ridicate (Țârdea C., 2010).

Studiul parametrilor cromatici al probelor experimentale obținute prin etapa de maturare pe levuri – cu privire la clasificarea și caracterizarea vinurilor în funcție de parametrii de culoare au fost luate în studiu probele obținute prin utilizarea a 12 produse oenologice de

maturare din strugurii ce aparțin soiurilor Sauvignon Blanc, Busuioacă de Bohotin din recolta anului 2020.

Probele experimentale au fost maturate pe levuri în damigene de sticlă, cu aplicarea de *stirring*, mai exact repunerea levurilor în suspensie, timp de 6 săptămâni în damigene de sticlă, respectiv 2 luni în butelii de sticlă și apoi analizate din punct de vedere cromatic la începutul anului 2021, în luna februarie.

Parametrii cromatici ai eșantioanelor s-au calculat în conformitate cu metodele C.I.E. Lab 76, în funcție de spectrul de absorbție consemnat pentru fiecare probă în parte. Această consemnare a fost posibilă prin utilizarea unui spectrofotometru SPECORD S200 cuplat cu la un computer, astfel a fost posibilă înregistrarea și numerizarea spectrului de absorbție într-un fișier. Studiile de specialitate și lucrările publicate pe baza acestor studii au arătat că aceste caracteristici cromatice fluctuează chiar și atunci când probele de vin sunt obținute din același soi (Cotea V.V. ș.a., 2005). Erorile de analiză pot fi minimizate prin utilizarea de cuve ce prezintă traseu optic în concordanță cu fiecare eșantion de vin, respectiv 0,5 cm. Ulterior, spectrele au fost analizate și prelucrate cu un program realizat de către colectivul de cercetare al centrului, pentru a obține intensitatea culorii (I), nuanța (N) și parametrii cromatici (L, a^* , b^* , C, H°).

În ansamblu, parametrii cromatici analizați au fost inserați în cele două tabele de mai jos, tabelul 5.3 pentru probele obținute din soiul Sauvignon blanc, respectiv tabelul 5.4 pentru probele experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin.

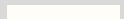
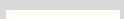
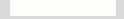
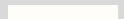
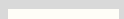
Făcând o strictă referire la probele de Sauvignon blanc 2020, se observă faptul că probele V9SB și V10SB au prezentat valorile cele mai mari ale parametrului L (claritate), astfel se remarcă printr-un grad ridicat de claritate și limpiditate. Claritatea L a înregistrat o valoare maximă la proba V10SB tratată cu un produs oenologic ce conține o cantitate mare de peptide, ce sunt eliberate prin autoliză, iar împreună cu manoproteinele conduc la stabilizarea culorii, datorită faptului că se formează coloizi cu rol de protecție. Probele V12SB, V1SB, V4SB și V7SB au prezentat valori mai scăzute ale parametrului L, în comparație cu proba martor V13SB. Aspect important de precizat e faptul că probele au fost tratate cu produse oenologice ce au eliberat pe parcursul autolizei celulare o cantitate mare de polizaharide într-un timp relativ scurt, iar în cazul probei V12SB s-au eliberat și manoproteine din compoziția produsului. O cantitate importantă de manoproteine eliberată a contribuit la stabilizarea culorii în timp și la protecția împotriva oxidării.

În cazul probelor experimentale de Sauvignon blanc 2020 au predominat nuanțele de culoare verzi-galbene, cu excepția probelor V1SB, V10SB, V11SB unde au fost înregistrate nuanțe mai deschise. Afirmatia aceasta este susținută și observată prin simularea de culoare realizată prin intermediul programului Digital Color Atlas.

Saturația sau croma (C) este în corelație directă cu parametrul b. Cu privire la parametrul H° (tonalitatea), în cazul probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc valori mai mari după etapa de maturare pe levuri au fost înregistrate, fiind în concordanță cu parametrii a și b.

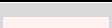
Tabelul 5.3/Table 5.3

Parametrii cromatici ai probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc în anul 2020
 Chromatic parameters of the experimental samples obtained from Sauvignon Blanc variety in 2020

Probă exp.	Claritatea L (0-100)	Cromaticitatea		Saturația	Tonalitatea H	Luminozitatea	Tenta	Simularea culorii
		a roșu(+) verde(-)	b galben(+) albastru(-)					
V1SB	99,26±0,05	2,68±0,02	2,65±0,04	3,77±0,03	44,66±0,03	0,22±0,08	1,35±0,05	
V2SB	99,32±0,03	4,19±0,03	3,03±0,05	5,17±0,02	35,83±0,05	0,31±0,05	1,14±0,04	
V3SB	99,36±0,08	3,89±0,05	3±0,09	4,92±0,03	37,71±0,04	0,29±0,11	1,18±0,05	
V4SB	99,3±0,04	3,73±0,03	3,42±0,03	5,06±0,03	42,48±0,05	0,31±0,04	1,26±0,03	
V5SB	99,34±0,05	4,06±0,05	3,16±0,02	5,14±0,02	37,9±0,04	0,31±0,07	1,18±0,02	
V6SB	99,63±0,06	4,13±0,03	2,97±0,04	5,08±0,04	35,76±0,03	0,31±0,04	1,14±0,05	
V7SB	99,3±0,06	4,46±0,03	3,03±0,09	5,4±0,08	34,15±0,05	0,32±0,03	1,11±0,03	
V8SB	99,56±0,03	3,46±0,01	2,81±0,04	4,46±0,06	39,13±0,02	0,27±0,02	1,19±0,02	
V9SB	99,59±0,04	3,87±0,02	3,05±0,05	4,93±0,05	38,31±0,05	0,3±0,03	1,19±0,04	
V10SB	99,65±0,06	3,83±0,04	2,98±0,04	4,85±0,03	37,85±0,05	0,29±0,02	1,18±0,04	
V11SB	99,43±0,04	4,08±0,04	3,07±0,04	5,11±0,04	36,93±0,03	0,3±0,03	1,16±0,05	
V12SB	99,16±0,04	4,68±0,02	3,09±0,04	5,61±0,04	33,48±0,03	0,33±0,06	1,09±0,05	
V13SB	99,51±0,04	4,93±0,04	3±0,04	5,77±0,02	31,37±0,07	0,33±0,05	1,05±0,05	

Tabelul 5.4/Table 5.4

Parametrii cromatici ai probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin în anul 2020
 Chromatic parameters of the experimental samples obtained from Busuioaca de Bohotin variety in 2020

Probă exp.	Claritatea L (0-100)	Cromaticitatea		Saturația C	Tonalitatea H	Luminozitatea	Tenta	Simularea culorii
		a roșu(+) verde(-)	b galben(+) albastru (-)					
V1BB	97,64±0,05	-0,16±0,04	2,48±0,07	2,49±0,05	-86,25±0,04	0,11±0,03	3,75±0,02	
V2BB	96,54±0,04	-0,22±0,02	2,47±0,02	2,48±0,09	-88,94±0,02	0,1±0,02	4±0,01	
V3BB	96,71±0,03	-0,22±0,05	2,44±0,05	2,45±0,05	-84,73±0,03	0,1±0,04	4,11±0,03	
V4BB	96,6±0,07	-0,22±0,05	2,53±0,05	2,54±0,05	-88,06±0,04	0,1±0,03	3,97±0,02	
V5BB	96,55±0,05	-0,23±0,02	2,56±0,03	2,57±0,06	-84,87±0,04	0,1±0,02	4,15±0,05	
V6BB	96,53±0,03	-0,37±0,04	2,08±0,04	2,12±0,05	-79,86±0,02	0,07±0,03	6,03±0,02	
V7BB	96,37±0,04	-0,24±0,04	2,69±0,05	2,7±0,05	-84,92±0,01	0,11±0,02	4,14±0,02	
V8BB	97,01±0,04	-0,3±0,05	2,05±0,05	2,07±0,5	-81,92±0,01	0,08±0,03	5,03±0,02	
V9BB	96,67±0,05	-0,33±0,05	2,07±0,03	2,1±0,05	-81,02±0,05	0,07±0,02	5,43±0,02	
V10BB	96,76±0,03	-0,36±0,05	1,98±0,05	2,01±0,04	-79,67±0,02	0,07±0,02	6,14±0,01	
V11BB	96,57±0,04	-0,29±0,05	2,36±0,03	2,38±0,02	-82,88±0,02	0,09±0,02	4,52±0,02	
V12BB	96,27±0,07	-0,26±0,03	2,65±0,06	2,67±0,02	-84,47±0,01	0,12±0,02	3,74±0,02	
V13BB	96,15±0,05	-0,35±0,02	2,24±0,04	2,27±0,03	-81,07±0,03	0,09±0,02	5,05±0,05	

Cu privire la parametrul C, cele mai mari valori au fost înregistrate la probele experimentale V1SB, V4SB, V8SB, V9SB și V11SB, tratate cu produse ce au un conținut ridicat de polizaharide și capacitatea de a modifica proprietățile cromatice ale vinurilor albe, roșii.

Parametrul luminozitate a înregistrat valori mai scăzute pentru probele tratate cu produse oenologice de maturare, în comparație cu proba martor V13SB, însă nu au variat în limite largi. Cea mai mică valoare a fost în cazul probei V1SB, tratată cu un produs ce dispune de compuși de azot cu greutate moleculară mică ce leagă de preferință oxigenul, astfel oferă rezistență vinului la oxidare și poate păstra culoarea vie pe o perioadă îndelungată, polizaharide și manoproteine care asigură stabilitate culorii vinurilor.

Parametru tentă la vinurile obținute din soiul Sauvignon blanc a variat între o minimă de 1,05 pentru proba V13SB (proba martor) și o maximă de 1,35 pentru proba V1SB.

În cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin 2020, pentru parametrul L au fost înregistrate valori ridicate la probele V10BB, V3BB, V9BB, V1BB și V8BB tratate cu produse oenologice de maturare ce au un conținut bogat de peptide în constituția lor. Peptidele prezente în vinuri sunt formate din 60÷70 resturi de aminoacizi, în funcție de constituția aceasta se împart în oligopeptide (cu 2, 4 resturi de aminoacid) și polipeptide (cu mai multe resturi de aminoacid) (Cotea V.V., 2009).

Cu toate că proteinele și peptidele sunt constituenți minori ai vinului, ele prezintă capacitatea de a interveni la formarea calității produsului finit, în acest caz au un rol important în calitatea vinului, afectează claritatea, caracteristicile gustative și stabilitatea fizico-chimică a vinului. Proteinele sunt prezente pe tot parcursul procesului de vinificație și pot provoca turbureală prin depozitul de sedimente în vinurile îmbuteliate, din cauza denaturării și agregării lor în masa vinului. Unele proteine prezente în struguri induc turbureală vinului, în timp ce unele proteine din levuri au capacitatea de a reduce turbureala vinului, astfel preîntâmpină apariția fenomenului de ceață în vinuri. Alte proteine contribuie la formarea și stabilitatea spumei în cazul vinurilor spumante. Peptidele pe de altă parte, au caracteristici care pot influența claritatea vinurilor și senzațiile organoleptice.

Prezența peptidelor în vinuri, mai ales a celor ce apar prin autoliză au un efect destul de considerabil asupra calității vinului. În general, se cunoaște faptul că prezența compușilor cu azot, care au o serie de proprietăți biologice (antioxidante, antihipertensive, antimicrobiene), plus o serie de proprietăți fizico-chimice, drept urmare sunt considerați compuși surfactanți (aceștia reprezintă substanțe chimice care pot crea clustere moleculare auto-asamblate ce se numesc micelii într-o soluție apoasă sau în apă și se adsorb la interfața dintre o soluție și o fază solidă sau gazoasă) care pot afecta senzațiile gustative ale unor băuturi alcoolice și produse alimentare. Cu toate acestea, investigațiile cu privire la conținutul peptidelor în vinuri sunt limitate, în principal pentru obstacolele întâmpinate în izolarea lor din vinuri (Moreno-Arribas V. ș.a., 2002).

Cea mai mică valoare a parametrului L (claritate) la probele de Busuioacă de Bohotin a fost înregistrată la proba martor (V13BB), deci produsele oenologice folosite la maturarea pe levuri a celor 12 probe au influențat parametrul L, prin compoziția lor, care trece în vinuri prin autoliză enzimatică.

Nuanțele care predomină la probele de Busuioacă de Bohotin sunt roz-pal, roz-zmeură, unele probe având chiar nuanțe de roz frunze de ceapă sau roz cu o ușoară tentă portocalie. Nuanțele mai deschise au fost înregistrate în cazul probelor V8BB, V9BB, V10BB și V11BB. Identificarea acestor diferențe a fost posibilă prin aprecierea vizuală realizată prin simularea de culoare.

Parametrul H° (tonalitatea) a prezentat valori mai scăzute după etapa de maturare pe levuri a probelor experimentale în comparație cu proba martor, V13BB. Parametrul H° a fost corelat cu parametrul a și b.

Luminozitatea a înregistrat o ușoară creștere, după ce probele au fost maturate pe levuri. În ceea ce privește parametrul saturație (C), de remarcat e faptul că probele V3BB, V2BB, V1BB, V4BB și V5BB au înregistrat cele mai mari valori în comparație cu V13BB. Toate aceste probe au fost tratate cu produse ce au în compoziția lor substanțe chimice cu un conținut ridicat de azot.

Tenta a înregistrat o scădere la majoritatea probelor, excepție făcând probele V9BB, V6BB și V10BB în comparație cu V13BB.

5.2 Determinarea unor amine biogene și aminoacizi din vinurile obținute prin utilizarea unor produse oenologice de maturare

Aminele biogene din probele experimentale

Aminele reprezintă substanțe care derivă de la amoniac, în molecula căruia un atom de hidrogen este substituit de un radical organic (-R). Unele amine poartă numele de amine biogene nu datorită faptului că se formează în urma unor procese biologice, ci pentru că au o intensă activitate fiziologică și sunt toxice în cantități mari. Aminele biogene produc reacții nedorite în organismul uman, precum creșterea tensiunii arteriale, alergii, febră, transpirație, migrenă, deci acționează asupra sistemului nervos, afectând și sistemul endocrin, funcțiile hormonale (Cotea V. V., 2009).

Aminele biogene se formează din aminoacizi prin decarboxilare microbiană. Putresceina, cadaverina, spermidina și spermina se găsesc în struguri și intervin în creșterea lor, iar unele dintre ele se formează pe parcursul fermentațiilor, în mod special a fermentației malolactice (produsă de acțiunea bacteriilor). De aceea, vinurile roșii care trec prin procesul de fermentație malolactică au un conținut mai ridicat în amine decât vinurile albe care nu trec prin dezacidificarea microbiologică.

Conținutul vinului în amine biogene depinde foarte mult de materia primă, de condițiile climatice unde este amplasată podgoria și de condițiile tehnologice de vinificație, majoritatea fiind în cantități sub 1 mg/L. Prezența acestor compuși chimici în vin, pot provoca probleme de sănătate consumatorilor, atunci când se găsesc în cantități mari. Drept urmare, cunoașterea aspectelor precum originea aminelor biogene, detectarea și cantitatea lor în vin sunt importante în vinificație.

Aminele biogene sunt compuși chimici ce prezintă o greutate moleculară mică și se găsesc în mod frecvent în alimente fermentate, cum ar fi lapte, brânză și bere. Formarea acestora se datorează în principal unor reacții enzimatiche de: transaminare, decarboxilare, dezaminare reductivă și degradare a unor compuși precursori, mai exact aminoacizi (Sebastian P., ș.a.,

2011). În funcție de structura lor, aminele biogene au fost împărțite în trei categorii distincte: - amine alifatică – acest grup cuprinde cadaverina, spermina, putresceina și spermidina; - amine aromatică – 2-feniletilamina și tiramina; - amine heterociclice – cuprind triptamina și histamina (Önal A. ș.a., 2013).

Cele mai importante amine biogene din vinuri și produsele alimentare, atât din punct de vedere cantitativ, cât și calitativ sunt tiramina, histamina, cadaverina, putresceina și β -feniletilamina. Acestea sunt produși chimici formați prin decarboxilarea următorilor aminoacizi: tirozină, ornitină, histidină, lizină, respectiv β -fenilalanină (Lonvaud-Funel A. 2001; Fernández M., 2006; Landete J. M. 2007). Însă, putresceina poate fi produsă și din activitatea metabolică a argininei cu agmatina.

Conținutul de amine biogene din vinuri este influențat de mai mulți factori în funcție de sursa de formare. O mare varietate de sușe de levuri indigene sunt implicate în procesul de fermentație alcoolică a zaharurilor din mustul de struguri în combinație cu sușele de levuri selecționate din genul *Saccharomyces*, specia *Saccharomyces cerevisiae*. În domeniu există doar câteva studii care au drept scop identificarea și justificarea fenomenului de formare a aminelor biogene de către levurile implicate în procesul fermentativ. Majoritatea au avut scopul de a compara capacitatea diferitelor sușe de levuri de a produce amine biogene, prin intermediul nivelurilor diferite de concentrație al histaminei apărute în urma fermentației alcoolice a mustului de struguri (Torrea D. ș.a., 2002).

Totuși, pe perioada de fermentație alcoolică nu s-a raportat o creștere considerabilă a concentrației de amine biogene, deci levurile par să nu fie responsabile de producerea lor în vinuri (Marcobal A. ș.a., 2006b). Însă, unele studii au raportat o scădere a conținutului de putresceină pe durata procesului de fermentație, moment în care activitatea levuriană înregistrează un maxim (Granchi L., 2005).

Spre deosebire de rolul pe care îl dețin levurile din vin în producerea aminelor biogene, cercetările cu privire la acest aspect au putut corela producerea de amine biogene în vinuri cu unele specii de bacterii lactice ce au implicație în tehnologia de producere a vinurilor (Nannelli F. ș.a., 2008). Formarea acestor amine a fost asociată adeseori cu bacterii lactice ce aparțin genului *Pediococcus* și genului *Lactobacillus*, a căror prezență în vinuri este condiționată de valorile pH-ului (Landete JM., 2007). Bacteriile lactice ce aparțin genului *Pediococcus* prezintă capacitatea de a fermenta glucidele și de a degrada acidul malic, iar cele din genul *Lactobacillus* sunt de două tipuri, mai exact: specii homofermentative și specii heterofermentative. Speciile homofermentative metabolizează acizii citric, gluconic, malic și majoritatea glucidelor, excepție xiloza și ramnoza. Speciile heterofermentative metabolizează mai puține glucide și acizi (Neacșu I., 2012).

Bacteriile ce aparțin genului *Oenococcus*, mai exact specia *Oenococcus oeni*, pot produce cantități considerabile de histamină în vinuri (Marcobal A., ș.a., 2004). De asemenea, diverse specii precum *Lactobacillus hildargii*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus brevis* și *Lactobacillus mali*, ce aparțin genului *Lactobacillus*, produc o varietate de amine biogene în vinuri (Constantini A., 2006).

Tabelul 5.5/ Table 5.5

Aminele biogene identificate în probele experimentale obținute din Sauvignon Blanc, anul 2020
Biogenic amines of Sauvignon Blanc samples, vintage 2020

Nr.	Amine biogene	Unitatea de măsură -mg/L												
		Probe experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc (12luni)												
		V1SB	V2SB	V3SB	V4SB	V5SB	V6SB	V7SB	V8SB	V9SB	V10SB	V11SB	V12SB	V13SB
1	Etanolamina	8,62±0,04	11,32±0,02	10,37±0,01	8,79±0,01	9,93±0,008	11,95±0,02	9,07±0,03	10,49±0,01	12,13±0,01	12,66±0,01	8,76±0,11	10,39±0,03	10,40±0,12
2	Fenetilamina	0,19±0,003	0,19±0,001	0,19±0,01	0,16±0,002	0,18±0,001	0,19±0,001	0,2±0,012	0,21±0,003	0,15±0,001	0,14±0,001	0,16±0,02	0,15±0,001	0,19±0,001
3	Histamina	0,32±0,001	0,61±0,002	0,37±0,003	0,3±0,002	0,85±0,001	0,35±0,02	0,26±0,002	0,18±0,001	0,21±0,004	0,17±0,01	0,09±0,001	0,28±0,001	0,23±0,001
4	Tiramina	9,18±0,01	9,37±0,02	8,33±0,04	7,76±0,03	8,62±0,008	11,4±0,2	8,32±0,02	8,08±0,01	8,6±0,01	7,9±0,02	9,14±0,03	8,80±0,06	9,17±0,01
5	Spermidina	1,38±0,01	1,46±0,03	1,59±0,01	1,59±0,008	1,36±0,02	1,74±0,02	1,52±0,02	1,42±0,02	1,26±0,02	1,25±0,01	1,33±0,008	1,38±0,03	1,38±0,02
6	Cadaverina	0,41±0,01	0,22±0,02	0,30±0,02	0,38±0,01	0,23±0,01	0,38±0,01	0,38±0,02	0,37±0,01	0,26±0,01	0,34±0,02	0,35±0,01	0,44±0,03	0,24±0,02
7	Putresceina	3,78±0,01	6,24±0,06	7,61±0,03	7,58±0,02	5,77±0,05	9,65±0,05	7,12±0,02	7,20±0,02	7,52±0,04	5,10±0,02	7,62±0,02	8,22±0,01	7,88±0,03
		Probe experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc (18luni)												
		V1SB	V2SB	V3SB	V4SB	V5SB	V6SB	V7SB	V8SB	V9SB	V10SB	V11SB	V12SB	V13SB
1	Etanolamina	8,97±0,1	9,50±0,04	10,66±0,03	11,35±0,04	11,23±0,06	14,25±0,03	13,63±0,2	13,85±0,05	14,18±0,03	13,27±0,02	12,09±0,03	12,62±0,02	10,47±0,02
2	Fenetilamina	0,84±0,02	0,80±0,05	0,69±0,02	0,72±0,02	0,71±0,03	0,76±0,03	0,66±0,03	0,71±0,02	0,70±0,01	0,79±0,02	6,13±0,02	0,68±0,02	0,64±0,02
3	Histamina	0,58±0,02	0,56±0,03	0,59±0,05	0,54±0,01	0,42±0,01	0,49±0,06	0,53±0,06	0,47±0,01	0,55±0,01	0,54±0,03	0,62±0,02	0,65±0,02	0,59±0,02
4	Tiramina	17,02±0,02	20,34±0,02	19,78±0,01	20,78±0,02	16,36±0,02	10,54±0,01	12,00±0,03	18,73±0,1	19,80±0,02	19,28±0,01	19,80±0,01	21,34±0,02	18,64±0,03
5	Spermidina	1,28±0,04	1,18±0,01	1,28±0,03	1,51±0,02	1,38±0,03	1,32±0,04	1,6±0,06	1,53±0,03	1,54±0,03	1,42±0,02	1,27±0,02	1,46±0,01	1,32±0,01
6	Cadaverina	0,56±0,02	0,67±0,06	0,69±0,12	0,72±0,02	0,63±0,02	0,44±0,04	0,34±0,02	0,85±0,02	0,66±0,02	0,47±0,07	0,54±0,03	0,87±0,02	0,72±0,04
7	Putresceina	27,96±0,07	26,97±0,06	30,38±0,03	27,07±0,01	25,24±0,02	13,08±0,01	15,08±0,04	30,09±0,02	32,14±0,02	25,80±0,03	27,85±0,02	30,6±0,06	31,69±0,03

Aminele biogene sunt formate în mare parte din aminoacizi precursori, în prezența diferitelor microorganisme din vin pe parcursul fermentației alcoolice, etapei de maturare pe levuri, etapei de învechire și depozitare a vinurilor.

Aminele biogene din probele experimentale de Sauvignon Blanc

În tabelul 5.5 sunt inserate concentrațiile a șapte amine biogene și anume: etanolamina, fenetilamina, histamina, tiramina, spermidina, putresceina și cadaverina, determinate din soiurile Sauvignon blanc după 12 luni de maturare pe levuri, respectiv 18 luni de maturare pe levuri.

Etanolamina este un compus organic, din punct de vedere chimic reprezintă o amină primară, dar și un alcool primar deoarece conține o grupare hidroxil și una amino. Biosinteza etanolaminei se realizează din aminoacidul L-serină, prin procesul de decarboxilare. Se prezintă ca un compus lichid, vâscos și incolor, cu miros asemănător amoniacului.

Studiile recente au confirmat prezența etanolaminei, etilaminei și putresceinei în struguri (Del Prete V. ș.a., 2009). În cazul probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc, conținutul de etanolamină a variat de la 8,62 mg/L (proba V1SB) până la 12,66 mg/L (proba V10SB) după 12 luni de maturare pe levuri, înregistrându-se o creștere la toate probele în următoarele 6 luni de maturare pe levuri comparativ cu proba martor, V13SB, valori ce au variat de la 8,97 mg/L (V1SB) până la 14,18 mg/L (V9SB). Probele cu cel mai mare conținut de etanolamină sunt: V6SB (14,25 mg/L), V9SB (14,18 mg/L), V8SB (13,85 mg/L), V7SB (13,63 mg/L) și V10SB (13,27 mg/L). De menționat faptul că aceste probe sunt cele care au înregistrat și valori ridicate ale conținutului de L-serină, după cele 12 luni de maturare pe levuri, deci în următoarele 6 luni a avut loc procesul enzimatic de decarboxilare a aminoacidului precursor L-serină, drept urmare a crescut conținutul de etanolamină.

În cazul acestor probe experimentale s-a înregistrat un conținut ridicat de L-serină și etanolamină, datorită compoziției chimice a produselor oenologice utilizate în etapa de maturare pe levuri (conținut ridicat de peptide, aminoacizi și manoproteine).

Fenetilamina reprezintă un compus chimic, ce se formează prin biosinteza aminoacidului L-fenilalanină, în prezența decarboxilazei L-acizilor aromatici, un complex enzimatic cu capacitatea de a induce fenomenul chimic de decarboxilare enzimatică în produsele alimentare.

Cercetătorii au studiat fenomenul și au descris primele nucleotide, mai exact oligonucleotide pentru detectarea prin PCR a genelor capabile să codifice enzima lizin-decarboxilaza întâlnită în bacteriile alimentare (De Las Rivas B. ș.a., 2006). Bacteriile care sunt capabile să codifice prin intermediul genelor enzima lizin-decarboxilaza sunt grupate în două mari grupe: prima cuprinde bacterii din familia *Enterobacteriaceae* ce cuprinde 28 de genuri, cu 23 implicate în patologia umană și a doua grupă cuprinde genurile de bacterii: *Bacillus*, *Listeria*, *Clostridium* și *Stafilococcus*.

Există o asociere cu privire la amina biogenă fenetilamină și producția de tiramină de către bacteriile lactice. Acest aspect este explicat și prin substratul pentru enzima tirozin-decarboxilaza (TDC) pe care îl are aminoacidul precursor L-fenilalanină; astfel printr-o reacție secundară de decarboxilare se produce fenetilamină. De asemenea, studiile au raportat și

existența altor enzime din grupa decarboxilaze să fie implicate în procesul de producere a fenetilaminei (Landete J. M. ș.a., 2007c).

Printr-o examinare a producției de amine biogene și dinamica microorganismelor în întreg ansamblu al fluxului tehnologic de vinificație, în special a celui realizat prin intermediul produselor oenologice utilizate în etapele de fermentație (două levuri comerciale Excellence® FTH și Excellence® TXL) și de maturare pe levuri (12 produse de maturare obținute din pereți celulari de levuri și alți constituenți chimici), s-a înregistrat o creștere a conținutului de amine biogene, în special cadaverină, putresceină, tiramină și fenetilamină.

Contribuția levurilor în producția de amine biogene este una indirectă, ele acționează astfel: levurile pot altera compoziția strugurilor și a mustului, prin utilizarea unor aminoacizi și producerea altora, plus producerea de amine biogene pe parcursul fermentației alcoolice și autolizei levurilor, astfel apare o modificare asupra conținutului de amine biogene, datorită prezenței de aminoacizi precursori în vin. Acești aminoacizi sunt utilizați și implicați în biosinteză prin intermediul enzimelor din alte microorganisme, în etapele ulterioare ale fluxului tehnologic de producere a vinurilor și au capacitatea de a produce diferite cantități de amine biogene în vinuri (Soufleros E. ș.a., 1998).

Cu privire la conținutul de fenetilamină a probelor experimentale de Sauvignon blanc, după primele 12 luni de maturare se observă o ușoară creștere la unele probe, de la valoarea 0,19 mg/L în cazul probei martor (V13SB) la 0,21 mg/L proba V8SB și 0,2 mg/L proba V7SB, valori ce sunt corelate cu conținutul de L-fenilalanină după 12 luni de maturare pe levuri.

În schimb, în cazul fenetilaminei, se constată o scădere după cele 18 luni de maturare pe levuri, atribuită lipsei bacteriilor lactice din vinuri, având în vedere că nu a fost realizată conversia acidului malic în acid lactic, de asemenea au fost înregistrate și valori foarte mici de acid malic în cazul probelor experimentale de Sauvignon blanc, valori de 1,4÷1,6 g/L. Astfel, probele experimentale produse din soiul Sauvignon blanc, au avut valori ale fenetilaminei cuprinse între 0,68 mg/L (V12SB) și 6,13 mg/L (V11SB). Într-adevăr, a fost înregistrată și o creștere a conținutului de fenetilamină, în cazul probei experimentale V11SB, de la 0,16 mg/L la 6,13 mg/L, datorată prezenței unor enzime în compoziția chimică a produsului oenologic de maturare, cu probabilitate de implicare în procesul de decarboxilare a aminoacidului precursor L-fenilalanină.

Histamina numită și imidazoletilamină, este o amină biogenă ce se găsește în țesuturile vegetale, animale și în bacterii. În organismul uman, histamina este localizată la nivelul pielii, plămânilor și mucoasei gastrointestinale. Este implicată în funcții cheie ale organismului uman, cum ar fi neurotransmisia, permeabilitatea vasculară și răspunsul alergic (Ohtsu H., ș.a., 2003), plus reglarea temperaturii corpului, reglarea volumului și pH-ului stomacului (Ten Brinck B. ș.a., 1990).

Histamina se formează prin procesul de decarboxilare enzimatică a aminoacidului precursor L-histidină. Există două enzime de tip decarboxilaza, ce prezintă capacitatea de a decarboxila acest aminoacid: o enzimă ce aparține speciilor din Regnul *Animalia* și cealaltă enzimă ce aparține speciilor de bacterii gram negative (-), ce au nevoie de un cofactor pentru a realiza biosinteza aminelor biogene, de piridoxal 5'- fosfat (Bover-Cid S. ș.a., 2006).

Prima enzimă histidin-decarboxilaza (HDC) a fost identificată într-un vin ce are în compoziția sa numeroase bacterii lactice, ulterior a fost posibilă izolarea aminei biogene histamină dintr-o tulpină de *Oenococcus oeni*, mai exact *Oenococcus oeni* 9204 (Lonvaud-Funel A., Joyeux A., 1994), astfel au fost realizate studii cu privire la conținutul histaminei în vinuri.

Nivelul histaminei în vinuri joacă un rol special, aceasta fiind considerată amină indicator. Histamina reprezintă cea mai toxică amină, însă toxicitatea sa este cauzată de corelația dintre conținutul total de amine, acetaldehidă și etanol (Garcia-Marino M., 2010). Concentrațiile permise de histamină sunt diferite de la o țară la alta, spre exemplu în Elveția este permisă o concentrație de până la 10 mg/mL histamină.

Cu privire la cantitatea de histamină găsită în probele experimentale de Sauvignon blanc, vinificate în anul 2020, după 12 luni de maturare pe levuri, valorile s-au situat între 0,85 mg/L (proba V5SB) și 0,09 mg/L (proba V11SB). Iar după încă 6 luni de maturare, a fost observată o scădere a cantității de histamină, fapt ce nu a fost corelat cu o scădere a conținutului de L-histidină, deci nu s-a realizat biosinteza aminei din aminoacidul precursor prin fenomenul chimic de decarboxilare.

Tiramina reprezintă o amină biogenă, cu largă răspândire în natură, ce se găsește într-o specie de fungi parazitară a cerealelor, mai exact în cornul de secară. Aceasta este derivată din aminoacidul precursor L-tirozină prin procesul de decarboxilare.

Enzima responsabilă de fenomenul de decarboxilare a L-tirozinei este tirozin-decarboxilaza (TDC) prezentă în bacterii, a fost cercetată și izolată din specia *Enterococcus faecalis* (Allenmark S., Servenius B. O., 1978), ulterior fiind izolată și din bacteriile ce aparțin genului *Lactobacillus*, tulpina *Lactobacillus brevis* IOEB 9809 (Moreno-Arribas V., 1999).

Cercetătorii, în urma studiilor efectuate, au concluzionat că enzima TDC identificată în bacterii, are capacitatea de a codifica peste 264 de aminoacizi prezenți în diverse produse alimentare (Lucas P. ș.a., 2003). A fost constatat și faptul că această enzimă este activă la un interval al pH-ului de 3,0 până la 7,0, cu un optim de 5,0. Activitatea sa este sporită de substrat, mai exact de prezența în vin a aminoacidului precursor L-tirozină și coenzima piridoxal 5'-fosfat (Moreno-Arribas V., 1999; Coton E., Coton M., 2005).

În unele cazuri, producerea de tiramină a fost asociată cu o scădere a fenetilaminei, deci enzima TDC este capabilă să utilizeze și L-fenilalanină ca substrat pentru activitatea sa. Însă, a fost raportat că doar cei mai buni precursori de tiramină sunt capabili să genereze ambele amine simultan (Moreno-Arribas V. ș.a., 2000).

În probele experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc, tiramina a avut valori cuprinse între 11,4 mg/L înregistrată la proba V6SB și de 7,76 mg/L la proba V4SB, după 12 luni de maturare. După cele 18 luni, se observă o creștere mare a conținutului în tiramină, cele mai mari valori s-au înregistrat la probele V12SB (21,34 mg/L), V4SB (20,78 mg/L), V2SB (20,34 mg/L), V3SB (19,78 mg/L) comparativ cu proba martor V13SB (18,64 mg/L). Această creștere este în corelație cu scăderea conținutului de L-fenilalanină, deci enzima TDC nu a participat la decarboxilarea aminoacidului precursor, de aceea L-tirozina a înregistrat creșteri cantitative în intervalul următor de timp.

Studiile cu privire la conținutul de amine biogene în vinurile maturate pe levuri au descoperit o ușoară creștere a aminelor biogene: tiramină, fenetilamină, putresceină, spermină,

spermidină, în funcție de levurile inactivate/preparatele levuriene îmbogățite cu macromolecule utilizate în etapa de maturare (Ancin-Azpilicueta A., ș.a., 2001). De asemenea, aceste creșteri sunt atribuite și fermentației alcoolice cu levuri selecționate comerciale, deoarece musturile inoculate cu ele și fermentate au înregistrat valori mai mari de amine biogene în comparație cu vinurile fermentate cu levuri din flora spontană (Torrea D., Ancin S., 2002). Levurile selecționate au capacitatea de a consuma cantități mai mari de aminoacizi precursori pe perioada fermentației și de a decarboxila în amine biogene, însă este bine cunoscut faptul că levurile formează amine biogene în cantități diferite comparativ cu cele produse de bacteriile lactice (Cohn M. S. ș.a., 1978).

Spermidina este un compus poliaminic, ce se găsește în ribozomi și țesuturile vii. Această amină biogenă îndeplinește mai multe funcții metabolice. Inițial, amina a fost izolată din materialul seminal, un fluid organic ce conține spermatozoizi.

Spermidina reprezintă o poliamină alifatică, ce prezintă în constituția sa enzima spermidin-sintetaza (SPDS), prin urmare catalizează formarea putresceinei. Această amină biogenă este considerată un agent de longevitate la mamifere, reglează procesul de creștere a plantelor, endospermul de cereale are cel mai mare conținut de spermidină, germenii de grâu au un conținut de 243 mg/kg.

Spermidina, spermina și putresceina sunt prezente în plante și au importanță pentru procesele fiziologice de înflorire și dezvoltare armonioasă a fructelor, diviziune celulară, răspunsurile plantelor la senescență și la stres (Halász A. ș.a., 1994).

Probele obținute din Sauvignon blanc au avut valori ale spermidinei cuprinse între 1,74 mg/L la proba V6SB și 1,25 mg/L la proba V10SB, după 12 luni de maturare pe levuri. Cea mai mare creștere a fost în cazul probei V6SB, tratată în vederea realizării etapei de maturare pe levuri cu un produs oenologic ce conține un amestec de levuri inactivate, aminoacizi și vitamine. Deci, un motiv în plus care explică creșterea conținutului de spermidină pe perioada de maturare a unui vin în contact cu levurile este procesul de autoliză levuriană, care favorizează creșterea și activitatea bacteriilor lactice, responsabile de hidroliza și metabolizarea proteinelor, peptidelor și aminoacizilor, prin eliberarea de vitamine și compuși azotați ce sunt utilizați ca suport. Acești aminoacizi reprezintă surse de nutriție și de energie a bacteriilor lactice, plus precursori în formarea ulterioară de amine biogene prin decarboxilare (Lonvaud Funel A., Joyeux A., 1994).

După 18 luni de maturare pe levuri, valorile spermidinei au variat între 1,18 mg/L (proba V2SB) și 1,6 mg/L (proba V7SB). La proba V7SB s-a înregistrat o ușoară creștere după 18 luni de maturare pe levuri în comparație cu perioada de maturare de 12 luni, când valoarea a fost de 1,52 mg/L. Deci, prin eliberarea de aminoacizi precursori pe parcursul autolizei, se acumulează cantități suplimentare de amine biogene în vinuri.

Cadaverina, numită și pentametilendiamina este o amină toxică, ce prezintă un miros neplăcut. Diamina se prezintă sub formă lichidă, siropoasă și incoloră, este omolog al putresceinei și se formează prin decarboxilarea bacteriană a L-lizinei. Prin combinație cu putresceina este implicată în mirosul neplăcut răspândit de materiile aflate în procesul de descompunere organică (putrefacție), mai exact de hidroliză a proteinelor ce se găsesc în țesuturile animale. Această amină se află în cantități foarte mici și în celulele vii, fiind

responsabilă în asociație cu alte substanțe chimice de mirosul neplăcut al secrețiilor precum spermă, urină. Cadaverina se găsește și în speciile *Piper nigrum*, *Piper trichostachyon* și *Glycine max*.

Cu privire la probele experimentale obținute prin etapa de maturare timp de 12 luni din soiul Sauvignon blanc, cadaverina prezintă valori cuprinse între 0,22 mg/L înregistrată la proba V2SB și 0,44 mg/L la proba V12SB, iar după încă 6 luni de maturare valorile au crescut, atingând 0,87 mg/L la proba V12SB, 0,85 mg/L la proba V8SB, 0,72 mg/L la proba V4SB, însă cu un minim de 0,34 mg/L înregistrat la proba V7SB, deci o scădere cu 0,38 mg/L.

Indirect levurile joacă un rol important în producerea de compuși secundari ca amine biogene prin activitatea enzimelor, astfel produc modificări notabile ale conținutului de aminoacizi. Prin autoliză, levurile eliberează aminoacizi, precursori ai aminelor biogene (Moreno-Arribas V. ș.a., 1998). Autoliza levurilor favorizează creșterea și activitatea bacteriilor lactice, datorită eliberării de vitamine și compuși azotați.

Se poate observa în cazul probei V6SB, o scădere mare a conținutului L-lizină, de la 39,38 mg/L la 0,08 mg/L în interval de 6 luni, fapt ce relevă în mod categoric utilizarea acesteia ca substrat de către levurile și bacteriile lactice în producerea cadaverinei.

Putresceina este o diamină, numită și tetrametilendiamină, cu miros neplăcut. Cercetătorii au mai multe ipoteze cu privire la proveniența acestei amine biogene. Unii dintre ei au raportat că aceasta este produsă de o tulpină de bacterie din specia *Oenococcus oeni*, mai exact *Oenococcus oeni* IOEB 8419, izolată din vinul roșu (Marcobal A. ș.a., 2004). Ulterior, în urma studiilor, a fost raportată existența a șapte tulpini din *O. oeni* din 44 luate în studiu, responsabile de producerea putresceinei în mediul de cultură.

Tulpina *Oenococcus oeni* BIFI-83 a fost izolată din sușele de levuri de fermentație a unui vin ce a fost produs în Spania și a raportat un conținut ridicat de putresceină. Astfel, această amină biogenă este cea mai abundentă din punct de vedere cantitativ și calitativ în vin.

Cu toate acestea, în urma studiilor s-a descoperit prezența putresceinei în aproape toate probele analizate de numeroși autori (Glória ș.a., 1998; Soufleros ș.a., 1998; Vasquez-Lasa ș.a., 1998; Soleas ș.a., 1999; Moreno-Arribas V., ș.a., 2004; Landete ș.a., 2005b; Bover-Cid ș.a., 2006; González Marco, Ancín Azpilicueta, 2006; Alcaide-Hidalgo ș.a., 2007), doar una dintre bacteriile lactice din vin a fost semnalată în literatura de specialitate că deține în constituția sa gena răspunzătoare de activitatea enzimatică a ornitin-decarboxilazei (ODC), aceasta fiind tulpina *Oenococcus oeni* BIFI-83 (Marcobal A. ș.a., 2004).

În probele experimentale de Sauvignon blanc s-au înregistrat valori ridicate ale conținutului de putresceină după 18 luni de maturare pe levuri, ce au variat între 31,69 mg/L (V13SB) și 13,08 mg/L (V6SB). Cele mai ridicate valori au fost în cazul probelor următoare: V12SB (30,6 mg/L), V3SB (30,38 mg/L) și V8SB (30,09 mg/L), fapt ce a fost în corelație cu cantitățile mari ale aminoacidului precursor L-arginină în primele 12 luni de maturare pe levuri, după care s-a înregistrat o scădere la toate probele după încă 6 luni de maturare.

Deci, în cazul vinurilor obținute din soiul Sauvignon blanc, cantitățile mari de putresceină înregistrate au fost posibile prin decarboxilarea L-argininei, la pH-ul vinului apropiat de 3. Astfel, putem vorbi și de un sistem complex de enzime, ce au convertit arginina până la putresceină, format din 3 enzime active și prezente în structura bacteriilor, arginin-

deiminaza (ADI), ornitin-transcarbamoilaza (OTC), carbamat-kinaza (CK) implicate în decarboxilarea aminoacizilor precursori (Mangani S. ș.a., 2005).

Aminele biogene din probele experimentale de Busuioacă de Bohotin

Cu privire la compoziția fizico-chimică a vinurilor, este important de știut faptul că pe lângă prezența compușilor fenolici și polizaharidelor, nivelul de amine biogene din vinuri reprezintă un parametru de siguranță alimentară și de calitate (Martuscelli M. ș.a., 2012). Studiile efectuate în legătură cu conținutul de amine biogene în vinuri au observat prezența lor în cantități mai mari în vinul roșu comparativ cu vinul alb sau rosé (Guo YY. ș.a., 2015). Prezența aminelor biogene este inevitabilă și frecventă, acestea se găsesc în struguri și apar în vin prin reacții de decarboxilare a aminoacizilor și transaminare a aldehidelor (Galgano F. ș.a., 2011).

Apariția aminelor biogene în vin depinde de mulți factori tehnologici, biologici și de mediu, așa cum am menționat mai sus, iar în cazul probelor experimentale obținute în anul 2020, conținutul de amine biogene a fost influențat de contactul prelungit cu produse oenologice de maturare. În tabelul 5.6 au fost inserate cantitățile celor 7 amine biogene din probele experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, formate în timpul fermentației alcoolice și etapei de maturare pe levuri, după o perioadă de 12 luni și de 18 luni.

Etanolamina apare în vinuri în urma procesului de decarboxilare a aminoacidului precursor, L-serină. În cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, valorile au variat între 5,27 mg/L la proba V12BB și 13,5 mg/L la proba V5BB, după cele 12 luni de maturare pe levuri. Proba V5BB a fost tratată cu un produs ce conține pereți levurieni și o cantitate mare de manoproteine. După cele 18 luni de maturare pe levuri, valorile etanolaminei au scăzut în cazul tuturor probelor, însă excepție au făcut valorile la trei probe: proba V1BB cu 20,02 mg/L, proba V2BB cu 19,83 mg/L și proba V3BB cu 19,41 mg/L. Toate aceste probe au fost tratate cu produse ce sunt bogate în proteine, de aceea în etapa de maturare pe levuri a crescut cantitatea de etanolamină. Proba V5BB a înregistrat o scădere, ajungând la o valoare de 4,34 mg/L etanolamină.

Pe durata maturării pe levuri, compoziția fizico-chimică a probelor experimentale se modifică, consecință a hidrolizei diferitelor molecule din peretele celular. Unul din procesele enzimatică este proteoliza, în care proteinele sunt hidrolizate în peptide și aminoacizi, iar aceștia trec din peretele celular de levuri în vin. Când bacteriile rămân fără nutrienți, ce este tipic pentru etapa de maturare, ele folosesc aminoacizi pentru energia pe care o generează prin intermediul reacțiilor de decarboxilare. Contactul prelungit cu levurile conduc la eliberarea de amine biogene în vin (Marques A. P., 2008).

Fenetilamina apare în urma procesului de decarboxilare a aminoacidului precursor L-fenilalanină și a L-acizilor aromatici. Probele experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin au înregistrat valori mici ale fenetilaminei după 12 luni de maturare pe levuri, cuprinse între 0,23 mg/L la proba V5BB și 0,14 mg/L la proba V10BB, iar după 6 luni de maturare pe levuri, valorile s-au situat între 0,68 mg/L la proba V7BB și 0,86 mg/L la proba V1BB.

Tabelul 5.6/ Table 5.6

Aminele biogene identificate în probele experimentale obținute din Busuioacă de Bohotin, anul 2020
Biogenic amines of Busuioaca de Busuioaca de Bohotin samples, vintage 2020

Nr.	Amine biogene	Unitatea de măsură - mg/mL												
		Probe experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin (12luni)												
		V1BB	V2BB	V3BB	V4BB	V5BB	V6BB	V7BB	V8BB	V9BB	V10BB	V11BB	V12BB	V13BB
1	Etanolamina	6,33±0,05	8,30±0,5	8,08±0,04	7,49±0,07	13,5±0,04	7,59±0,03	8,03±0,05	6,91±0,12	9,64±0,01	6,75±0,01	7,74±0,01	5,27±0,03	6,87±0,04
2	Fenetilamina	0,19±0,02	0,18±0,01	0,19±0,04	0,2±0,02	0,3±0,02	0,17±0,06	0,18±0,04	0,18±0,04	0,16±0,04	0,14±0,03	0,18±0,07	0,18±0,09	0,16±0,02
3	Histamina	0,74±0,01	0,85±0,05	0,88±0,03	0,85±0,02	1,16±0,01	0,99±0,02	0,79±0,04	0,76±0,01	0,21±0,03	0,95±0,4	0,8±0,05	0,86±0,03	1,07±0,03
4	Tiramina	9,81±0,05	9,48±0,03	9,71±0,11	9,62±0,05	13,9±0,03	9,86±0,04	9,51±0,1	9,02±0,06	8,98±0,05	10,5±0,2	10,3±0,2	0,98±0,05	10,43±0,04
5	Spermidina	0,89±0,02	1,66±0,01	1,29±0,02	1,91±0,4	3,27±0,03	1,12±0,01	1,18±0,04	0,76±0,06	1,13±0,05	1,12±0,02	1,17±0,02	1,43±0,02	0,90±0,7
6	Cadaverina	0,42±0,03	0,38±0,02	0,4±0,07	0,2±0,04	0,31±0,04	0,25±0,05	0,31±0,06	0,46±0,04	0,38±0,04	0,33±0,02	0,43±0,04	0,45±0,08	0,40±0,03
7	Putresceina	7,3±0,06	7,00±0,05	7,32±0,05	7,45±0,05	10,9±0,03	7,59±0,03	7,35±0,02	7,73±0,04	7,32±0,04	6,68±0,04	7,74±0,05	7,54±0,04	8,31±0,06
		Probe experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin (18luni)												
		V1BB	V2BB	V3BB	V4BB	V5BB	V6BB	V7BB	V8BB	V9BB	V10BB	V11BB	V12BB	V13BB
1	Etanolamina	20,02±0,04	19,83±0,1	19,41±0,08	5,05±0,08	4,34±0,02	2,74±0,04	2,57±0,04	3,2±0,07	2,88±0,05	4,63±0,08	5,64±0,07	4,13±0,04	5,77±0,04
2	Fenetilamina	0,86±0,06	0,77±0,08	0,81±0,04	0,38±0,03	0,68±0,03	0,73±0,03	0,68±0,05	1,02±0,04	0,80±0,05	0,77±0,03	0,74±0,02	0,78±0,04	0,80±0,04
3	Histamina	1,79±0,03	0,24±0,02	2,4±0,15	1,54±0,05	2,19±0,03	2,6±0,06	2,31±0,06	3,05±0,06	2,91±0,03	2,58±0,01	2,68±0,05	2,74±0,04	2,64±0,04
4	Tiramina	22,84±0,05	20,4±0,04	19,81±0,05	14,33±0,1	17,5±0,05	13,1±0,04	17,4±0,06	18,12±0,03	20,43±0,04	19,9±0,03	21,1±5,18	17,38±0,03	18,92±0,04
5	Spermidina	1,59±0,06	1,36±0,03	1,02±0,05	2,53±0,05	2,4±0,02	2,43±0,07	2,41±0,07	3,4±0,06	2,15±0,02	2,99±0,05	2,75±0,04	3,24±0,03	2,88±0,05
6	Cadaverina	0,65±0,03	0,6±0,03	0,62±0,02	0,5±0,03	0,28±0,05	0,21±0,04	0,36±0,03	0,64±0,02	0,45±0,05	0,50±0,04	0,31±0,06	0,21±0,03	0,38±0,03
7	Putresceina	25,85±0,06	30,2±0,03	42,58±0,03	43,7±0,03	52,7±0,03	31,2±0,04	38,6±0,03	38,75±0,03	42,72±0,04	38,8±0,05	41,9±0,04	34,71±0,03	34,3±0,03

În cazul probei V5BB, s-a înregistrat o creștere, de la 0,3 mg/L la 0,68 mg/L fenetilamină, în timp ce proba V1BB a înregistrat o scădere după încă 6 luni de maturare pe levuri.

La probele în care s-au înregistrat creșteri ale conținutului de fenetilamină între cele 2 perioade de maturare pe levuri, au fost observate scăderi ale conținutului de aminoacid L-fenilalanină, cum e cazul probei V5BB, cu un conținut de 28,53 mg/L după 12 luni de maturare pe levuri și 12,77 mg/L după 18 luni de maturare pe levuri. Prin urmare microorganismele prezente în preparatele levuriene și devenite active ulterior în contact cu vinul, în perioada de maturare, prin autoliză, au fost implicate în procese de decarboxilare enzimatică.

Histamina se formează prin decarboxilarea aminoacidului L-histidină prin activitatea enzimatică a histidin-decarboxilaza (HDC). În ceea ce privește conținutul de histamină în probele experimentale de Busuioacă de Bohotin, aceasta a înregistrat o ușoară scădere de la 1,07 mg/L în cazul probei martor V13BB, în care nu s-a administrat nici un produs de maturare la 0,99 mg/L proba V6BB, 0,95 mg/L proba V10BB, 0,88 mg/L proba V3BB și 0,86 mg/L la proba V12BB, cea mai mare valoare la proba V5BB, de 1,16 mg/L, ce a fost tratată cu un produs oenologic de maturare ce are un conținut ridicat de manoproteine.

După 18 luni de maturare, conținutul de histamină a înregistrat creșteri la unele probe, mai exact la V8BB – 3,05 mg/L, V9BB – 2,91 mg/L, V12BB – 2,74 mg/L, V11BB – 2,68 mg/L, V6BB – 2,6 mg/L, V10BB – 2,58 mg/L, rezultate ce au fost corelate cu hidroliza manoproteinelor în peptide și aminoacizi și utilizarea acestora în reacții ulterioare de către microorganismele prezente în vin.

Histamina și tiramina sunt două dintre cele mai reprezentative amine biogene pentru vin. În acest caz au fost înregistrate valori mai mici ale histaminei.

Tiramina se formează din aminoacidul precursor L-tirozină printr-o reacție de decarboxilare enzimatică.

În probele experimentale inserate în tabelul 5.5, cele mai mari valori ale aminei biogene tiramină au fost în cazul probelor V5BB de 13,9 mg/L, V10BB de 10,5 mg/L, V11BB de 10,3 mg/L, toate înregistrate după 12 luni de maturare pe levuri, dar care au crescut în următoarele 6 luni, 17,5 mg/L la V5BB, 19,9 mg/L la V10BB și 21,1 mg/L la proba V11BB.

După 18 luni de maturare probele V1BB (22,84 mg/L), V11BB (21,1 mg/L) și V2BB (20,4 mg/L) au înregistrat cele mai mari valori ale tiraminei. Creșterile sunt atribuite diferitelor reacții de hidroliză și decarboxilare a compușilor precursori ce apar în urma autolizei enzimatică.

Spermidina are importanță majoră în procesele fiziologice ale plantelor. Valorile spermidinei la probele de Busuioacă de Bohotin au fost cuprinse între 3,27 mg/L la proba V5BB și 0,76 mg/L la proba V8BB, după intervalul de timp de 12 luni. Cea mai mare valoare a fost la proba V5BB, tratată cu un produs oenologic ce are în compoziție un număr mare de manoproteine, deci se explică creșterea conținutului în amine biogene. După încă 6 luni de maturare pe levuri, spermidina înregistrează cea mai mare valoare la proba V8BB, 3,4 mg/L și cea mai mică la proba V3BB de 1,02 mg/L. Deci, prin procesele de hidroliză și decarboxilare a compușilor azotați pe parcursul proteolizei, se realizează o ușoară creștere în vinuri a aminelor biogene.

Cadaverina este o amină toxică ce apare în urma reacției de decarboxilare a aminoacidului L-lizină. Probele experimentale de Busuioacă de Bohotin au un conținut scăzut de cadaverină, situat în intervalul de valori 0,2 mg/L pentru proba V4BB și 0,46 mg/L pentru proba V8BB, după 12 luni de maturare pe levuri. Ulterior, valorile au fost mai ridicate, de 0,65 mg/L pentru proba V1BB, 0,64 mg/L la V8BB, 0,62 mg/L la V3BB și 0,6 mg/L la V2BB.

Spre finalul perioadei de maturare pe levuri, este observată o creștere a nivelurilor de putresceină și cadaverină (Moreno-Arribas V. ș.a., 2000).

Putresceina reprezintă o amină biogenă produsă prin decarboxilare de enzimele prezente în tulpinile de bacterii ce aparțin speciei *Oenococcus oeni*, mai exact *O. oeni* IOEB 8419, izolată dintr-un vin roșu (Coton E. ș.a., 1999). De asemenea, a fost identificată o altă tulpină producătoare de putresceină și anume *O. oeni* BIFI-83, tulpină izolată din levurile de fermentație dintr-un vin produs în Spania, unde enzima ornitin-decarboxilaza (ODC) a fost implicată în producerea putresceinei. Tulpina *O. oeni* BIFI-83 deține în genomul ei gena ODC care codifică un rest de 745 de aminoacizi și este dependentă de piridoxal 5' - fosfat.

Din punct de vedere cantitativ și calitativ, putresceina se găsește în cantități mari în vinuri. S-au găsit concentrații de până la 200 mg/L în vinurile roșii după etapa de fermentație malolactică (Glória M. B. A. ș.a., 1998).

Putresceina se produce și prin decarboxilarea L-argininei, mai ales la pH-ul vinului de 3,2. Tulpinile de bacterii implicate în formarea putresceinei dețin un sistem enzimatic necesar pentru decarboxilarea aminoacidului precursor L-arginină, alcătuit din arginin-deiminaza (ADI), ornitin-transcarbamoylaza (OTC) și carbamat-kinaza (CK) (Mangani S. ș.a., 2005).

În studiile efectuate s-a demonstrat că se înregistrează o creștere a conținutului în putresceină după 30 de zile de la fermentația alcoolică. Pe durata etapei de maturare pe levuri, proteoliza reprezintă faza în care proteinele sunt hidrolizate în peptide și aminoacizi, fapt ce implică decarboxilarea ulterioară a aminoacizilor și transformarea lor în amine biogene.

În cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, valorile putresceinei au variat între 10,9 mg/L la proba V5BB și 8,31 mg/L la proba V13BB, după cele 12 luni de maturare pe levuri în butelii de sticlă. Se observă o creștere mare a conținutului de putresceină după încă 6 luni de maturare, valorile cele mai mari s-au înregistrat la probele: V5BB cu un conținut de 52,7 mg/L, V4BB cu 43,7 mg/L, V9BB cu 42,72 mg/L, V11BB cu 41,9 mg/L și V10BB cu 38,8 mg/L.

Prin prelungirea contactului cu levurile, are loc o eliberare de amine din celule de levuri prin autoliză enzimatică, fapt ce a fost remarcat și de alte studii în domeniu oenologic (Buteau C., ș.a., 1984; González-Marco A., Ancin-Azpilicueta C., 2006b). Cercetările ulterioare au semnalat creșteri considerabile ale conținutului de putresceină și tiramină în vinurile obținute din soiurile Chardonnay și Pinot noir depozitate pe levuri în butelii de sticlă. Creșterea cantităților de amine biogene este datorată activității enzimactice a microorganismelor prezente în vinurile respective (Louvand-Funel A., 2001).

Determinarea aminoacizilor din probele experimentale de Sauvignon Blanc

Aminoacizii determinați în probele experimentale de Sauvignon Blanc obținute în anul 2020 au fost următorii: L-glicină, L-alanină, L-valină, L-leucină, L-izoleucină, L-fenilalanină, L-acid aspartic, L-acid glutamic, L-glutamină, L-lizină, L-serină, L-treonină, L-tirozină, L-cisteină, L-prolină, L-triptofan, L-asparagină, L-arginină, L-metionină, L-histidină și L-cistină, inserați în tabelul 5.7 după 12 luni de maturare și în tabelul 5.8 după 18 luni de maturare pe levuri.

L-glicina sau acidul α -aminoacetic, se numește astfel datorită gustului dulce și este obținută prin hidroliza gelatinei. În stare pură poate forma cristale ce se topesc la temperaturi de 230÷260 °C prin descompunere. Este foarte puțin solubilă în etanol și solubilă în apă. Vinurile liniștite prezintă un conținut de 20÷40 mg/L, iar vinurile spumante au un conținut de până la 100 mg/L.

Probele experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc, maturate pe levuri timp de 12 luni în butelii de sticlă au valori ale aminoacidului L-glicină cuprinse între 25,39 mg/L la proba V6SB și 16,56 mg/L la proba V10SB. Valorile cele mai ridicate au fost înregistrate la probele următoare: V6SB de 25,39 mg/L, V4SB de 21,77 mg/L și V5SB de 20,09 mg/L. Aceste probe au fost maturate pe levuri cu produse oenologice ce au conținut mare de aminoacizi, manoproteine, polizaharide și vitamine.

Literatura de specialitate prevede un conținut de până la 400 mg/L L-glicină, deci probele obținute prin etapa de maturare pe levuri nu depășesc această limită. Se observă o scădere a conținutului de L-glicină după 18 luni de maturare pe levuri, cu valori situate între 19,56 mg/L la proba V12SB și 7,8 mg/L la proba V1SB. De asemenea, trebuie menționat faptul că produsele oenologice de maturare conțin și cantități mici de enzime, iar prin proteoliză, etapă în care își desfășoară activitatea enzima β -glucanază, cu capacitatea de a decarboxila aminoacizi, pe lângă alte procese pe care le catalizează.

L-alanina se găsește în vinuri sub două forme izomere, mai exact α -alanină (acid α -aminopropionic) și β -alanină (acid β -aminopropionic). Se găsește sub formă de cristale în stare pură. Prin descompunere, forma α a alaninei se topește la 297 °C, iar forma β la temperaturi de 198 °C. Din acidul piruvic se formează ambele forme ale aminoacidului alanină, dar și prin decarboxilarea acidului aspartic, transaminarea azotului amoniacal. Alanina este necesară în procesul de dezvoltare a bacteriilor lactice, care prin dezaminare formează acidul lactic, un hidroxiacid.

În vinurile liniștite, L-alanina se găsește în cantități cuprinse între 5÷15 mg/L, iar în vinurile spumante se găsește în cantități de până la 40 mg/L (Cotea V.V., 2009). S-au înregistrat valori foarte mari în cazul aminoacidului L-alanină, după o perioadă de 12 luni de maturare pe levuri a probelor experimentale obținute din soiul de struguri Sauvignon Blanc. Cele mai mari valori ale L-alaninei au fost înregistrate la probele V4SB de 147,37 mg/L, V6SB de 129,83 mg/L, V5BB de 118,39 mg/L și V8BB de 105,16 mg/L. După încă 6 luni de maturare pe levuri se observă o scădere a conținutului de L-alanină, astfel valorile sunt cuprinse între 133,87 mg/L la proba V4SB și 91,8 mg/L la proba V1SB. Cele mai mari valori ale conținutului de L-alanină au fost înregistrate la probele V4SB de 133,87 mg/L, V8BB de 123,82 mg/L și V5BB de 120,47 mg/L. Se observă o scădere în cazul probei V4SB și creșteri ale conținutului de L-alanină în

cazul probelor V8SB și V5SB. Scăderea se datorează reacției de decarboxilare a aminoacizilor pe parcursul autolizei și transformarea lor în amine biogene, plus alți compuși cu azot.

L-valina este acidul aminoizovalerianic și apare în vinuri alături de izomerul său norvalină (acidul aminovalerianic). Acest aminoacid se formează prin reacția de transaminare a acidului piruvic. Temperatura de topire a L-valinei este 298 °C, compusul prezintă solubilitate mică în etanol, de aproximativ 0,6 % la temperatura de 25 °C. Pe parcursul procesului de fermentație alcoolică o mare parte din valină este transformată în alcool izobutilic (Cotea V.V., 2009).

Vinurile albe au în compoziția chimică 30 mg/L valină, iar vinurile roșii au un conținut de 50 mg/L valină. Vinurile spumante conțin cantități mai mari, de 100 mg/L valină. Este bine cunoscut faptul că prin maturarea pe levuri, are loc o creștere a conținutului de aminoacizi, datorat procesului de autoliză levuriană, când din celulele de levuri sunt eliberați compuși cu azot, în special proteine, peptide și aminoacizi.

Probele experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc, în anul 2020 au valori cuprinse între 39,55 mg/L la proba V4SB și 26,19 mg/L la proba V7SB L-valină, după doar 12 luni de maturare pe levuri. Se observă o creștere în cazul probelor V4SB, V6SB, V5SB în comparație cu proba martor, V13SB. Creșterea se datorează eliberării aminoacizilor prezenți în preparatele levuriene prin proteoliză. În următoarele șase luni de maturare, au loc scăderi cu privire la conținutul de L-valină, astfel încât acestea variază între 37,27 mg/L la proba V4SB și 17,18 mg/L la proba V6SB.

Valina reprezintă un precursor pentru aroma de mere prezentă în vinuri (aromă conferită de acidul izobutiric și izobutiraldehidă), note fructate (izobutanol), plus note de banane coapte (acetat de izobutil) (Styger ș.a., 2011). Pentru corpul uman, valina reprezintă un aminoacid esențial implicat în multe funcții esențiale și în constituția sistemului muscular.

L-leucina sau acidul γ -aminoizocaproic cu **L-izoleucina** sau acidul γ -amino- β -metilvalerianic se formează prin reacția de transaminare a acidului cetobutiric și într-o măsură mai mică, prin intervenția directă a azotului amoniacal. Ele se găsesc sub formă de niște foițe în stare pură, ce sublimază și au proprietăți fizice distincte. Temperatura de topire a aminoacidului leucină și a izomerului său, izoleucină este de 280 °C, ambele forme prezintă solubilitate mică în apă și insolubilitate în etanol (Cotea V.V., 2009).

Pe parcursul fermentației alcoolice, o parte din leucină se transformă în alcool izoamilic, iar izomerul său în alcool amilic, cu activitate optică. În vinurile albe și roșii se întâlnesc cantități de până la 20 mg/L leucină și 25 mg/L izoleucină, plus urme de hidroxileucină (Țârdea C., 2010).

În cazul probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc, după maturarea pe levuri în butelii de sticlă pe o perioadă de 12 luni, valorile aminoacidului L-leucină sunt cuprinse între 46,72 mg/L în cazul probei V4SB și 31,43 mg/L la proba V12SB, fiind mai mari decât ale izomerului său, L-izoleucină. Acesta are valori cuprinse între 20,05 mg/L la proba V4SB și 12,74 mg/L la proba V12SB. În schimb se observă o corelație între cele două probe, deoarece ambele prezintă valori ridicate ale celor doi aminoacizi după 12 luni de maturare pe levuri, înregistrând ulterior o scădere după încă 6 luni de maturare pe levuri în butelii de sticlă.

Tabelul 5.7/Table 5.7

Aminoacizii identificați în probele experimentale de Sauvignon Blanc după 12 luni de maturare pe levuri
Amino acids identified in experimental samples of Sauvignon Blanc after 12 months of ageing on yeasts

Nr.	Aminoacizi identificați	Unitatea de măsură - mg/L												
		Probe experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc (12 luni de maturare pe levuri)												
		V1SB	V2SB	V3SB	V4SB	V5SB	V6SB	V7SB	V8SB	V9SB	V10SB	V11SB	V12SB	V13SB
1	L-glicină	17,88±0,04	16,73±0,04	17,52±1,22	21,77±0,04	20,09±0,06	25,39±0,06	17,68±0,04	17,86±0,03	17,36±0,05	16,56±0,07	17,64±0,07	17,78±0,05	19,91±0,04
2	L-alanină	102,48±0,06	97,33±0,07	97,71±0,05	147,37±0,07	118,39±0,06	129,83±0,05	104,98±0,09	105,16±0,04	104,38±0,05	93,83±0,04	95,74±0,04	101,98±0,04	101,06±0,03
3	L-valină	28,69±0,03	28,25±0,03	27,16±0,07	39,55±0,05	33,98±0,04	35,94±0,05	26,19±0,06	28,51±0,07	25,6±0,03	27,01±0,03	27,48±0,04	26,58±0,07	29,05±0,06
4	L-leucină	35,99±0,1	35,31±0,09	35,91±0,03	46,72±0,03	38,83±0,04	37,8±0,09	34,29±0,07	33,56±0,04	32,99±0,07	33,57±0,06	34,77±0,06	31,42±0,04	31,53±0,07
5	L-izoleucină	15,46±0,03	15,71±0,07	14,85±0,07	20,05±0,05	17,85±0,05	16,08±0,07	13,58±0,05	13,66±0,04	12,64±0,04	13,22±0,02	13,54±0,04	12,74±0,03	13,75±0,05
6	L-fenilalanină	21,8±0,3	20,4±0,2	21,74±0,04	29,01±0,05	23,93±0,04	27,11±0,03	23,43±0,03	22,76±0,03	21,52±0,03	22,28±0,05	20,91±0,06	21,61±0,08	17,14±0,04
7	L-acid aspartic	23,03±0,04	21,9±0,03	23,62±0,04	28,59±0,03	24,92±0,04	30,33±0,04	23,05±0,05	23,52±0,04	22,46±0,03	21,47±0,03	24,75±0,07	25,72±0,06	19,07±0,05
8	L-acid glutamic	24,1±0,06	24,54±0,1	21,95±0,05	37,06±0,06	28,27±0,03	26,86±0,05	24,49±0,04	23,43±0,05	26,84±0,02	21,15±0,03	24,49±0,05	33,46±0,03	26,22±0,05
9	L-glutamină	14,63±0,07	14,49±0,05	10,8±0,05	14,72±0,04	14,31±0,05	13,97±0,05	12,28±0,03	13,18±0,03	14,46±0,04	10,25±0,04	14,33±0,5	14,31±0,07	24,68±0,04
10	L-lizină	32,11±0,07	29,61±0,05	31,62±0,03	34,68±0,03	33,61±0,05	39,38±0,04	33,45±0,04	32,01±0,05	29,23±0,02	29,64±0,03	28,08±0,04	28,28±0,06	20,58±0,03
11	L-serină	24,35±0,07	24,11±0,04	23,7±0,04	34,83±0,04	30,71±0,08	27,61±0,03	22,22±0,03	21,81±0,03	23,58±0,04	19,67±0,05	23,22±0,05	23,26±0,04	23,5±0,04
12	L-treonină	19,4±0,06	19,43±0,05	22,42±0,03	27,79±0,04	27,82±0,05	25,9±0,03	19,01±0,05	19,74±0,04	18,79±0,04	19,28±0,04	19,12±0,04	18,03±0,03	19,54±0,03
13	L-tirozină	2,48±0,05	2,24±0,04	2,31±0,03	3,77±0,02	3,07±0,05	3,36±0,06	2,47±0,06	2,38±0,03	2,32±0,04	2,15±0,05	2,2±0,05	2,46±0,02	1,77±0,04
14	L-cisteină	1,14±0,02	1,41±0,02	0,87±0,02	0,63±0,02	0,98±0,03	0,99±0,05	0,75±0,02	1,77±0,02	2,79±0,01	3,75±0,03	0,87±0,08	3,43±0,05	2,22±0,04
15	L-prolină	11,46±0,03	9,9±0,05	8,5±0,08	7,97±0,04	10,36±0,04	12,38±0,05	10,66±0,06	9,8±0,06	10,1±0,03	8,01±0,04	8,31±0,04	7,55±0,05	10,74±0,02
16	L-triptofan	3,31±0,03	0,62±0,03	2,71±0,03	4,75±0,04	0,81±0,04	5,33±0,04	4,35±0,03	4,52±0,03	3,95±0,02	2,6±0,05	3,93±0,03	3,84±0,03	2,63±0,03
17	L-asparagină	14,02±0,06	12,67±0,07	13,77±0,02	16,28±0,03	18,69±0,05	17,07±0,03	15,06±0,02	15,07±0,03	13,66±0,02	13,12±0,02	13,78±0,03	14,71±0,03	15,37±0,02
18	L-arginină	18,05±0,05	17,67±0,05	17,81±0,03	22,06±0,02	20,52±0,02	24,86±0,02	19,85±0,07	18,24±0,04	17,69±0,05	17,19±0,03	17,23±0,02	18,45±0,03	13,01±0,05
19	L-metionină	10,72±0,02	10,86±0,03	9,68±0,05	15,69±0,02	12,98±0,03	12,77±0,04	10,22±0,03	9,89±0,03	9,77±0,02	9,26±0,05	10,48±0,02	11,31±0,05	7,89±0,05
20	L-histidină	0,18±0,02	0,19±0,02	0,18±0,02	0,17±0,02	0,19±0,02	0,2±0,02	0,18±0,02	0,18±0,02	0,18±0,02	0,19±0,02	0,19±0,02	0,19±0,02	0,18±0,02
21	L-cistină	0,19±0,02	0,18±0,02	0,16±0,02	0,23±0,02	0,3±0,02	0,09±0,02	0,15±0,02	0,16±0,02	0,1±0,02	0,11±0,03	0,21±0,03	0,14±0,02	0,18±0,02

Tabelul 5.8/Table 5.8

Aminoacizii identificați în probele experimentale de Sauvignon Blanc după 18 luni de maturare pe levuri
Amino acids identified in experimental samples of Sauvignon Blanc after 18 months of ageing on lees

Nr.	Aminoacizi identificați	Unitatea de măsură - mg/L												
		Probe experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc (18 luni de maturare pe levuri)												
		V1SB	V2SB	V3SB	V4SB	V5SB	V6SB	V7SB	V8SB	V9SB	V10SB	V11SB	V12SB	V13SB
1	L-glicină	7,8±0,04	8,55±0,06	9,69±0,03	13,58±0,02	15,87±0,02	13,41±0,06	10,07±0,04	15,68±0,04	14,87±0,02	12,68±0,03	15,10±0,05	19,56±0,04	20,45±0,03
2	L-alanină	91,8±0,3	98,99±0,06	106,85±0,05	133,87±0,02	120,47±0,02	107,12±0,05	112,63±0,04	123,82±0,03	110,48±0,02	105,17±0,05	110,27±0,04	112,06±0,05	102,82±0,03
3	L-valină	25,51±0,05	28,52±0,04	27,31±0,04	37,27±0,03	31,35±0,04	17,18±0,03	18,49±0,03	29,66±0,02	28,34±0,05	26,73±0,03	30,61±0,04	30,61±0,06	28,13±0,05
4	L-leucină	16,87±0,01	19,70±0,05	19,32±0,04	14,01±0,07	21,84±0,03	18,10±0,4	18,55±0,05	12,55±0,2	15,68±0,02	12,12±0,02	21,38±0,02	31,43±0,04	11,46±0,03
5	L-izoleucină	17,96±0,04	18,73±0,04	19,07±0,03	13,92±0,05	23,45±0,04	18,43±0,03	19,17±0,02	11,37±0,02	18,23±0,03	10,13±0,02	22,04±0,04	13,85±0,05	9,50±0,02
6	L-fenilalanină	16,94±0,04	18,13±0,04	18,66±0,03	23,50±0,05	19,58±0,02	18,54±0,3	19,54±0,04	17,22±0,03	18,02±0,03	16,27±0,03	18,22±0,03	19,48±0,02	19,86±0,4
7	L-acid aspartic	9,13±0,03	6,61±0,05	9,82±0,04	19,33±0,02	17,58±0,04	15,85±0,05	18,72±0,05	25,65±0,05	24,86±0,03	24,25±0,05	22,97±0,04	21,42±0,05	26,42±0,03
8	L-acid glutamic	30,37±0,05	31,34±0,5	29,31±0,08	40,02±0,05	30,61±0,03	29,86±0,03	30,36±0,03	26,98±0,04	29,26±0,03	19,77±0,02	17,98±0,05	23,97±0,02	22,50±0,2
9	L-glutamină	8,13±0,04	7,65±0,05	16,16±0,03	20,25±0,03	3,09±0,05	9,30±0,03	11,91±0,03	23,91±0,05	23,65±0,05	13,99±0,05	17,18±0,03	23,08±0,03	10,30±0,3
10	L-lizină	32,98±0,05	32,26±0,02	33,71±0,05	40,05±0,05	36,18±0,02	0,08±0,03	17,49±0,04	32,76±0,03	34,38±0,05	32,08±0,04	35,91±0,04	36,45±0,02	35,74±0,04
11	L-serină	15,55±0,05	12,67±0,5	13,71±0,05	25,75±0,05	21,90±0,4	19,21±0,04	24,51±0,04	24,35±0,02	21,98±0,04	20,90±0,4	17,07±0,04	21,85±0,02	22,53±0,03
12	L-treonină	31,41±0,04	34,83±0,03	39,61±0,05	46,74±0,04	39,26±0,04	41,19±0,05	39,85±0,05	46,46±0,03	44,33±0,04	41,61±0,05	41,38±0,05	34,04±0,04	41,62±0,05
13	L-tirozină	5,83±0,05	5,98±0,2	5,25±0,05	7,8±0,04	5,98±0,03	2,91±0,04	3,09±0,04	5,47±0,03	4,84±0,03	4,44±0,03	4,65±0,05	5,05±0,05	4,60±0,03
14	L-cisteină	0,12±0,03	0,39±0,04	0,57±0,03	0,02±0,03	0,05±0,04	0,14±0,04	2,39±0,03	1,25±0,05	0,45±0,05	1,90±0,04	0,65±0,02	0,86±0,03	0,79±0,04
15	L-prolină	85,84±0,02	92,91±0,04	96,28±0,03	97,37±0,02	90,58±0,03	115,21±0,03	112,85±0,05	108,64±0,04	100,89±0,03	101,86±0,03	107,61±0,04	108,69±0,03	112,12±0,3
16	L-triptofan	0,56±0,03	0,03±0,03	0,05±0,05	0,08±0,02	0,02±0,03	0,08±0,04	0,15±0,05	0,05±0,02	0,02±0,02	0,06±0,02	0,14±0,02	0,2±0,03	0,5±0,05
17	L-asparagină	12,94±0,03	10,55±0,05	10,00±0,02	17,61±0,02	14,42±0,02	13,35±0,02	12,90±0,04	15,37±0,02	14,23±0,03	13,87±0,02	12,52±0,03	138,14±0,04	14,07±0,03
18	L-arginină	13,70±0,4	13,32±0,02	14,14±0,04	21,61±0,04	17,04±0,04	5,72±0,03	6,53±0,02	15,89±0,01	13,97±0,02	10,45±0,05	10,46±0,02	9,58±0,03	7,58±0,02
19	L-metionină	2,52±0,03	2,49±0,03	2,83±0,02	3,87±0,02	2,80±0,02	1,1±0,02	1,88±0,02	3,70±0,05	4,22±0,05	8,28±0,04	8,55±0,05	9,42±0,03	11,19±0,04
20	L-histidină	1,33±0,04	1,45±0,05	1,75±0,02	1,87±0,03	1,49±0,03	0,71±0,04	0,45±0,05	0,89±0,02	0,63±0,05	0,74±0,04	0,43±0,03	0,75±0,05	0,41±0,04
21	L-cistină	0,6±0,3	1,08±0,03	0,55±0,05	0,93±0,03	0,95±0,02	0,19±0,02	0,28±0,03	0,27±0,03	0,37±0,03	0,21±0,03	0,20±0,05	0,29±0,03	1,07±0,02

Aminoacidul leucină reprezintă un aminoacid esențial și are un rol important în echilibrul energetic al celei musculare. Este implicat în procesul de vindecare a rănilor (Gröber U., 2010). În vin, leucina este un precursor al notelor fructate (Styger G., Prior B., Bauer F.F., 2011), note de nuci (conferite de izovaleraldehidă), nuanțe de brânză și fructe râncede, putrezite (acidul izovaleric), nuanțe de banane și pere coapte (oferite de esteri izopentilici ai acidului acetic).

Izoleucina este un aminoacid esențial pentru organismul uman. Servește ca sursă endogenă de energie în fazele de dezvoltare ale celulelor și are rol de a regla activitatea unor hormoni din organism, cum ar fi stimularea eliberării de insulină și a hormonului de creștere, somatotropină. O deficiență de izoleucină duce la slăbiciune și spasme la nivelul musculaturii.

În vinuri, izoleucina reprezintă un precursor al acidului gras 2-metilbutiric ce oferă note fructate și a compusului 2-metilbutanoat de etil cu note dulci de ananas. L-izoleucină din probele experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc în anul 2020, după 18 luni de maturare pe levuri prezintă valori cuprinse între 23,45 mg/L la V5SB și 9,50 mg/L la proba martor, V13SB. Se observă o creștere în cazul probei V5SB după maturarea pe levuri, datorată utilizării unui preparat bogat în manoproteine, compuse din manoză legate de proteine, prezente în peretele celular de levuri.

L-fenilalanina sau acidul β -fenil- α -aminopropionic este puțin solubil în etanol și apă. În stare pură, se prezintă sub formă de foițe ce se descompun la 283 °C. Aminoacidul fenilalanină trece prin procesul de decarboxilare și formează amina biogenă feniletilamină.

Precursorul acidului feniletilic este fenilalanina. Acidul feniletilic reprezintă o substanță care imprimă vinurilor aromă de miere. Atunci când strugurii provin din recolte avariate, fenilalanina este degradată la alcool vanilic, de microorganisme din genul *Penicillium*. Aminoacidul se sintetizează din plante, prin intermediul acidului shikimic, iar prin oxidare trece în L-tirozină (Berg J.B., ș.a., 2003). În vinuri, aminoacidul L-fenilalanină poate ajunge la cantități de 150 mg/L (Cotea V. V., 2009).

În probele experimentale de Sauvignon blanc, cele mai mari valori ale L-fenilalanină sunt în cazul probelor V4SB (29,01 mg/L), V6SB (27,11 mg/L) și V5SB (23,93 mg/L) după 12 luni de maturare cu produse oenologice ce au un conținut ridicat de manoproteine și aminoacizi, ce trec prin autoliză enzimatică în vinuri. După încă 6 luni de maturare, se observă o ușoară scădere a valorilor de L-fenilalanină în cazul probelor V4SB (23,50 mg/L), V5SB (19,58 mg/L) și V6SB (18,54 mg/L). O parte din fenilalanină trece prin oxidare în L-tirozină, de unde se observă o creștere a cantității acestui aminoacid, cum putem observa în tabelul 5.7 și în tabelul 5.8. De asemenea scăderea este în corelație cu creșterea conținutului de feniletilamină, deci încă o parte din fenilalanină trece prin decarboxilare în amină biogenă.

L-acidul aspartic (acid asparagic) sau acidul α -aminosuccinic, reprezintă un aminoacid sintetizat de levuri prin reacția de aminare a acidului succinic. De asemenea, acidul asparagic poate fi obținut și prin procesul enzimatic de transaminare dintre acidul succinic și acidul glutamic. La fel ca și ceilalți aminoacizi, în stare pură se prezintă tot sub forme de foițe, topite la temperatura de 270 °C. Prezintă solubilitate în apă și insolubilitate în etanol.

Acidul aspartic este o sursă bună de azot pentru levuri și nu este un aminoacid esențial pentru corpul uman. Cele mai mari valori ale acidului aspartic au fost înregistrate în cazul

probelor V6SB de 30,33 mg/L, V4SB de 28,59 mg/L, V12SB de 25,72 mg/L, plus proba V5SB de 24,92 mg/L după 12 luni de maturare pe levuri. Se observă o scădere la aceste probe după încă 6 luni de maturare pe levuri, datorată faptului că este consumat de levuri, fiind o sursă de azot importantă. În cazul probelor V1SB, V2SB, V3SB, valorile variază astfel: de la 23,03 mg/L la 9,13 mg/L, de la 21,9 mg/L la 6,61 mg/L, de la 23,62 mg/L la 9,82 mg/L acid aspartic în următoarele 6 luni de maturare în butelii de sticlă.

L-acid glutamic se prezintă ca o pulbere cristalină în stare pură și prin expunerea la temperaturi de 225 °C se topește cu descompunere. Este cunoscut și ca acid α -amino-2-pentandioic sau acid α -amino-2-glutaric. Prezintă solubilitate în etanol și apă. Se formează pe baza azotului anorganic și ulterior, prin reacții de transaminare enzimatică se formează alți aminoacizi, precum prolină, ornitină, arginină, citrulină, ulterior reformând acidul ceto-2-glutaric. Similar cu acidul aspartic, acidul glutamic poate stabili o conexiune între metabolismul glucidic și metabolismul proteic (Cotea V.V., 2009).

Acidul glutamic prezintă rol important în metabolismul azotat al levurilor, astfel condiționează asimilarea azotului anorganic (amoniacal) de către acestea. Prin faptul că este metabolizat nu doar de levuri, ci și de bacterii, astfel prin fermentație malolactică scade concentrația acidului glutamic. În timpul procesului de fermentație alcoolică, acidul glutamic prin asociere cu cisteină și glicocol formează glutatationul, o tripeptidă. În același timp, acidul glutamic reprezintă baza formării a diverși compuși, săruri și esteri care intensifică totalitatea senzațiilor olfactive, gustative și tactile. Glutamatul de sodiu din alimente reprezintă sarea și esterul acidului glutamic, care imprimă rotunjime și intensifică aromele, de aceea este utilizat ca aditiv alimentar. Glutamatul de dietil imprimă note dulci și amare produselor alimentare. Se găsește în cantități de până la 300 mg/L.

L-acid glutamic se găsește în intervalul 37,06 mg/L, proba V4SB și 21,15 mg/L, proba V10SB, după 12 luni de maturare pe levuri în cazul vinurilor obținute din soiul Sauvignon blanc. Maturarea pe levuri s-a realizat cu preparate constituite din levuri și în principal din manoproteine, aminoacizi, polizaharide, prezente în diverse concentrații. Prin procesul de autoliză desfășurat în cadrul acestei etape tehnologice de obținere a probelor experimentale au loc descompuneri enzimatice a mai multor compuși prezenți în celulele de levuri, printre care acidul ribonucleic. Acesta conține în molecula sa acid glutamic, astfel prezența sa conferă vinurilor gustul și aroma de umami. Cu toate că există puține referințe despre senzația umami, vinul reprezintă un produs alimentar ce posedă un ridicat potențial de dezvoltare a gustului umami pe parcursul procesului de vinificație, cu referire la etapa de maturare a vinurilor, desfășurată pe sedimentul de levuri (Klosse P., 2013).

În cazul probelor experimentale, se observă o creștere mare după 18 luni de maturare pe levuri. Cele mai mari valori sunt înregistrate la probele V4SB de 40,02 mg/L, V2SB de 31,34 mg/L, V5SB de 30,61 mg/L, V1SB de 30,37 mg/L. Deci, prin tehnica specifică de maturare aplicată, „*bâtonnage*” și eliberarea de nucleotide, are loc eliberarea acidului ribonucleic și descompunerea sa ulterioară în diverși aminoacizi, inclusiv acidul glutamic, astfel poate conferi vinurilor gustul umami. Cum s-a raportat în diverse studii, alanina, arginina și acidul glutamic reprezintă cei mai abundenți aminoacizi prezenți în vinuri datorită fermentației alcoolice cu sușe de levuri din genul *Saccharomyces*, specia *Sacch. cerevisiae* și etapei de maturare. Aceasta

contribuie considerabil la creșterea conținutului în vinuri a acestor aminoacizi (Pretorius IS., Bauer F., 2002).

L-glutamina este monoamida acidului glutamic, se dispune ca niște ace în stare pură și se topește la 256 °C. Prezintă solubilitate mică în apă și insolubilitate în etanol. Acest aminoacid este format din amoniac, acid glutamic și glutamat prin combinație cu amoniu în prezența enzimei glutamin-sintetaza codificată de GLN1. Două enzime, glutamin-sintetaza și glutamat-sintetaza au împreună capacitatea de a realiza sinteza netă de glutamat din compușii α -Ketoglutarat și amoniu.

În vin, glutamina se găsește în cantități de până la 250 mg/L. Aminoacidul are importanță pentru organismul uman, prezintă rol esențial în dinamica tranzitului intestinal și asigură buna funcționare a sistemului imunitar. Se găsește în cantități mari în sânge și alte fluide organice. Este prezent în alimente cu conținut mare de proteine, precum carne de vită, produse lactate și ouă. De asemenea, are un rol important în rezistența organismului la efort fizic ridicat, stimulează creșterea masei musculare prin formarea de blocuri proteice noi. Sunt recomandate suplimentele pe bază de L-glutamină, datorită ajutorului pe care îl oferă organismului în reducerea durerilor musculare și îmbunătățirea procesului de refacere a grupelor musculare intens solicitate.

Valorile aminoacidului L-glutamină la probele experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc variază de la 10,30 mg/L la proba V13SB și 23,91 mg/L la proba V8SB. Se remarcă o creștere după 12 luni de maturare pe levuri a conținutului de L-glutamină în comparație cu martorul. După încă 6 luni, valorile au variat între 24,68 mg/L la proba V13SB și 10,8 mg/L la proba V3SB.

L-lizină face parte din grupa acizilor diaminomono-carboxilici și este numit acid diamino-2,6-caproic. Acest aminoacid reprezintă un constituent esențial al proteinelor și se găsește în stare solidă, în formă pură și prin descompunere la 224 °C se topește. Aminoacidul este solubil în apă și etanol.

Majoritatea conținutului de lizină rezultă în vin din metabolismul levurii, dar nu este preferat ca o sursă de azot de către specia *Sacch. cerevisiae* (Mandl K. ș.a., 2017).

Cercetările au raportat un conținut al vinurilor de 250 mg/L lizină. Probele experimentale, după 18 luni de maturare pe levuri au valori cuprinse între 40,05 mg/L la proba V4SB și 20,58 mg/L la proba V13SB. Cele mai mari valori au fost înregistrate la probele V6SB (39,38 mg/L), V4SB (34,68 mg/L), V5SB (33,61 mg/L), V7SB (33,45 mg/L) și V8SB (32,01 mg/L), care au fost tratate cu produse oenologice de maturare ce au pe lângă pereți celulari de levuri inactivate și un conținut mare de polizaharide, manoproteine în cazul produselor administrate probelor V4SB, V5SB, V7SB, un conținut de aminoacizi în cazul produsului administrat probei V6SB, plus un amestec de PVI/PVPP și chitosan în compoziția produsului utilizat la proba V8SB. Valorile prezentate mai sus au fost înregistrate la intervalul de 12 luni de maturare pe levuri în butelii de sticlă și inserate în tabelul 5.7.

După încă 6 luni de maturare, are loc o creștere la proba V4SB, ajungând la valoarea de 40,05 mg/L, la proba V5SB de 36,18 mg/L și la proba V8SB de 32,76 mg/L L-lizină, valori ce apar în urma eliberării de aminoacizi din pereții celulari levurieni prin autoliză enzimatică.

În cazul probelor V6SB și V7SB se observă o scădere drastică, mai exact V6SB ajunge de la 39,38 mg/L la 0,08 mg/L lizină și la V7SB de la 33,45 mg/L la 17,49 mg/L lizină.

L-serină rezultă din glicocol prin intermediul acțiunii enzimatică și intervenția formei reduse a acidului folinic. Reprezintă omologul inferior al homoserinei și se prezintă sub formă de cristale, ce se descompun la 228 °C, au gust dulce și se deosebește de homoserină prin temperatura de topire (homoserina se descompune la 203 °C). Este insolubilă în etanol și solubilă în apă. Din acest aminoacid se formează acidul piruvic pe cale enzimatică și este precursorul aminoacidului cistină (Cotea V.V., 2009).

În vin, serina apare în cantități de 50 mg/L și de 130 mg/L în cel spumant. Este aminoacidul esențial pentru dezvoltarea bacteriilor lactice. Valorile aminoacidului L-serină au fost mai mari la probele V4SB de 34,83 mg/L, V5SB de 30,71 mg/L și la proba V6SB de 27,61 mg/L în comparație cu proba martor V13SB care prezintă valoarea de 23,5 mg/L serină. Aceste valori sunt diferite față de proba martor și apar în urma celor 12 luni de contact cu levurile, valori ce înregistrează o scădere după încă 6 luni, astfel V4SB ajunge la valoarea de 25,75 mg/L, V5SB la 21,90 mg/L și V6SB la 19,21 mg/L serină. Creșterea a fost la probele V7SB și V8SB, de 24,51 mg/L, respectiv 24,35 mg/L serină.

Scăderea conținutului de L-serină în cazul probelor experimentale V4SB, V5SB, V6SB a fost datorat creșterii conținutului de etanolamină, sintetizată din acest aminoacid prin decarboxilare enzimatică.

L-treonină sau acidul α -amino- β -hidroxibutiric are în compoziție o grupare alcoolică (–OH). Se prezintă în stare pură sub formă de cristale, care se descompun la 227 °C. Compusul se obține prin sinteza aminoacidului L-acid aspartic, care este solubil în apă și insolubil în etanol. În vin se întâlnește până la 250 mg/L. Nu este un aminoacid esențial în corpul uman.

Valorile aminoacidului L-treonină sunt cele mai mari după intervalul de 12 luni de maturare la probele experimentale V5SB de 27,82 mg/L, V4SB de 27,79 mg/L, V6SB de 25,9 mg/L și V8SB de 19,74 mg/L în comparație cu martorul V13SB, care are valoarea de 19,54 mg/L. Valorile au fost mai mari la probele tratate cu produse oenologice ce prezintă un conținut ridicat de manoproteine și aminoacizi. Se observă o creștere foarte mare în ceea ce privește cantitatea de L-treonină în cazul tuturor probelor experimentale în urma perioadei de 18 luni de contact cu levurile în butelii de sticlă, valori ce ajung la 46,74 mg/L la V4SB, 46,46 mg/L la V8SB, 44,33 mg/L la V9SB și 41,61 mg/L la proba V10SB.

Autori au identificat valori mari în vinuri imediat după fermentația alcoolică, datorită multiplicării levurilor, consumului de zaharuri și metabolizarea acestora în alcool etilic, dar și la vinurile maturate pe levuri, care autolizează în prezența propriilor enzime. Treonina reprezintă al cincilea cel mai abundent aminoacid identificat în vin după acidul glutamic.

L-tirozină sau acidul β -(p-hidroxifenil)- α -aminopropionic este un compus ce participă activ la procesul enzimatic de formare a compusului melanină cu importanță oenologică. În stare pură este dispus sub formă de ace, ce se descompun la 318 °C. Prezintă solubilitate redusă în etanol și apă. Compusul este consumat de bacterii în etapa de fermentație malolactică. În vin prezintă valori de maximum 100 mg/L. În urma etapei de decarboxilare enzimatică se transformă în tiramină (Cotea V. V., 2009).

Probele experimentale de Sauvignon blanc au valori mici ale L-tirozinei, ce sunt cuprinse între 3,77 mg/L la V4SB și 1,77 mg/L la V13SB. Se observă o creștere după etapa de

maturare pe levuri, valorile mai mari fiind la probele V4SB de 7,80 mg/L, V5SB de 5,98 mg/L, V1SB de 5,83 mg/L și V8SB de 5,47 mg/L după 18 luni.

Tirozina rezultă din fenilalanină prin reacții de hidroxilare și este precursorul compusului tirosol. Cercetările din domeniu au evidențiat creșteri ale aminoacidului în a doua etapă a fermentației alcoolice și în etapa de maturare pe levuri (Mandl K. ș.a., 2017).

L-cisteină sau acidul α -amino- β -tiopropionic se prezintă în stare pură ca o pulbere cristalină, topită la 225 °C, solubilă în apă. Aminoacidul L-cisteină se asimilează bine de către bacterii și levuri, dar nu are o contribuție majoră la creșterea biomasei acestora. În vin se găsește sub formă de urme, deoarece pe parcursul propriului proces de formare condensează în cistină. Condensarea este favorizată de prezența ionilor metalici de fier și cupru.

Cisteina reprezintă unul dintre cei mai remarcabili aminoacizi din punct de vedere chimic. Funcția tiol din molecula cisteinei, realizată de lanțul lateral, este potrivită pentru a forma unități dimere ce conduc la apariția de punți sulfuroase și disulfuroase în structura terțiară a proteinelor. Prezența cisteinei în must și vin este variabilă, aceasta poate fi într-o proporție mai mică sau mai mare metabolizată de microorganisme. Cercetările cu privire la conținutul de aminoacizi din vin, sunt importante datorită implicării pe care o are în special cisteina în geneza aromelor din vin. S-a evidențiat faptul că cisteina este responsabilă de aroma varietală a soiului Sauvignon Blanc (Tominaga T., ș.a., 1998). Compușii de aromă s-au găsit în mustul obținut din Sauvignon blanc sub forma precursorilor conjugați de S-cisteină. Degradarea cisteinei conduce la apariția unor molecule mici foarte reactive de amoniac, etanal și hidrogen sulfurat.

Probele experimentale de Sauvignon blanc au valori mici ale cisteinei, cele mai mari fiind la probele V10SB de 3,75 mg/L, V12SB de 3,43 mg/L după doar 12 luni de maturare pe levuri, ulterior se observă o scădere în cazul tuturor probelor inserate în tabelul 5.8.

L-prolină se găsește în cantități de 400 mg/L în vin. Se găsește sub formă de ace în stare pură, se descompune la 215 °C, prezintă solubilitate în apă și etanol. Prolina reprezintă cel mai abundent aminoacid din strugurii, dar este și cel mai puțin consumat, uneori chiar deloc de către microorganisme.

Arginina, acidul aspartic, leucina, izoleucina, lizina, serina, treonina, metionina și asparagina reprezintă surse preferențiale pentru levurile *Saccharomyces cerevisiae*. Dintre aminoacizii ce au în molecula lor radical fenil, precum tirozină, triptofan și fenilalanină se pot consuma, dar mai puțin de către microorganisme (Álvarez-Fernández M.A. ș.a., 2020). Prolina și arginina sunt neconsumate de către levuri pe parcursul fermentației alcoolice desfășurate în condiții anaerobe. L-prolina se găsește în cantități mai mari în vin decât în must și acest lucru este posibil datorită cataboliților azotului, cu capacitate de a inhiba prolina, datorită aportului limitat de oxigen molecular care este esențial pentru desfășurarea activității enzimatică a prolinoxidazei (Valero E. ș.a., 2003). Mai mult de atât, arginina inhibă utilizarea prolinei de către levuri (Nishimura A. ș.a., 2020). După încheierea procesului de fermentație alcoolică, levurile dezvoltă un metabolism oxidant cu privire la compuși cu carbon prezenți în vin, precum glicerol sau etanol și compușii cu azot, inclusiv L-prolină. Pe durata procesului de maturare, la un moment dat prolina reprezintă singura sursă de azot a levurilor în probele experimentale.

Valorile L-prolină cele mai mari la probele de Sauvignon blanc după 12 luni de maturare pe levuri au fost înregistrate la V6SB de 12,38 mg/L și V1SB de 11,46 mg/L. Aceste

probe au în compoziția lor pe lângă levuri inactivate, cantități mari de polizaharide, respectiv aminoacizi și vitamine. După 18 luni de maturare pe levuri, se observă o creștere mare a conținutului de L-prolină în toate probele experimentale, inclusiv proba martor, V13SB. Probele cu valorile cele mai mari sunt V6SB cu 115,21 mg/L și V7SB cu 112,85 mg/L, acestea fiind maturate cu produse ce prezintă o formulă bogată în levuri inactivate și manoproteine specifice. Creșterea valorilor aminoacidului L-prolină este datorată procesului de autoliză, unde este eliberată din pereții celulari de levuri prin autoliză enzimatică în vin.

L-triptofan face parte din categoria aminoacizilor heterociclici, se prezintă sub formă de cristale, se descompune la temperatura de 289 °C. Este foarte puțin solubil în apă și insolubil în etanol. Se întâlnește în cantități de 15 mg/L în vinuri și face parte din aminoacizii ușor asimilabili de levuri și bacterii. Triptofanul reprezintă precursorul vitaminei B3.

Cele mai mari concentrații ale triptofanului au fost înregistrate la probele V6SB de 5,33 mg/L și V7SB de 4,35 mg/L după 12 luni de maturare în prezența levurilor. La 18 luni de maturare în butelii de sticlă, L-triptofan a înregistrat valori scăzute la toate probele experimentale.

L-asparagina sau amida (β -amida) acidului aspartic reprezintă primul aminoacid ce a fost izolat în anul 1804 în produsele naturale. Se formează prin reacție enzimatică, catalizată de asparagin-sintetaza din acidul aspartic. Se topește la 235 °C și se află în forme de cristale, prezintă un grad de solubilitate mic în apă și etanol. Se întâlnește sub formă de urme în vin, rar ajunge la 2 mg/L (Cotea V.V., 2009).

Similar cu L-glicină, în cazul asparaginei, aceleași probe înregistrează valorile cele mai mari, V5SB, V6SB și V4SB în comparație cu proba de control, V13SB. Se observă o creștere în cazul acestor trei probe după 12 luni de maturare pe levuri, de la valoarea 15,37 mg/L asparagină cum e în cazul V13SB (martorul, care nu a fost maturat pe levuri cu produs oenologic) ajung la 18,69 mg/L la V5SB, 17,07 mg/L la V6SB și 16,28 mg/L la V4SB. După 18 luni de maturare, valorile finale se situează între 10,00 mg/L la proba V3SB și 17,61 mg/L la proba V4SB. Se observă o scădere în cazul tuturor probelor obținute din soiul Sauvignon blanc. Conținutul de L-asparagină este dependent de procesul de autoliză și produsul de maturare utilizat, spre exemplu proba V4SB a fost tratată cu un produs ce are un conținut ridicat de polizaharide. Polizaharidele din levuri includ glucani, manani și manoproteine.

L-arginina este unul dintre cei mai importanți compuși azotați în vin. Compusul rezultă din metabolismul levurilor deoarece reprezintă cea mai importantă sursă de azot pentru levuri. Este un aminoacid semiesențial, care trebuie absorbit din alimente.

Reprezintă una dintre sursele de formare a ureei din amoniac în vin. Solubilitatea sa în apă este de 17,6 % și este greu solubilă în etanol. Se prezintă sub formă de foițe, iar în vin atinge valori de 150 mg/L și în cazul vinului spumant chiar de 300 mg/L.

Este indispensabilă procesului de dezvoltare a bacteriilor lactice, de aceea prin fermentație malolactică poate să dispară în totalitate. Prin etapa de maturare pe levuri, aminoacidul L-arginină are valorile cele mai mari în cazul probelor V6SB de 24,86 mg/L, V4SB de 22,06 mg/L și V5SB de 20,52 mg/L, după care înregistrează o scădere, ajungând la 5,72 mg/L la proba V6SB, 21,61 mg/L la V4SB și 17,04 mg/L la proba V5SB. Scădere în cazul tuturor probelor se explică prin faptul că levurile folosesc L-arginina în activitatea metabolică.

L-metionină sau acidul α -amino- γ -metil-tiobutiric se formează din acid aspartic și homoserină. Este insolubilă în etanol și solubilă în apă. În vin atinge valori de până la 5 mg/L. Reprezintă unul dintre aminoacizi cei mai puțin asimilabili de către levuri, însă este indispensabilă în dezvoltarea bacteriilor lactice. Metionina prezintă o importantă capacitate antioxidantă, cu funcție esențială în procesele metabolice.

Probele experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc în 2020, au înregistrat cele mai mari cantități de L-metionină la probele V4SB (15,69 mg/L), V5SB (12,98 mg/L) și V6SB (12,77 mg/L) după etapa de maturare pe levuri în butelii de sticlă. Proba V4SB ajunge la 3,87 mg/L metionină la intervalul de 18 luni de maturare. Se înregistrează o scădere a valorilor în cazul tuturor probelor experimentale.

L-histidină se găsește în vin până la 20 mg/L, rar atinge 100 mg/L. O întâlnim sub formă de cristale, care se descompun prin topire la 286 °C. Prin procesul de decarboxilare formează histamină, în special în prezența bacteriilor.

Biosinteza histidinei la struguri este strâns legată de biosinteza nucleotidelor. Histidina poate acționa și ca precursor al triptofanului. Pentru biosinteza histidinei, acidul glutamic și glutamina activează ca donatori de azot (Galili G. ș.a., 2016).

În etapa de fermentație alcoolică, o parte din histidina prezentă în must se transformă în histaminol în prima fază a procesului biochimic, atunci când etanolul atinge 5 % vol. (López-Rituerto E., 2013).

Histidina se găsește în cantități foarte mici în probele experimentale de Sauvignon blanc după 12 luni de maturare pe levuri în butelii de sticlă. O ușoară creștere se observă după perioada de 18 luni, astfel încât cele mai mari valori au fost la probele V4SB de 1,87 mg/L, V3SB de 1,75 mg/L, V5SB de 1,49 mg/L histidină.

L-cistină este un dimer al cisteinei, format prin unirea celor două molecule de cisteină la nivelul grupelor tiolice. Se descompune la temperaturi de 258÷261 °C. În vin are valori de până la 20 mg/L și are importanță în schimbările apărute în potențialul oxido-reducător al vinurilor.

În cazul probelor experimentale de Sauvignon Blanc, L-cistină apare în cantități foarte mici după maturarea pe levuri, de până la 0,93 mg/L, cum e cazul probei V4SB.

Determinarea aminoacizilor din probele experimentale de Busuioacă de Bohotin

Cei mai comuni aminoacizi identificați în vin sunt următorii: prolină, alanină, glicină, arginină, acidul glutamic, glutamină, acidul aspartic, treonină, serină, metionină, fenilalanină. Influența diferitelor tratamente oenologice și etape tehnologice asupra nivelurilor de aminoacizi din vin prezintă interes pentru cercetători. Efectul pe care îl au produsele oenologice de maturare asupra compoziției fizico-chimice ale vinurilor, inclusiv conținutul de aminoacizi necesită mai multe cercetări. Trebuie acordată o importanță deosebită noțiunii de *terroir* și influenței pe care o are asupra conținutului de aminoacizi. În acest caz, evoluția a 21 de aminoacizi a fost urmărită pe parcursul a 12 luni, respectiv 18 luni de maturare pe levuri cu diverse produse oenologice, în doze diferite și compoziții apropiate, dar diferențiate prin conținutul specific de macromolecule.

Valorile aminoacizilor determinate după etapa de maturare pe levuri la vinurile obținute din soiul Busuioacă de Bohotin au fost inserate în tabelul 5.9 după 12 luni de maturare pe levuri, respectiv în tabelul 5.10 după perioada de 18 luni.

L-glicină are valorile cele mai mari la probele experimentale V5BB (30,01 mg/L), V4BB (24,98 mg/L) și V8BB (23,64 mg/L) după perioada de 12 luni de maturare pe levuri. Valorile tuturor probelor sunt în concordanță cu literatura de specialitate, se raportează un conținut de cel mult 40 mg/L glicină. Se observă o scădere în următoarele 6 luni, spre exemplu V5BB de la 30,01 mg/L la 23,67 mg/L glicină, V4BB de la 24,98 mg/L la 10,14 mg/L glicină și V8BB scade până la 12,94 mg/L glicină. Scăderea valorilor în următoarea perioadă este datorată activității enzimei β -glucanaza de pe parcursul autolizei. Aceasta catalizează reacții de decarboxilare a aminoacizilor. De asemenea, se poate datora și reacțiilor de dezaminare și altor reacții chimice la care aminoacizi participă într-o oarecare măsură.

L-alanina se formează prin transaminarea azotului amoniacal, prin decarboxilarea acidului aspartic. În cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, 2020, aminoacidul alanină înregistrează cele mai mari valori la probele V5BB (157,98 mg/L), V4BB (114,69 mg/L) în comparație cu proba martor, V13BB (101,06 mg/L) care nu a fost tratată cu nici un produs de maturare.

Alanina reprezintă una dintre cele mai importante surse de azot pentru levuri. Valorile înregistrate după cele 12 luni de maturare pe levuri în butelii de sticlă sunt mari la toate probele experimentale, însă în următoarele 6 luni se observă o scădere la probele V5BB de la 157,98 mg/L la 29,40 mg/L și V4BB de la 114,69 mg/L la 24,74 mg/L alanină. Deci, levurile utilizează alanina ca sursă de azot, drept urmare apar variații ale conținutului de alanină. Probele experimentale V1BB și V2BB înregistrează creșteri ale valorilor de L-alanină, în cazul probei V1BB de la 75,74 mg/L la 104,83 mg/L și probei V2BB de la 92,37 mg/L la 109,57 mg/L. Aceste variații ale valorilor se datorează procesului de autoliză levuriană și trecerii manoproteinelor existente în produsele oenologice de maturare în aminoacizi.

L-valină prezintă valori cuprinse între 52,09 mg/L la proba V6BB și 29,05 mg/L la proba V13BB. După 12 luni de maturare pe levuri, probele V6BB, V5BB și V11BB înregistrează cele mai mari valori, respectiv 52,09 mg/L, 42,05 mg/L și 31,39 mg/L valină. Creșterea este datorată etapei de maturare pe levuri cu produse oenologice cu conținut de manoproteine (V5BB), vitamine, aminoacizi (V6BB), peptide și polizaharide (V11BB). La aceste probe urmează o scădere după încă 6 luni de maturare pe levuri, la proba V6BB valoarea valinei ajunge la 19,28 mg/L, la proba V5BB la 28,38 mg/L și la proba V11BB la 30,97 mg/L.

După 18 luni de maturare pe levuri, cele mai mari valori sunt în cazul probelor V2BB de 31,29 mg/L și V1BB de 31,16 mg/L valină, ceea ce nu coincide cu literatura de specialitate, în schimb prezența diverșilor compuși cu azot în compoziția produselor oenologice de maturare duc la creșterea valorilor. Procesul enzimatic de autoliză face posibilă eliberarea compușilor cu azot în vin.

Tabelul 5.9/ Table 5.9

Aminoacizii identificați în probele experimentale de Busuioacă de Bohotin după 12 luni de maturare pe levuri
 Amino acids identified in experimental samples of Busuioaca de Bohotin after 12 months of ageing on yeasts

Nr.	Aminoacizi identificați	Unitatea de măsură - mg/mL												
		Probe experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin (12 luni de maturare)												
		V1BB	V2BB	V3BB	V4BB	V5BB	V6BB	V7BB	V8BB	V9BB	V10BB	V11BB	V12BB	V13BB
1	L-glicină	18,58±0,04	18,25±0,05	18,17±0,03	24,98±0,04	30,01±0,04	18,91±0,04	18,12±0,04	23,64±0,02	16,95±0,05	18,46±0,02	20,82±0,03	19,5±0,05	19,91±0,05
2	L-alanină	75,74±0,02	92,37±0,04	94,79±0,05	114,69±0,05	157,98±0,04	95,72±0,02	89,52±0,05	86,6±0,07	93,03±0,06	91,66±0,05	88,56±0,02	88,04±0,04	101,06±0,03
3	L-valină	31,05±0,05	30,46±0,04	30,46±0,04	30,89±0,05	42,05±0,5	52,09±0,03	30,09±0,05	30,36±0,05	29,79±0,05	31,21±0,09	31,39±0,03	30,02±0,07	29,05±0,07
4	L-leucină	27,39±0,05	31,34±0,05	31,43±0,05	35,69±0,05	48,33±0,05	32,55±0,07	27,31±0,1	32,16±0,09	28,3±0,05	33,03±0,05	34,31±0,04	31,97±0,4	31,53±0,05
5	L-izoleucină	14,91±0,2	14,63±0,04	15,11±0,04	20,75±0,05	24,84±0,03	15,47±0,02	15,57±0,05	14,12±0,03	14,18±0,02	15,01±0,04	15,09±0,05	14,24±0,04	13,75±0,05
6	L-fenilalanină	15,56±0,04	16,39±0,05	16,54±0,07	23,34±0,03	28,53±0,07	17,21±0,04	17,99±0,07	17,14±0,02	16,3±0,05	16,86±0,07	18,61±0,09	16,56±0,02	17,14±0,6
7	L-acid aspartic	17,57±0,02	20,14±0,04	18,22±0,03	28,16±0,03	28,02±0,06	18,9±0,04	19,69±0,04	22,65±0,05	21,01±0,04	22,55±0,05	20,81±0,05	20,81±0,03	19,07±0,04
8	L-acid glutamic	24,59±0,5	28,08±0,07	29,06±0,02	37,69±0,05	42,9±0,04	30,14±0,03	32,21±0,03	31,65±0,02	32,13±0,03	25,29±0,05	27,43±0,03	23,55±0,07	26,22±0,03
9	L-glutamină	18,42±0,09	23,43±0,6	24,6±0,05	26,43±0,04	29,08±0,05	20,07±0,06	23,53±1,2	31,78±0,04	28,63±0,06	21,94±0,05	25,51±0,04	24,26±0,02	24,68±0,02
10	L-lizină	21,31±0,04	22,05±0,05	23,08±0,03	28,68±0,02	38,43±0,03	23,4±0,04	23,25±0,05	21,47±0,04	20,87±0,06	22,43±0,05	22,3±0,05	21,43±0,02	20,58±0,02
11	L-serină	20,78±0,04	22,08±0,02	20,83±0,04	32,21±0,06	34,49±0,04	18,97±0,04	19,57±0,05	24,01±0,04	22,83±0,03	21,89±0,05	23,94±0,04	21,83±0,03	23,5±0,05
12	L-leonină	22,05±0,05	22,95±0,05	19,02±0,05	31,41±0,06	36,81±0,04	19,15±0,03	22,52±0,02	20,88±0,02	20,32±0,03	23,4±0,05	21,28±0,03	20,7±0,05	19,53±0,06
13	L-tirozină	1,6±0,02	1,55±0,05	1,57±0,03	2,96±0,04	3,58±0,03	1,69±0,03	1,77±0,02	1,78±0,05	1,84±0,04	1,71±0,04	1,6±0,05	1,65±0,05	1,77±0,04
14	L-cisteină	3,5±0,05	5,76±0,04	9,62±0,02	4,52±0,02	6,33±0,03	4,37±0,04	6,29±0,03	10,88±0,04	6,07±0,03	6,01±0,04	5,63±0,02	3,43±0,06	2,22±0,03
15	L-prolină	13,86±0,02	11,48±0,02	12,4±0,07	11,1±0,02	13,67±0,06	12,54±0,06	10,73±0,04	9,67±0,05	10,27±0,04	12,02±0,04	12,29±0,03	9,36±0,04	10,73±0,02
16	L-triptofan	1,11±0,05	2,94±0,04	3,08±0,04	4,29±0,05	5,48±0,03	2,22±0,06	3,2±0,05	3,49±0,08	2,94±0,05	2,94±0,04	3,23±0,04	2,45±0,02	2,63±0,03
17	L-asparagină	17,22±0,05	17,48±0,03	17,97±0,05	19,88±0,06	23,03±0,02	16,14±0,04	16,72±0,5	14,89±0,04	16,56±0,03	16,86±0,06	15,25±0,05	14,38±0,07	15,37±0,03
18	L-arginină	13,84±0,04	15,11±0,05	14,81±0,05	19,94±0,04	25,68±0,02	15,06±0,06	14,82±0,05	13,55±0,05	12,9±0,4	13,49±0,02	14,19±0,02	14,86±0,04	13,01±0,04
19	L-metionină	6,05±0,05	8,74±0,04	8,4±0,06	11,63±0,03	15,78±0,03	7,92±0,03	8,52±0,02	8,51±0,01	9,42±0,02	7,64±0,02	8,6±0,04	8,3±0,06	7,9±0,02
20	L-histidină	0,18±0,03	0,18±0,02	0,18±0,02	0,19±0,02	0,22±0,05	0,17±0,02	0,17±0,02	0,17±0,02	0,17±0,03	0,19±0,02	0,19±0,05	0,17±0,03	0,18±0,02
22	L-cistină	0,06±0,04	0,1±0,01	0,08±0,04	0,13±0,03	0,19±0,03	0,08±0,03	0,1±0,02	0,04±0,02	0,05±0,04	0,14±0,02	0,11±0,02	0,12±0,03	0,18±0,03

Tabelul 5.10/ Table 5.10

Aminoacizii identificați în probele experimentale de Busuioacă de Bohotin după 18 luni de maturare pe levuri
 Amino acids identified in experimental samples of Busuioaca de Bohotin after 18 months of ageing on yeasts

Nr.	Aminoacizi identificați	Unitatea de măsură - ng/mL												
		Probe experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin (18 luni de maturare)												
		V1BB	V2BB	V3BB	V4BB	V5BB	V6BB	V7BB	V8BB	V9BB	V10BB	V11BB	V12BB	V13BB
1	L-glicină	19,58±0,04	14,53±0,03	15,57±0,05	10,14±0,02	23,67±0,02	12,79±0,02	16,64±0,03	12,94±0,04	15,74±0,04	19,31±0,04	24,65±0,05	19,78±0,02	19,13±0,03
2	L-alanină	104,83±0,03	109,57±0,03	98,71±0,04	24,74±0,02	29,40±0,05	13,21±0,02	19,79±0,02	21,03±0,05	21,31±0,04	20,63±0,03	31,63±0,03	21,97±0,02	19,56±0,02
3	L-valină	31,16±0,03	31,29±0,02	28,18±0,05	26,48±0,02	28,38±0,03	19,28±0,02	23,25±0,05	23,70±0,03	25,77±0,02	25,79±0,02	30,97±0,02	22,87±0,03	26,98±0,03
4	L-leucină	17,57±0,02	24,28±0,03	11,11±0,02	14,12±0,03	17,66±0,03	15,28±0,02	17,99±0,5	17,44±0,04	16,66±0,03	17,65±0,02	18,87±0,05	17,86±0,03	3,16±0,02
5	L-izoleucină	18,87±0,04	31,12±0,05	12,55±0,05	12,27±0,03	15,26±0,05	12,75±0,03	15,33±0,03	14,92±0,03	16,42±0,03	16,56±0,03	16,18±0,02	177,92±0,02	16,60±0,03
6	L-fenilalanină	12,69±0,03	13,48±0,03	12,55±0,05	10,80±0,3	12,77±0,03	10,91±0,05	11,25±0,05	12,52±0,03	12,62±0,03	12,74±0,02	13,33±0,03	13,26±0,03	1,63±0,02
7	L-acid aspartic	19,78±0,03	21,93±0,02	20,58±0,02	19,83±0,03	19,39±0,02	12,89±0,05	15,23±0,02	1,32±0,03	14,13±0,02	16,54±0,03	19,17±0,02	18,41±0,02	17,14±0,02
8	L-acid glutamic	20,91±0,04	17,61±0,03	13,25±0,05	8,78±0,02	13,74±0,02	5,33±0,02	5,10±0,05	7,81±0,02	8,37±0,04	16,18±0,02	26,04±0,02	17,94±0,02	17,53±0,02
9	L-glutamină	13,96±0,03	8,32±0,02	9,49±0,02	12,41±0,02	16,42±0,03	5,60±0,02	8,98±0,03	9,97±0,02	12,55±0,05	10,48±0,03	15,30±0,3	9,57±0,03	11,16±0,03
10	L-lizină	23,84±0,04	27,91±0,05	17,29±0,02	20,13±0,02	22,17±0,04	12,41±0,03	14,95±0,02	16,33±0,02	18,20±0,02	18,56±0,02	25,51±0,03	17,88±0,04	21,87±0,02
11	L-serină	19,07±0,03	20,03±0,02	17,48±0,02	23,23±0,02	22,07±0,03	11,51±0,02	12,65±0,02	13,68±0,03	12,57±0,03	13,32±0,03	17,64±0,04	14,33±0,05	14,35±0,02
12	L-treonină	29,32±0,02	39,6±0,03	38,23±0,02	23,78±0,02	39,02±0,05	34,37±0,02	45,03±0,05	41,04±0,04	50,11±0,05	51,99±0,04	83,58±0,03	57,07±0,04	58,4±0,03
13	L-tirozină	4,22±0,02	4,02±0,03	4,00±0,04	4,31±0,09	4,34±0,04	2,7±0,01	3,49±0,02	3,55±0,05	3,52±0,03	3,21±0,03	3,5±0,02	2,75±0,05	2,72±0,02
14	L-cisteină	1,92±0,03	3,56±0,03	3,28±0,03	0,79±0,03	1,39±0,04	1,24±0,02	0,26±0,03	1,01±0,04	3,55±0,05	0,72±0,03	3,4±0,01	0,53±0,03	1,10±0,02
15	L-prolină	117,55±0,05	114,4±0,04	107,3±0,03	57,98±0,03	68,41±0,03	41,41±0,03	44,92±0,02	57,32±0,03	47,61±0,04	51,52±0,03	69,26±0,03	54,9±0,05	51,66±0,04
16	L-triptofan	0,33±0,03	1,99±0,03	1,01±0,04	1,65±0,05	1,63±0,04	0,53±0,03	1,39±0,04	1,94±0,03	1,37±0,04	1,30±0,05	1,87±0,03	0,49±0,05	0,61±0,03
17	L-asparagină	13,9±0,03	16,12±0,02	15,44±0,04	10,57±0,04	9,68±0,02	3,81±0,04	6,85±0,05	6,02±0,05	4,89±0,05	6,88±0,09	7,17±0,02	5,86±0,03	2,47±0,04
18	L-arginină	3,09±0,03	3,33±0,05	1,63±0,05	10,6±0,03	10,10±0,2	5,51±0,05	6,18±0,02	7,22±0,03	6,54±0,04	7,68±0,03	10,35±0,05	7,71±0,04	8,37±0,05
19	L-metionină	6,03±0,04	8,31±0,03	5,70±0,4	8,04±0,02	9,40±0,3	5,75±0,02	7,04±0,03	5,61±0,05	7,77±0,02	7,93±0,03	9,33±0,03	6,99±0,05	7,99±0,05
20	L-histidină	1,00±0,05	0,47±0,05	0,25±0,05	16,80±0,05	9,12±0,03	6,78±0,05	7,61±0,06	3,32±0,03	1,86±0,03	1,47±0,05	2,62±0,04	0,87±0,04	1,81±0,03
21	L-cistină	0,14±0,02	0,48±0,02	0,53±0,03	nd	0,03±0,04	0,12±0,05	0,18±0,05	0,09±0,04	0,02±0,05	0,01±0,04	0,01±0,07	0,04±0,04	0,07±0,02

L-leucină și **L-izoleucină** apar prin reacția de transaminare a acidului cetobutiric. În probele de Sauvignon Blanc, leucina are valori ridicate la probele V5BB (48,33 mg/L), V4BB (35,69 mg/L), V11BB (34,31 mg/L), V10BB (33,03 mg/L), inserate în tabelul 5.9. Isoleucina se remarcă prin valori ridicate la probele experimentale V5BB (24,84 mg/L) și V4BB (20,75mg/L). Aceste valori scad foarte mult pe durata procesului autolitic, datorită preferinței levurilor de a consuma cantități din cei doi aminoacizi.

L-fenilalanină la probele experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin are valorile cele mai mari la probele V5BB (28,53 mg/L) și V4BB (23,34 mg/L) comparativ cu proba V13BB (13,75 mg/L). Însă, se observă o creștere a acestora în perioada următoare, V5BB ajunge la 12,77 mg/L și V4BB la 10,80 mg/L, astfel se explică creșterea conținutului L-tirozină la aceste probe după 18 luni de maturare pe levuri, observată în tabelul 5.10. De asemenea, o parte din L-fenilalanină trece în amina biogenă fenetilamină prin decarboxilare enzimatică.

L-acid aspartic (acid asparagic) apare în vinuri prin capacitatea de sinteză a levurilor. Acesta reprezintă o sursă bună de azot pentru levuri. Valorile cele mai mari apar la probelor V4BB (28,16 mg/L), V5BB (28,02 mg/L) și V8BB (22,65 mg/L), prin utilizarea de produse oenologice de maturare ce au pe lângă levuri inactivate și cantități de manoproteine (în cazul produselor utilizate la probele V4BB și V5BB), chitosan și un amestec de PVI/PVPP (produsul utilizat la proba V8BB). Datorită utilizării acidul aspartic ca sursă de azot de către levuri, se înregistrează o scădere în cazul tuturor probelor, cea mai mare fiind înregistrată la proba V8BB, ajungând chiar la 1,32 mg/L acid aspartic.

L-acid glutamic reprezintă baza formării acidului succinic. Esterul și sarea de acid glutamic este glutamatul prezent în alimente și responsabil de gustul umami. Glutamatul de sodiu este folosit adesea ca aditiv alimentar cu rol de a intensifica aromele, iar organismul poate forma acidul glutamic.

În probele de Busuioacă de Bohotin obținute în anul 2020, L-acid glutamic are cele mai mari valori la probele V5BB (42,9 mg/L), V4BB (37,69 mg/L), V7BB (32,21 mg/L) și V9BB (32,13 mg/L) după 12 luni de maturare pe levuri. Produsele utilizate la etapa de maturare pe levuri, pe lângă levuri inactivate, au un conținut ridicat și de polizaharide (produsele utilizate la probele V4BB și V9BB), manoproteine (produsele administrate la probele V5BB, V7BB). Se observă o scădere la aceste probe, valorile fiind la V5BB de 13,74 mg/L, V4BB de 8,78 mg/L, V7BB de 5,10 mg/L și V9BB de 8,37 mg/L acid glutamic.

L-glutamină are valori cuprinse între 29,08 mg/L la proba V5BB și 18,42 mg/L la V1BB. Se observă o creștere după contactul vinului cu levurile în cazul probelor de Busuioacă de Bohotin: V11BB (25,51 mg/L), V4BB (26,43 mg/L), V9BB (28,63 mg/L), V5BB (29,08 mg/L) și V8BB (31,78 mg/L) comparativ cu proba martor V13BB (24,68 mg/L). Creșterea este datorată contactului prelungit cu celulele de levuri autolizate cu eliberarea de polizaharide, glicoproteine, acizi ribonucleici și trecerea lor în aminoacizi.

Valorile aminoacidului L-glutamină scade în cazul tuturor probelor experimentale după următoarele 6 luni de maturare, drept urmare a formării de alți compuși derivați, precum glutamat de sodiu prin acțiunea celor două enzime, glutamin-sintaza și glutamat-sintetaza. Valorile înregistrate la probele experimentale de Busuioacă de Bohotin sunt în concordanță cu literatura de specialitate (până la 250 mg/L).

L-lizină se formează prin metabolismul levurilor și nu este o sursă preferată de azot a speciei *Saccharomyces cerevisiae*.

Aminoacidul are valori foarte mari la probele V5BB și V4BB, 38,43 mg/L, respectiv 28,68 mg/L, ambele probe fiind tratate cu produse de maturare ce au conținut ridicat de polizaharide și manoproteine. Ambele probe înregistrează o scădere, V5BB de la 38,43 mg/L la 22,17 mg/L lizină și V4BB de la 28,68 mg/L la 20,13 mg/L lizină, cum se observă în tabelul 5.10.

Prin agitarea periodică a vinului aflat în damigene de sticlă cu un dispozitiv, crește concentrația de manoproteine și rata de activitate a enzimei β -1,3-glucanaza. În general, autoliza levurilor este un proces relativ încet (în absența enzimei glucanaza) și necesită mai multe luni și chiar ani pentru a se putea realiza, astfel limitează conținutul de manoproteine în vin (Charpentier C., Feuillat M., 1993).

Impactul componentelor prezente în celulele de levuri, precum prezența polizaharidelor acționează asupra astringenței vinului și contribuie la creșterea senzației de volumul și de corp al vinului (Ribéreau-Gayon P. ș.a., 2006).

L-serină se formează din glicocol și apare în vinurile liniștite până la 50 mg/L. Valorile se încadrează în intervalul 18,97 mg/L (proba V6BB) și 34,49 mg/L (proba V5BB). De asemenea, în comparație cu proba martor V13BB, cele mai mari valori apar la probele V5BB și V4BB. Ambele scad în următoarele șase luni, astfel V5BB ajunge de la 34,49 mg/L la 22,07 mg/L lizină și V4BB ajunge de la 32,21 mg/L la 23,23 mg/L lizină. Scăderea conținutului de L-serină în cazul tuturor probelor, este posibilă prin faptul că prin decarboxilare se formează etanolamină, de aceea apar creșteri mari în intervalul următor de timp.

L-treonină are cele mai mari valori la aceleași probe ca ceilalți aminoacizi, proba V5BB de 36,81 mg/L și V4BB de 31,41 mg/L după 12 luni de maturare pe levuri. Valorile scad în următoarele luni, ajungând de la 39,02 mg/L la proba V5BB și 23,78 mg/L la proba V4BB.

Probele experimentale de Busuioacă de Bohotin înregistrează scăderi în cazul tuturor aminoacizilor considerați precursori de aromă.

L-tirozina se formează prin reacția de hidroxilare din aminoacidul fenilalanină. În tabelul 5.10, sunt inserate valorile acestui aminoacid, cele mai mari fiind la probele V5BB (3,58 mg/L) și V4BB (2,96 mg/L). Aceste valori cresc până ajung la 4,34 mg/L tirozină la proba V5BB și la 4,31 mg/L tirozină la proba V4BB. Cercetările din domeniu au evidențiat creșteri ale concentrației de L-tirozină pe parcursul etapei de maturare pe levuri.

L-cisteină înregistrează valorile cele mai mari la probele V8BB (10,88 mg/L), V3BB (9,62 mg/L), V5BB (6,33 mg/L), V7BB (6,29 mg/L) și V9BB (6,07 mg/L) comparativ cu V13BB (2,22 mg/L). Analizele ulterioare, realizate la 18 luni de la administrarea produselor de maturare, arată o scădere în cazul tuturor probelor experimentale de Busuioacă de Bohotin.

L-prolină este un aminoacid ce se găsește în cantități mari în struguri, nu este preferat de microorganisme. În etapa de maturare pe levuri, prolina poate reprezenta singura sursă de azot pentru levuri. Valorile acestui aminoacid cresc foarte mult, astfel încât la 18 luni de maturare pe levuri, probele experimentale înregistrează valori cuprinse în intervalul 117,55 mg/L (proba V1BB) și 41,41 mg/L (proba V6BB). Cele mai mari valori sunt la probele V1BB, V2BB și V3BB, maturate pe levuri prin adaosul de produse oenologice ce au în compoziția lor

polizaharide, manoproteine și peptide, ce ajută la creșterea efectului pozitiv pe care îl are metoda *sur lie* asupra vinurilor și le oferă armonie.

L-triptofan este precursorul vitaminei B3. Valorile cele mai mari ale acestui aminoacid apar după 12 luni de maturare pe levuri, în cazul probelor V5BB (5,48 mg/L), V4BB (4,29 mg/L) și V8BB (3,49 mg/L). Se înregistrează o scădere după încă 6 luni de maturare la toate probele obținute din soiul Busuioacă de Bohotin în anul 2020.

L-asparagină se formează din acidul aspartic, prin activitatea enzimei asparagin-sintetaza. Ca și în cazul aminoacidului L-glicină, cele mai mari valori se înregistrează la probele V5BB (23,03 mg/L) și V4BB (19,88 mg/L). După 18 luni de maturare, conținutul de L-asparagină scade la toate probele obținute din soiul Busuioacă de Bohotin. Concentrația de L-asparagină este dependentă de procesul enzimatic de autoliză și de compoziția produsului de maturare utilizat. În cazul probelor V4BB și V5BB, ambele tratate cu produse ce au un conținut mare de polizaharide.

L-arginină face parte din categoria celor mai importanți compuși azotați prezenți în vin. Etapa de maturare pe levuri conduce la o creștere a conținutului de L-arginină, valorile cele mai mari fiind de 25,68 mg/L la proba V5BB și de 19,94 mg/L la proba V4BB. Însă, se înregistrează scăderi mari ale concentrației de L-arginină la toate probele experimentale după 18 luni de maturare, fapt ce explică utilizarea aminoacidului ca sursă de azot în activitatea metabolică a levurilor. Proba V5BB ajunge la 10,10 mg/L arginină și V4BB la 10,60 mg/L arginină.

L-metionină este unul dintre aminoacizii greu asimilabili de către levuri și cu importanță în dezvoltarea și activitatea bacteriilor lactice. Probele experimentale obținute din Busuioacă de Bohotin cu valori ridicate sunt V5BB cu 15,78 mg/L metionină și V4BB cu 11,63 mg/L metionină. De asemenea, prin utilizarea acestuia în activitățile metabolice ale levurilor, se înregistrează scăderi în cazul tuturor probelor experimentale.

L-histidină are valori cuprinse între 0,19 mg/L la proba V11BB și 0,18 mg/L la proba V2BB. Histidina reprezintă un precursor al triptofanului. De asemenea, prin decarboxilare enzimatică se formează histamină. Probele obținute din soiul Busuioacă de Bohotin înregistrează o ușoară creștere după o perioadă de 18 luni de maturare pe levuri.

L-cistină este un dimer al cisteinei. Atinge valori de 20 mg/L în vin, iar V5BB are cea mai mare valoare după 12 luni de maturare pe levuri, de 0,19 mg/L, valoare ce scade și ajung la 0,03 mg/L. Scăderea apare datorită ruperii celor două molecule de cistină prin acțiunea enzimatică a celulelor de levuri pe parcursul procesului de autoliză.

5.3 Evaluarea caracteristicilor senzoriale ale vinurilor obținute prin utilizarea unor produse oenologice de maturare

Maturarea pe levuri este folosită în principal pentru îmbunătățirea echilibrului aromatic al vinului și complexitate. Vinurile beneficiază de procesul de autoliză datorită eliberării în masa lor a multor componente și substanțe, dintre care menționăm manoproteine, polizaharide, lipide, vitamine, acizi ribonucleici din pereții celulari de levuri autolizate. Acești compuși au rol în formarea buchetului final al vinurilor, iar unii dintre ei sunt considerați a fi precursori ai compușilor volatili care formează aroma.

Analiza organoleptică a probelor experimentale de Sauvignon blanc

Analiza senzorială a produselor alimentare este foarte importantă în deciziile de marketing, în relațiile cu clienții, poziționarea diverselor produse pe piață, în strategia de preț și de publicitate adoptată de fiecare companie.

În figurile 5.7 și 5.8 sunt prezentate diagramele analizei organoleptice ale probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc 2020. Este important de menționat faptul că la fiecare probă experimentală a fost calculată media notelor primite de la cei 10 degustători, inserată ulterior în tabelul 5.11. În vederea realizării diagramelor a fost utilizată media, atât în cazul descriptorilor olfactivi, cât și în cazul descriptorilor gustativi.

Pentru a fi posibilă analizarea senzorială a probelor după etapa de maturare pe levuri au fost luați în considerare parametrii olfactivi și gustativi comuni vinurilor albe – verde, mineral, floral, fructe albe, fructe exotice, condimente, specifice procesului de autoliză – coajă de pâine și biscuite, iar în cazul celor gustativi – dulce, acru, amar, sărat, dar și cele ce apar ca urmare a maturării pe levuri, astfel menționăm: crocant, de levuri (autolizat).

În urma procesului de maturare pe levuri, probele V9SB și V11SB au înregistrat o senzație mai puternică de verde/vegetal, distingere fiind o medie înregistrată de 4, respectiv 4,1. Etapa de maturare pe levuri a avut o contribuție la nota minerală a probelor de Sauvignon Blanc, mai ales în cazul probelor V7SB, V8SB, V11SB, unde au fost utilizate produse oenologice ce conțin în compoziția lor cantități importante de aminoacizi, vitamine, manoproteine, plus polizaharide. Notele florale predomină la probele V8SB, V7SB, V10SB și V11SB. Se observă după adaosul de levuri și contactul prelungit cu ele, o creștere mare a mediei la V12SB în cazul notele olfactive de biscuite și coajă de pâine, cele mai mari valori pe care le înregistrează media fiind la probele V4SB, V12SB, V7SB și V6SB.

Cu privire la notele gustative, se observă o diminuare a notei acide după etapa de maturare pe levuri, fapt atribuit polizaharidelor eliberate prin autoliză levuriană care permit echilibrarea delicată a astringenței și a acidității vinurilor după doar 6 luni de contact cu produsele oenologice de maturare. Probele V9SB și V10SB se disting printr-o medie de 2,8 în cazul percepției senzației acide, datorită utilizării unor produse ce prezintă capacitatea de a păstra aroma proaspătă a notelor varietale și în același timp de a asigura protecție potențialului aromatic al vinurilor.

Tabelul 5.11/Table 5.11

Media probelor experimentale de Sauvignon Blanc obținută în urma analizei organoleptice
The average of experimental samples of Sauvignon Blanc obtained from the organoleptic analysis

	MEDIA PROBELOR EXPERIMENTALE DE SAUVIGNON BLANC 2020												
Caracteristicile probei de vin	V1SB	V2SB	V3SB	V4SB	V5SB	V6SB	V7SB	V8SB	V9SB	V10SB	V11SB	V12SB	V13SB
Verde/vegetal	3	3,4	3,3	3,4	3,6	3,7	3,8	3,6	4	3,4	4,1	3,5	3,8
Mineral	4,2	4,2	3,9	4	4,5	4,7	5,6	5,4	4,7	4,3	5,3	4,2	4,5
Floral	3,4	2,9	3,1	3,1	2,9	3,1	4	3,9	3,2	4,1	4,1	3	2,9
Citrice	3,2	3,7	3,4	3,8	3,3	3,4	3,8	4,1	3,8	4,1	4,2	4,4	3,5
Fructe albe	3,1	2,3	2,5	3	2,5	2,5	3,1	3,4	2,9	2,8	3,4	3,9	2,7
Fructe exotice	2,4	3,2	3,2	4,3	3,5	3,3	4,1	3,7	4,1	4,6	4,6	4,8	3,5
Condimente	2,5	2,7	3,1	2,9	3	3	3,2	3,3	3	2,8	2,5	2,4	3,3
Coajă de pâine	1,9	2,4	3,7	4,3	2,9	3,3	3,8	3,6	2,6	3	4,3	3,9	0,9
Biscuite	2,5	2,1	2,3	3,5	2,5	2,7	3	2,3	2,3	2,3	3,5	3	0,9
Acid	3,1	3,2	2,2	3,2	1,6	1,7	1,9	2,5	2,8	2,8	2,3	2,6	4
Dulce	1,5	1,3	1,7	2,4	2,3	2,1	2,4	3,6	2,9	3,5	3,2	3,5	1,1
Amar	1,7	2,1	2,3	2	2,7	2,1	1,9	2,1	1,8	2	1,7	1,8	2,1
Crocant	3,1	3,2	3,2	4,6	3,2	3,8	4,8	4,2	4,3	4,3	4,2	4,7	2,7
Autolizat (levuri)	2,8	3,2	3,5	3,9	3,1	3,8	3,1	3,7	3,5	3,4	3,5	4	2,5
Corpolență	4,4	3,5	4,7	5	4,7	4,9	5,7	5,8	5,6	5,2	5,7	5,8	3,9
Persistența post-gustului	4	4,2	4,8	5,8	5,3	5,3	6,3	6,3	5,8	5,6	5,9	6,1	4,5
Structură	4,2	4,6	5	6,1	5,1	5,5	6,3	5,6	5,1	5,5	5,7	5,7	3,9

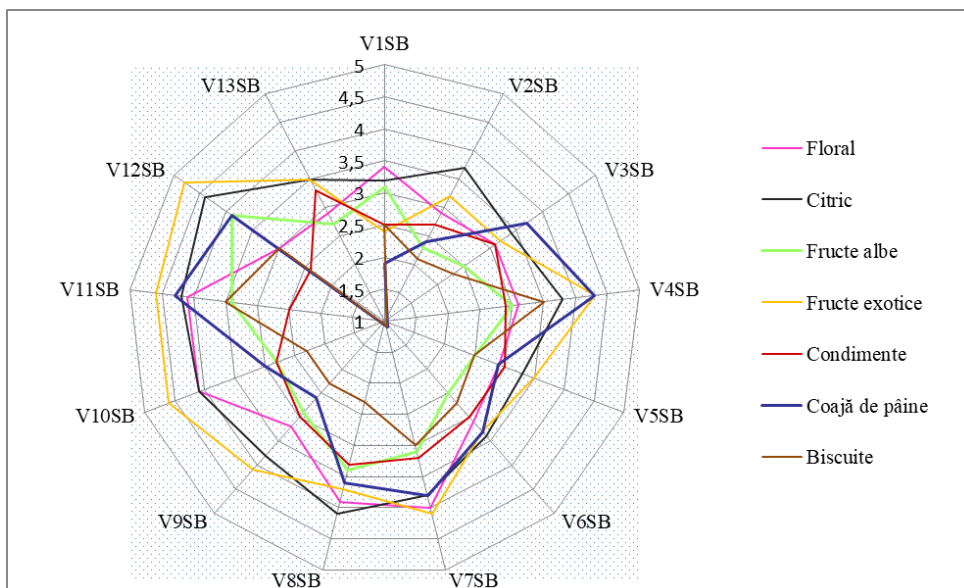


Figura 5.7 – Analiza olfactivă a probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc, anul 2020

Figure 5.7 – Olfactory analysis of the experimental samples obtained from Sauvignon blanc variety, vintage 2020

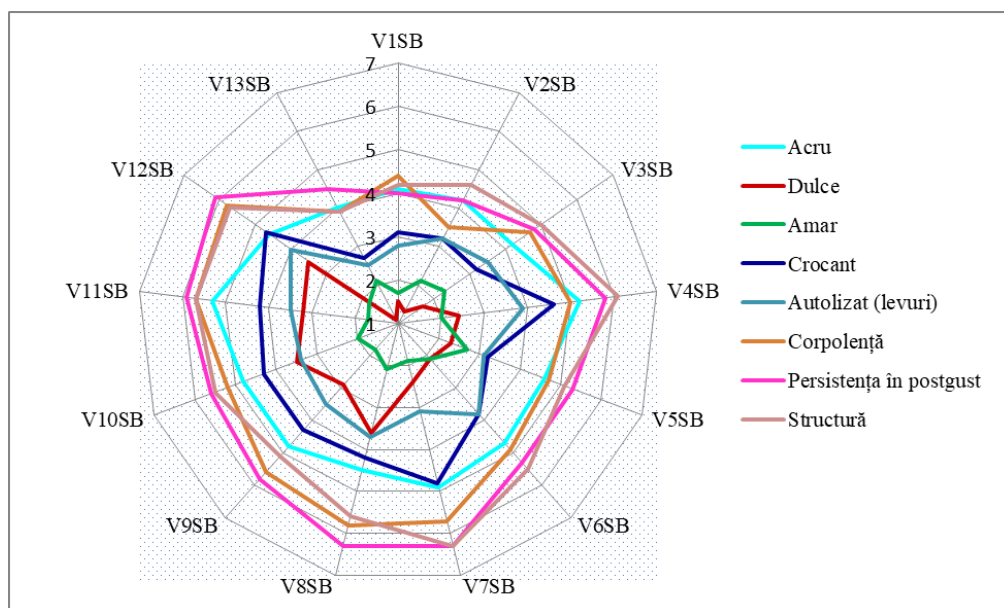


Figura 5.8 – Analiza gustativă a probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc, anul 2020

Figure 5.8 – Taste analysis of the experimental samples obtained from Busuioaca de Bohotin variety, vintage 2020

Probele V12SB, V8SB, V10SB și V11SB au înregistrat cele mai mari note în cazul senzației de dulce, drept urmare media înregistrată este cea mai mare la aceste probe. Senzația

de amar are media 2,7 la proba V5SB, în urma etapei de maturarea pe levuri cu un produs oenologic ce are un conținut ridicat de manoproteine, capabile să reacționează cu polifenolii prezenți în vin.

După maturarea pe levuri, se observă o medie mare a notelor de crocant și autolizat (levuri) în cazul tuturor probelor experimentale. Corpolența are o importanță majoră în privința calității generale a vinurilor. În acest caz, vinurile sunt seci, corpolența sau senzația de corp este asociată cu conținutul de alcool. Glicerolul reprezintă compusul ce intensifică senzația de corp a unui vin. De asemenea, intensitatea aromatică a vinului poate intensifica senzația de corp. În cazul probele experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc, se observă o creștere la toate probele maturate pe levuri în comparație cu V13SB, proba martor. Fișele tehnologice ale produselor de maturare utilizate menționează faptul prin compuşii eliberați pe parcursul autolizei contribuie la corpolența vinului și persistența aromatică, protejarea aromelor varietale și persistența postgustului.

Vinurile obținute au o structură bună, media fiind mai mare la proba V7SB de 6,3, proba V4SB de 6,1, proba V11SB de 5,7, proba V12SB de 5,7 și proba V8SB de 5,6. Deci produsele oenologice de maturare au o contribuție mare pentru obținerea de vinuri structurate, echilibrate și cu un profil aromatic superior.

Analiza organoleptică a probelor experimentale de Busuioacă de Bohotin

Pentru analizarea din punct de vedere organoleptic a probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, în anul 2020 s-au notat de la 1 la 9 de către zece degustători următoarele caracteristici olfactive: verde/vegetal, mineral, floral, citrice, fructe albe, fructe roșii, fructe exotice, condimente, coajă de pâine, biscuite (ultimele două caracteristici sunt oferite de contactul prelungit al vinurilor cu levurile) și note gustative: acid, dulce, amar, crocant, autolizat (levuri), corpolență, persistența post-gustului și structură. Ulterior a fost calculată media acestor note la fiecare caracteristică și inserată în tabelul 5.12 pentru fiecare probă de vin luată în studiu.

În figurile 5.9-5.10 sunt realizate diagramele analizei organoleptice ale probelor experimentale, prin intermediul mediei calculate pentru caracteristicile olfactive, respectiv mediei calculate pentru caracteristicile gustative în tabelul 5.12.

Nota verde/vegetal a înregistrat media cea mai mare la proba V11BB, ea a obținut cele mai mari note din partea degustătorilor. Respectiva probă a fost tratată cu un produs ce are o compoziție unică, plus o cantitate ridicată de polizaharide, ce îmbunătățesc senzațiile percepute organoleptic în cazul vinurilor rosé, dar și roșii, astfel permite oenologului să confere echilibrul vinurilor, să reducă din astringența taninurilor, păstrând în același timp aroma proaspătă în cazul vinurilor albe.

Nota minerală are cea mai mare medie la probele V5BB, V11BB, V8BB și V6BB. Aceste probe au fost tratate cu produse oenologice ce au un conținut ridicat de manoproteine. De asemenea, oferă echilibru senzațiilor olfactive. Notele florale mai persistente au fost depistate de degustători la probele V10BB, V3BB, V11BB, V2BB și V7BB.

Tabelul 5.12/ Table 5.12

Media probelor experimentale de Busuioacă de Bohotin obținută în urma analizei organoleptice
The average of experimental samples of Busuioaca de Bohotin obtained from the organoleptic analysis

	MEDIA PROBELOR EXPERIMENTALE DE BUSUIOACĂ DE BOHOTIN 2020												
Caracteristicile probei de vin	V1BB	V2BB	V3BB	V4BB	V5BB	V6BB	V7BB	V8BB	V9BB	V10BB	V11BB	V12BB	V13BB
Verde/vegetal	3,5	3,5	3,5	3,4	3,8	3,3	2,7	3,2	3,4	3,1	8,6	3,4	3,8
Mineral	3,8	3,8	3,5	3,7	4,8	4,3	3,7	4,3	4,2	3,7	4,4	4,2	3,2
Floral	5,2	5,2	5,4	4,8	4,2	5,1	5,2	4,7	5	5,4	4,7	5,1	5,1
Citrice	3,4	3,4	3	3,2	2,5	3,1	2,9	3,7	3,8	4	3,7	3,7	3,2
Fructe albe	3,1	3,1	2,8	2,8	2,5	3	2,1	3,5	2,8	3,9	3,1	3,3	3,1
Fructe roșii	5	5	5,5	6	4,9	5,7	7,1	6,1	5,9	6,5	5	5,8	5,5
Fructe exotice	4,6	4,6	4,1	5,4	4,5	5,5	5,9	5,1	6,2	5,6	5,6	5,3	4,7
Condimente	3,7	3,7	3,9	4,2	3,6	3,5	3,7	3,7	3,7	3,2	4	4,3	4,6
Coajă de pâine	2,9	2,9	2,3	2,9	2,8	2,8	2,4	3	3,3	2,7	2,8	2,2	1,2
Biscuite	2,4	2,4	1,9	2,7	2,2	2,5	2,4	2,3	2,6	1,8	2,2	2	1,3
Acid	3,7	3,7	4,4	3,9	4,6	4,4	3,7	4,4	4,3	4,9	4,8	5	4,9
Dulce	3	3	3,1	2,7	3	3,2	2,7	3,2	3,4	3	2,8	3	2
Amar	2,8	2,8	2,8	2,8	2,7	3,3	2,9	2,9	2,2	2,6	2,5	2,3	2,9
Crocant	4,6	4,6	4,6	4,2	4,4	4,4	4,9	4,1	4,8	4,6	4,3	4,3	3,7
Autolizat (levuri)	3,7	3,7	3,9	3,3	4,6	4,2	4,2	3,9	4,6	3,9	3,9	3,9	2,3
Corpolență	5,3	5,3	5,1	5,3	5,3	5,2	5,8	5,5	6,1	4,9	5,1	5,5	4,3
Persistența post-gustului	6	6	5,3	5,7	5,9	6,5	6,7	5,9	6,8	6	5,8	6,3	4,8
Structură	6	6	5,6	5,5	5,8	6,2	6,2	5,9	6,9	5,9	6,1	5,9	5

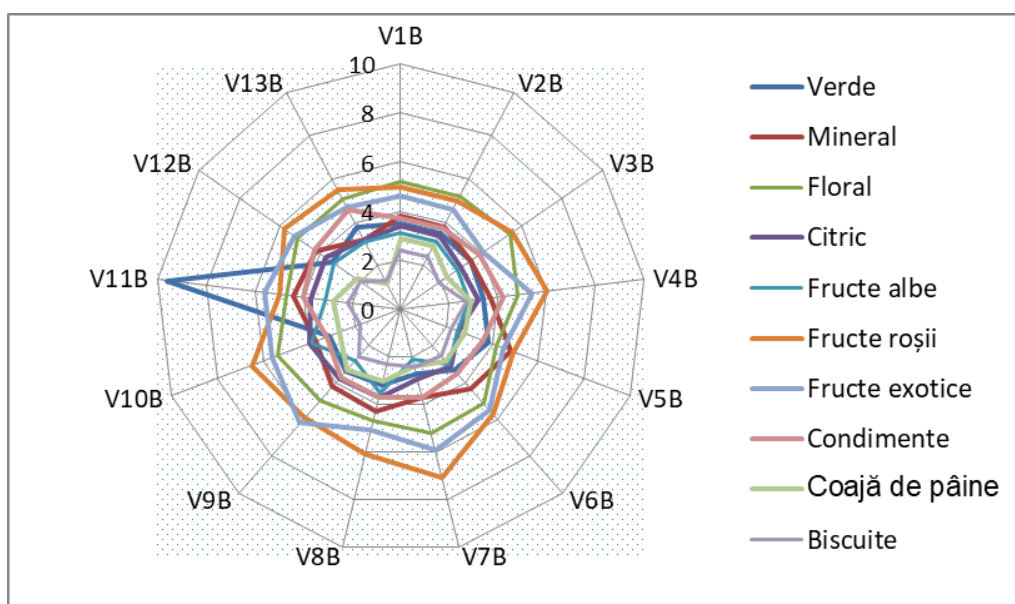


Figura 5.9 – Analiza olfactivă a probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, anul 2020

Figure 5.9 – Olfactory analysis of the experimental samples obtained from Busuioaca de Bohotin variety, vintage 2020

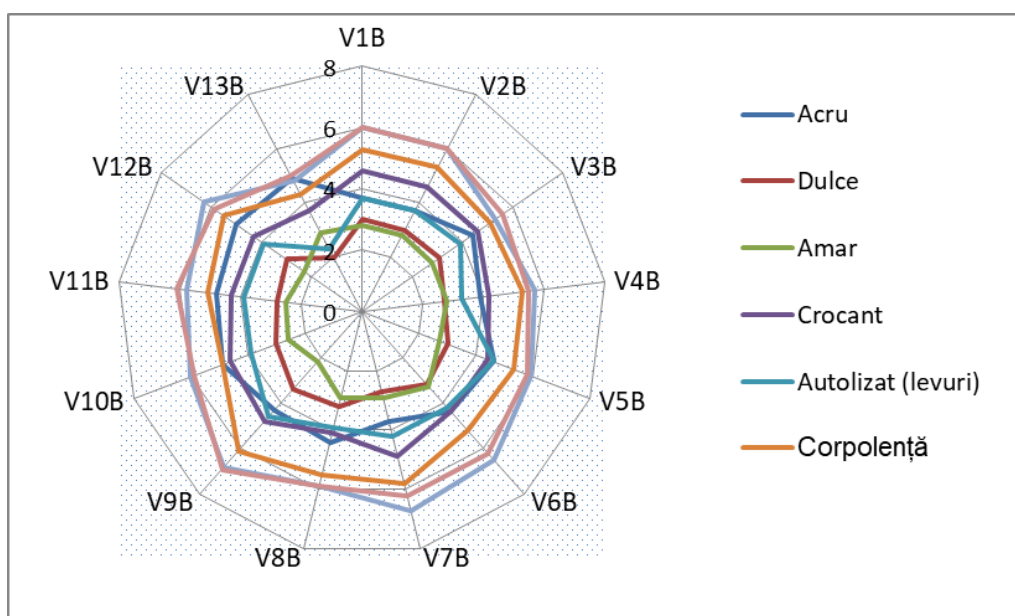


Figura 5.10 – Analiza gustativă a probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, anul 2020

Figure 5.10 – Taste analysis of the experimental samples obtained from Busuioaca de Bohotin variety, vintage 2020

Probele de Busuioacă de Bohotin se remarcă printr-o medie mare la fructe roșii, depistându-se la degustare note plăcute și intense de zmeură, căpșuni, drept urmare la probele V7BB, V10BB, V8BB, V4BB și V9BB au fost acordate cele mai mari note. Aceste probe au fost în contact cu produse oenologice ce au permis îmbogățirea la nivel olfactiv cu note fructate intense. De asemenea, fructele exotice precum mango, papaya au fost depistate prin analiza organoleptică cu medie mare la probele V9BB, V10BB, V11BB și V4BB. În schimb, se observă acordarea de note mai mici în cazul notei olfactive de condimente la probele maturate pe levuri în comparație cu proba martor.

Din punct de vedere gustativ, probele experimentale de Busuioacă de Bohotin au o tendință de creștere a senzației acide, cu o medie ce variază de la 3,7 la proba V1BB la 4,9 la proba V10BB. Probele V9BB, V8BB, V6BB, V3BB au înregistrat cele mai mari valori ale mediei cu privire la senzația gustativă dulce. Nota de amar a fost mai intensă la probele V6BB, V7BB și V8BB, datorită compoziției pe care o au produsele de maturare, menționăm cantități de până la 3 ppm As, 2 ppm Pb și 1 ppm Hg și Cd.

În cazul tuturor probelor obținute în contact cu levurile se observă valori ridicate ale mediei cu privire la corpolența probelor experimentale, cele mai mari fiind la V9BB (6,1) și V7BB (5,9). Persistența post-gustului se remarcă prin note mari, cu o medie de 6,8 la proba V9BB, 6,7 la proba V7BB, 6,5 la proba V6BB și 6,3 la proba V12BB.

Vinurile sunt bine structurate, fapt datorat diverselor macromolecule eliberate prin autoliză enzimatică pe parcursul procesului de maturare cu produse oenologice.

CAPITOLUL 6 ANALIZA STATISTICĂ

CHAPTER 6 STATISTICAL ANALYSIS

6.1 Evaluarea influenței unor produse oenologice de maturare asupra caracteristicilor de compoziție și senzoriale ale vinurilor obținute

Analiza corelației dintre compoziția produselor oenologice, doza aplicată în etapa de maturare a probelor experimentale și caracteristicile senzoriale percepute prin analiză senzorială – În vederea determinării influenței produselor oenologice de maturare asupra caracteristicilor olfactive și gustative a probelor experimentale obținute din soiurile Sauvignon blanc și Busuioacă de Bohotin s-a utilizat analiza varianței (ANOVA) a software-ului STATISTICA V.7 (Statsoft Inc.). Toate valorile medii obținute prin intermediul analizei senzoriale sunt bazate pe trei replicări. Testul Fisher LSD a fost folosit ca test de comparație în momentul în care probele experimentale au fost semnificativ diferite după analiza ANOVA ($p < 0,05$) pentru caracteristicile senzoriale.

A fost utilizată și aplicată analiza componentelor principale pentru a examina orice posibilă grupare de probe experimentale în funcție de doza produsului de maturare aplicată și compoziția chimică a produselor.

Maturarea pe levuri este utilizată în principal pentru faptul că îmbunătățește echilibrul aromatic al vinului și îi oferă complexitate. Vinurile beneficiază de contribuția pe care o au componentele și substanțele eliberate în cursul procesului de autoliză. Dintre acestea menționăm polizaharide, manoproteine, lipide, acizi ribonucleici și vitamine. Procesul conduce la eliberarea de compuși ce sunt implicați în formarea buchetului final al vinurilor, deoarece unii dintre ei sunt considerați precursori aromei vinului (Bertuccioli M., Ferrari S., 1999).

Analiza componentelor principale (PCA) a fost efectuată prin intermediul unei matrici de corelație, utilizând caracteristicile senzoriale care diferă semnificativ între ele, fapt relevat de ANOVA. Analiza de corelație Pearson s-a efectuat cu scopul de a investiga corelația dintre doza diferită administrată din fiecare produs oenologic și percepția senzorială a probei experimentale după utilizarea acestuia în etapa de maturare.

Pentru a examina în detaliu și a interpreta diferențele ce apar între descriptorii olfactivi, gustativi și compoziția produselor de maturare utilizate, rezultatele unidirecționale ANOVA sunt prezentate în tabelul 6.1 și tabelul 6.2 (este prezentată relația dintre descriptorii senzoriali și compoziția produselor oenologice de maturare), și în tabelul 6.3 și tabelul 6.4 (este prezentată relația dintre descriptorii senzoriali și dozele de produse oenologice de maturare aplicate probelor experimentale).

Tabelul 6.1/ Table 6.1

Relația dintre descriptorii senzoriali ai probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc și compoziția produselor de maturare
Relationship between sensorial descriptors of wine samples of Sauvignon Blanc and maturation products composition

SB	G	M	F	C	WF		EF	S	BC	BS	S	SW	BT	CR	LV	CRP	AP	ST
1	3,3 ⁵	4,0 ^{2,4}	3,1 ⁷	3,6 ^{6,7}	2,8 ⁶		3,8	3,0	4,0	2,9	4,7	2,05 ⁴⁻⁷	2,1 ³	3,9	3,7	4,85	5,3	5,55
2	3,6	4,5 ¹	2,9	3,3 ⁶	2,5		3,5	3,0	2,9	2,5	4,6	2,3 ^{4,6,7}	2,7	3,2	3,1	4,7	5,3	5,1
3	3,8	5,2	3,6 ⁷	3,6 ^{6,7}	2,8		3,7	3,1	3,6	2,9	4,8	2,25	2,0 ^{1,5-7}	4,3	3,45	5,3	5,8	5,9
4	3,6	5,4 ¹	3,9	4,1	3,4		3,7	3,3 ⁶	3,6	2,3	4,5	3,6 ^{1,2,8}	2,1	4,2	3,7	5,8	6,3	5,6
5	4,0 ¹	4,7	3,2	3,8	2,9		4,1	3,0	2,6	2,3	4,8	2,9 ^{1,8}	1,8 ³	4,3	3,5	5,6	5,8	5,1
6	3,8	4,8	4,1 ⁷	4,2 ¹⁻³	3,1 ¹		4,6	2,7 ^{4,8}	3,7	2,9	5,0	3,35 ^{1,2,8}	1,8 ³	4,2	3,4	5,4	5,7	5,6
7	3,5	4,2	3,0 ^{1,3,6,8}	4,4 ^{1,3}	3,9		4,8	2,4	3,9	3,0 ⁸	4,6	3,5 ^{1,2,8}	1,8 ³	4,7	4	5,8	6,1	5,7
8	3,8	4,5	2,9 ⁷	3,5	2,7		3,5	3,3 ⁶	0,9	0,9 ⁷	4,0	1,1 ⁴⁻⁷	2,1	2,7	2,5	3,9	4,5	3,9

Tabelul 6.2/ Table 6.2

Relația dintre descriptorii senzoriali ai probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin și compoziția produselor de maturare
 Relationship between sensorial descriptors of wine samples of Busuioaca de Bohotin and maturation products composition

BB	G	M	F	C	WF	RF	EF	S	BC	BS	S	SW	BT	CR	LV	CRP	AP	ST
1	3,4	3,7 ³	5,1 ³	3,2 ^{3,4,7}	2,9	5,3	4,6 ^{2,5}	3,8	2,7 ⁸	2,35 ⁸	3,9 ^{6,7}	2,9 ⁸	2,8 ^{2,5,6}	4,5 ⁸	3,6 ^{2,3,5,8}	5,25 ^{5,8}	5,7 ^{2,5,8}	5,7 ^{5,8}
2	3,8	4,8	4,2 ³	2,5 ⁴⁻⁷	2,5	4,9	4,5 ¹	3,6	2,8 ⁸	2,2 ⁸	4,6	3,0 ⁸	2,7 ^{1,5-7}	4,4 ⁸	4,6 ^{1,8}	5,3 ⁸	5,9 ^{1,7,8}	5,8 ^{5,8}
3	3,0	4,0 ^{1,8}	5,1 ^{1,2}	3,0 ^{1,4-8}	2,5	6,4	5,7 ⁵	3,6	2,6 ⁸	2,4	4,0	2,9 ⁸	3,1 ⁵	4,6	4,2 ^{1,7,8}	5,5 ^{5,8}	6,6 ⁸	6,2 ^{5,8}
4	3,2	4,3	4,7	3,7 ^{2,3}	3,5	6,1	5,1	3,7	3,0 ⁸	2,3	4,4	3,2 ⁸	2,9 ^{5,6}	4,1	3,9 ⁸	5,5 ⁸	5,9 ⁸	5,9 ^{5,8}
5	3,4	4,2	5,0	3,8 ^{1,2,3}	2,8	5,9	6,2 ^{1,3}	3,7	3,3 ⁸	2,6 ⁸	4,3	3,4 ⁸	2,2 ^{1-4,8}	4,8 ⁸	4,6 ^{1,7,8}	6,1 ^{1,3,7,8}	6,8 ^{1,7,8}	6,9 ^{1-4,6-8}
6	6,0	4,0	5,0	3,8 ^{2,3}	3,5	5,7	5,6	3,6	2,7 ⁸	2,0	4,8 ¹	2,9 ⁸	2,5 ^{1,2,4,8}	4,45	3,9 ⁸	5 ⁸	5,9 ⁸	6,0 ^{5,8}
7	3,4	4,2	5,1	3,7 ^{1-3,8}	3,3	5,8	5,3	4,3	2,2 ⁸	2,0	5,0 ¹	3,0 ⁸	2,3 ²	4,3	3,9 ^{3,5,8}	5,5 ^{5,8}	6,3 ^{2,5,8}	5,9 ^{5,8}
8	3,8	3,2 ³	5,1	3,2 ^{3,7}	3,1	5,5	4,7	4,6	1,2 ¹⁻⁷	1,3 ^{1,2,5}	4,9	2,0 ¹⁻⁷	2,9 ^{5,6}	3,7 ^{1,2,5}	2,3 ¹⁻⁷	4,3 ¹⁻⁷	4,8 ¹⁻⁷	5,0 ¹⁻⁷

Clasificarea a fost efectuată în funcție de clasa de substanțe caracteristică principală din compoziția fiecărui produs oenologic de maturare utilizat, dar și în funcție de doza aplicată la fiecare probă experimentală luată în studiu. Probele de vin au fost diferite din punct de vedere senzorial, diferență ce a fost dată de compoziția produsului utilizat. Datorită tehnologiei de producere, trebuie menționat faptul că produsele de maturare sunt bogate în polizaharide, aminoacizi, peptide și alți compuși cu greutate moleculară mare. Produsele prezintă capacitatea de a păstra notele specifice de soi, de a le potența și de a aduce în plus note noi, de biscuite, autolizat, crocant, coajă de pâine specifice procesului autolitic, echilibru aromatic și complexitate la nivel gustativ.

Caracteristica principală luată în calcul pentru analiza statistică este eliberarea următorilor compuși prezenți în compoziția produselor de maturare: manoproteine (produsele din gama BÂTONNAGE®), polizaharide (SUPER-MANN®), vitamine (SPHÈRE BLANC®, SPHÈRE EXPRESS®), amestec de PVI/PVPP (TRAP' METALS®), glutation (FRESH AROM®), substanțe cu proprietăți antioxidante, peptide (OENOLESS®) și enzime (POWERLEES ROUGE®). De asemenea, analiza statistică a inclus și dozele administrate pentru fiecare probă experimentală. Dat fiind faptul că nu a fost aplicat un spectru diferit de doze și au fost valori apropiate pentru fiecare tip de produs de maturare, analiza statistică a inclus valorile medii obținute, indiferent de tipul de produs utilizat pentru fiecare probă în parte.

Una din schimbările percepute la nivel olfactiv, în urma maturării în contact cu levurile, a fost reducerea percepției senzației vegetale și creșterea percepției senzației de fructe exotice. Pe parcursul evaluării, în cazul probelor obținute din soiul Sauvignon Blanc nota vegetală și nota minerală au înregistrat valori semnificativ mai mici decât proba martor. În schimb, pentru probele obținute din soiul Busuioacă de Bohotin nu au fost înregistrate aceleași diferențe la toate probele de vin în comparație cu proba martor, nota vegetală și nota minerală au fost similare. O valoare scăzută în cazul notei florale a fost înregistrată la probele V6BB și V7BB (murate cu produse cu un conținut ridicat de vitamine). Se remarcă o diferență clară între aceste probe și cele tratate cu produse ce prezintă cantități mari de polizaharide și manoproteine.

Percepția notei de citrice a avut valori superioare pentru unele probe, mai exact V6SB, V7SB, V5BB și V6BB. O percepție mai scăzută a descriptorilor olfactivi de flori și citrice a fost în cazul probelor V2BB, V3BB, V2SB, V8SB, murate cu produse ce au un conținut ridicat de polizaharide (V2BB, V3BB, V2SB), respectiv vitamine (V8SB). Acest fapt a fost demonstrat și de alte studii de specialitate (Bartoshuk L. M., 1986).

În cazul tuturor probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, notele olfactive de fructe roșii și fructe albe nu au fost semnificativ diferite în raport cu proba martor, evaluarea generală a obținut o medie a notelor de bonificare de $3,01 \pm 0,41$ pentru descriptorul olfactiv fructele albe, $5,7 \pm 0,47$ pentru descriptorul olfactiv fructele roșii și $3,86 \pm 0,38$ pentru descriptorul olfactiv condimente. Coaja de pâine a reprezentat unul dintre cei mai influențați descriptori de prezența produselor de maturare, cu valorile medii considerate a realiza gruparea principalilor compuși din produsele de maturare, ce produc variații ale percepției senzoriale în cazul acestui descriptor olfactiv.

Indiferent de soiul de struguri din care au fost produse probele luate în studiu, percepția olfactivă de fructe exotice a fost cea mai intensă. În cazul probelor de Busuioacă de Bohotin,

cea mai mare notă de bonificare a fost 6,2, în timp ce în cazul probelor de Sauvignon Blanc, valorile au fost apropiate de cele ale probei martor, V13SB, deci de la 3,5 la 4,8.

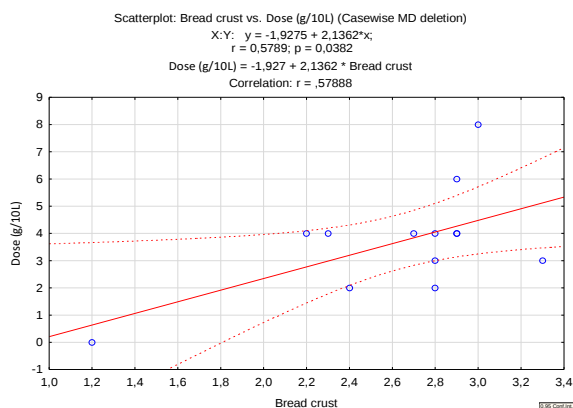


Figura 6.1.a – Corelația dintre percepția notei de crustă de pâine și doza de produs oenologic aplicată (valoarea mediei în cazul tuturor variantelor) pentru vinurile obținute din Busuioacă de Bohotin

Figure 6.1 a – Correlation of bread crust aroma perception as function of added dose (average values comprising all the variants) for wines obtained from Busuioacă de Bohotin

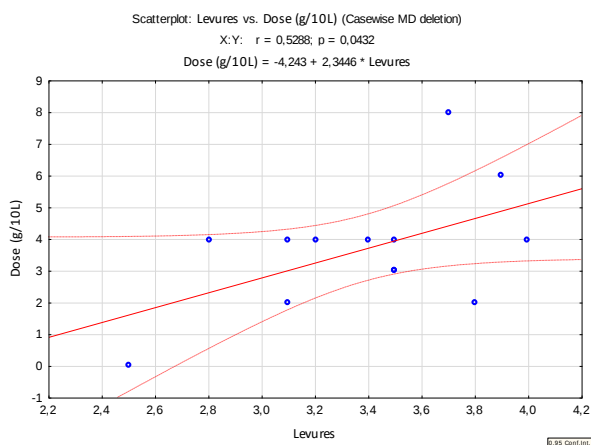


Figura 6.1. b – Corelația dintre percepția aromei de autolizat și doza de produs oenologic aplicată (valoarea mediei în cazul tuturor variantelor) pentru vinurile obținute din Busuioacă de Bohotin

Figure 6.1 b – Correlation of autolysis aroma perception as function of added dose (average values comprising all the variants) for wines obtained from Busuioacă de Bohotin

Evaluarea statistică efectuată în raport cu doza a fost inserată în tabelul 6.3 și tabelul 6.4 pentru probele experimentale de Sauvignon Blanc, respectiv probele experimentale de Busuioacă de Bohotin. În urma folosirii produselor de maturare, probele experimentale au dezvoltat arome mai intense de coajă de pâine (doar în unele cazuri corelate cu doza aplicată), această aromă fiind în corelație liniară cu doza, $r=0,578$ ($p < 0,05$), așa cum este prezentat în

graficul din figura 6.1. Dozele aplicate au influențat percepția descriptorilor senzoriali, deoarece s-au înregistrat diferențe între toate probele luate în studiu.

Indiferent de tipul produselor de maturare, doza aplicată a condus la diferențe semnificative doar pentru unii descriptori olfactivi, precum condimente în cazul vinurilor de Busuioacă de Bohotin analizate și note de mineral, verde în cazul vinurilor de Sauvignon Blanc luate în studiu. Percepția notei minerale a fost mai mică decât în cazul probei martor, V13SB, până la -0,5 puncte de bonificație în percepție. O corelație negativă a fost găsită și pentru nota florală, cu $r = -0,29$. Ceilalți descriptori olfactivi nu au înregistrat nici o variație semnificativă la nici o probă experimentală în funcție de doza aplicată. Chiar dacă, în ceea ce privește valoarea r , nu a existat o variație liniară suficientă, totuși se poate spune că descriptori biscuite și coajă de pâine au fost parametrii cei mai importanți luați în considerare și validați în urma administrării produselor de maturare. Probele maturate cu doze variate de produse au indus modificări la nivelul de percepție al tuturor descriptorilor olfactivi și gustativi analizați.

Probele martor (V13SB, V13BB) au fost caracterizate printr-un punctaj al mediei de 1,2 pentru V13BB și 0,9 pentru V13SB în cazul percepției olfactive de coajă de pâine. Ulterior, probele maturate pe levuri, au fost evaluate cu punctaj al mediei între $2,6 \div 2,9$ pentru probele experimentale de Busuioacă de Bohotin și o medie de 2,3 pentru probele experimentale de Sauvignon Blanc. Coeficienții de corelație pentru descriptorii olfactivi și gustativi cu privire la doza aplicată (tabelul 6.3/ tabelul 6.4) s-au exprimat astfel: 0,528 (Figura 6.1.b) pentru descriptorul olfactiv autolizat (levuri) și -0,44 pentru descriptorul olfactiv verde, iar pentru descriptorul coajă de pâine este 0,578 (Figura 6.1.a). În acest caz, putem spune că probele experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin au înregistrat note de bonificație mai mici la descriptorul olfactiv verde după perioada de maturare pe levuri. Astfel, este evidențiată clar influența produselor de maturare asupra descriptorilor gustativi astringență și aciditate ale vinurilor tinere, reducându-le din intensitate.

Luând în considerare faptul că în etapa de maturare produsele oenologice au fost administrate în doze de 2,0g/10L și 8,0g/10L, putem spune că prezența lor a influențat semnificativ percepția asupra calității generale a vinurilor. Spectrul descriptorilor olfactivi care nu au fost influențați la evaluarea senzorială realizată după 18 luni de maturare pe levuri pentru probele obținute din soiul Busuioacă de Bohotin în anul 2020 au fost descriptorii verde, mineral, floral, fructe albe, citrice. La nivelul descriptorilor gustativi, influența maturării în contact cu levurile asupra probelor experimentale a fost total diferită, deoarece percepția tuturor descriptorilor s-a punctat cu note de bonificație mai mari comparativ cu proba de control, descriptorii crocant, autolizat, corpolență și structură au avut diferențe semnificative la celelalte probe (tabelul 6.3/ tabelul 6.4). De asemenea diferențele au fost semnificative și între acești descriptori, deoarece au fost interpretați luând în considerare media obținută prin utilizarea mai multor tipuri de produse de maturare, cu o compoziție diversă cu privire la proporția de macromolecule existente. Cu privire la structura vinului, media a înregistrat valori semnificativ diferite în cazul probelor tratate cu doze de 8,0g/10L, 6,0g/10L și 4,0g/10L vin, dar variația percepțiilor a fost în scădere pe măsură ce doza de produs oenologic a crescut. Pentru experimentul efectuat și vinurile luate în studiu, doza optimă pentru realizarea etapei de maturare pe levuri a fost de 4,0g/10L.

Tabelul 6.3/ Table 6.3

Relația dintre descriptorii senzoriali a probelor experimentale de Sauvignon Blanc și doza aplicată de produse oenologice
 Relationship between sensorial descriptors of wine samples of Sauvignon Blanc and dosages of maturation products

SB	G	M	F	C	WF		EF	S	BC	BS	S	SW	BT	CR	LV	CRP	AP	ST
1	3,8 ⁵	4,5	2,9	3,5	2,7		3,5	3,3	0,9 ²⁻⁶	0,9 ²⁻⁵	4,0 ^{3,5}	1,1	2,1	2,7	2,5 ⁵	3,9	4,5	3,9 ^{2,6}
2	3,7 ^{4,5}	5,1 ^{4,5}	3,5	3,6	2,8		3,7	3,1	3,5 ¹	2,8 ¹	4,8	2,2	2,0	4,3	3,4	5,3	5,8	5,9 ¹
3	4,0 ^{4,5}	5,0 ^{4,5}	3,6	4,0	3,1		4,3	2,7	3,4 ¹	2,9 ¹	5,0 ¹	3,0	1,7	4,2	3,5	5,6	5,8	5,4
4	3,3 ^{2,3}	4,2 ^{2,3,6}	3,2	3,6	2,8		3,6	2,7	2,9 ¹	2,4 ¹	4,4 ^{3,5}	2,3	2,1	3,6	3,3	4,7	5,0	5,0
5	3,4 ¹⁻³	4,0 ^{2,3,6}	3,1	3,8	3		4,3	2,9	4,3 ¹	3,5 ¹	5,2 ^{1,4}	2,4	2,0	4,6	3,9 ¹	5,0	5,8	6,1 ¹
6	3,6	5,4 ^{4,5}	3,9	4,1	3,4		3,7	3,3	3,6 ¹	2,3	4,5	3,6	2,1	4,2	3,7	5,8	6,3	5,6

Tabelul 6.4/ Table 6.4

Relația dintre descriptorii senzoriali a probelor experimentale de Busuioacă de Bohotin și doza aplicată de produse oenologice
 Relationship between sensorial descriptors of wine samples of Busuioaca de Bohotin and dosages of maturation products

BB	G	M	F	C	WF	RF	EF	S	BC	BS	S	SW	BT	CR	LV	CRP	AP	ST
1	3,8	3,2	5,1	3,2	3,1	5,5	4,7	4,6 ^{2,4}	1,2 ²⁻⁶	1,3 ²⁻⁶	4,9	2,0 ^{2-4,6}	2,9	3,7 ²⁻⁴	2,3 ²⁻⁴	4,3 ^{2-4,6}	4,8 ²⁻⁴	5 ^{2-4,6}
2	3,0	4,0	5,2	3,0	2,6	6,4	5,7	3,6 ¹	2,6 ¹	2,5 ¹	4,1	3,0 ¹	3,1 ^{3,4}	4,7 ¹	4,2 ¹	5,5 ¹	6,6 ¹	6,2 ¹
3	6,2	4,3	4,9	3,8	3,0	5,5	5,9 ³	3,9	3,1 ¹	2,4 ¹	4,6	3,1 ¹	2,4 ²	4,6 ¹	4,3 ¹	5,6 ¹	6,3 ¹	6,5 ^{1,4,5}
4	3,5	4,0	5,1	3,3	3,1	5,5	4,8 ⁴	3,7 ¹	2,6 ¹	2,1 ¹	4,4	3,0	2,7 ²	4,5 ¹	4,0 ¹	5,2 ¹	5,9 ¹	5,9 ^{1,3}
5	3,4	3,7	4,8	3,2	2,8	6,0	5,4	4,2	2,9 ¹	2,7 ¹	3,9	2,7	2,8	4,2	3,3	5,3 ¹	5,7	5,5 ³
6	3,2	4,3	4,7	3,7	3,5	6,1	5,1	3,7	3,0 ¹	2,3 ¹	4,4	3,2 ¹	2,9	4,1	3,9	5,5 ¹	5,9	5,9 ¹

În cazul probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc, descriptorii olfactivi fructe albe și condimente nu au suferit nici o modificare semnificativă. Însă, în cazul tuturor probelor, indiferent de doza utilizată, la descriptorii olfactivi verde și mineral s-au înregistrat variații importante, invers proporționale cu proba martor, V13SB. Alți descriptori olfactivi, precum coajă de pâine și biscuite au avut niveluri de percepție superioare la probele maturate pe levuri comparativ cu proba martor. Nu s-au înregistrat diferențe semnificative între dozele diferite aplicate din cele 12 produse oenologice.

Analiza componentelor principale (PCA)

După evaluarea variabilelor și a descriptorilor senzoriali semnificativ diferiți și evaluarea corelației dintre caracteristicile specifice ale produselor de maturare și a dozelor aplicate, a fost realizată o analiză a componentelor principale pentru probele de vin obținute din soiurile Sauvignon Blanc (13 probe) și Busuioacă de Bohotin (13 probe). Analiza componentelor principale a fost inserată în graficul din figura 6.2 pentru probele de Sauvignon Blanc și graficul din figura 6.3 pentru probele de Busuioacă de Bohotin.

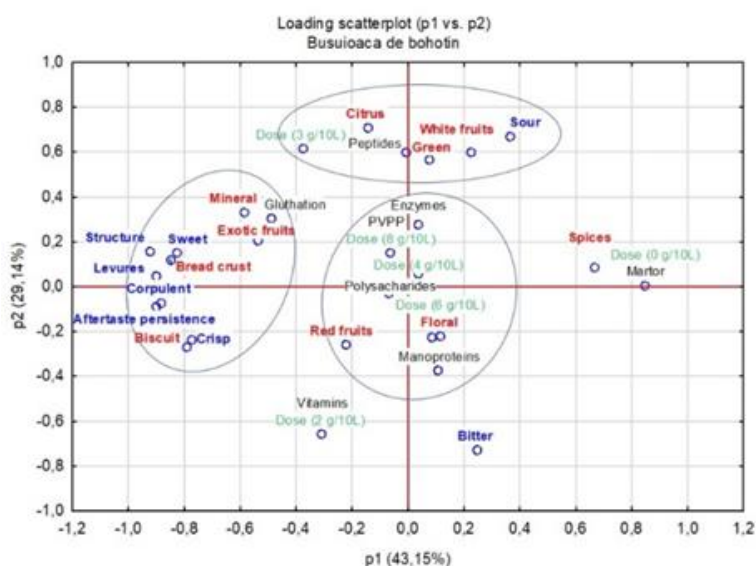


Figura 6.1 – Analiza componentelor principale pentru probele de Busuioacă de Bohotin.

Evaluarea componentei principale 1 (43,15%) și componentei principale 2 (29,14%) pentru distribuția descriptorilor de aromă în funcție de doză și de compoziția produselor de maturare

Figure 6.2 - Principal component analysis for Busuioaca de Bohotin samples. Evaluation of principal component 1 (43.15%) and principal component 2 (29.14%) for aroma descriptors distribution according to dose and ageing products composition.

Interpretările componentelor principale p1 și p2, ale căror valori totale au fost minim 68 % pentru proba martor, au fost evaluate a fi semnificative și corelate cu caracteristicile produsele de maturare (p1) și cu dozele aplicate (p2). În cazul probelor de Busuioacă de Bohotin, p1 are o variație de 43,15 % , în timp ce p2 are o variație de 29,14 %. Deci, PCA a diferențiat clar trei grupuri în funcție de tipul de caracteristici de compoziție specifice fiecărui

produs de maturare aplicat. Produsul FRESH AROM[®] are în compoziție glutatation, unul dintre compuși care au influență semnificativă asupra mai multor caracteristici gustative, aplicat la probele V9SB, respectiv V9BB.

Se poate observa în tabelul 6.1, media valorilor pentru nota minerală (4,2), fructe exotice (6,2), coajă de pâine (3,3) și biscuite (2,6) au fost printre cele mai mari din serie, astfel încât acest lucru a făcut posibilă asocierea corectă a perioadei de maturare pe levuri cu produsul oenologic ce are în compoziția sa glutatation, compus chimic ce prezintă proprietăți antioxidante. Același lucru a fost luat în calcul și în cazul caracteristicilor gustative.

În graficul din figura 6.1, caracteristicile senzoriale ale soiului Sauvignon Blanc au fost evaluate în concordanță cu aceleași caracteristici de compoziție și cu doza aplicată din fiecare produs, astfel cele două componente luate în studiu, p1 a avut o variație de 42,15 % și p2 a avut o variație de 22,15 %. Variabilele care au fost influențate semnificativ și au avut cea mai mare importanță au fost reprezentate de caracteristicile senzoriale: coajă de pâine, crocant, persistența post-gustului, corpolența și structura. Acestea au fost evidențiate și de testul Fisher. De asemenea, p1 poate fi asociat cu compoziția specifică a produselor de maturare și p2 poate fi asociat cu dozele aplicate.

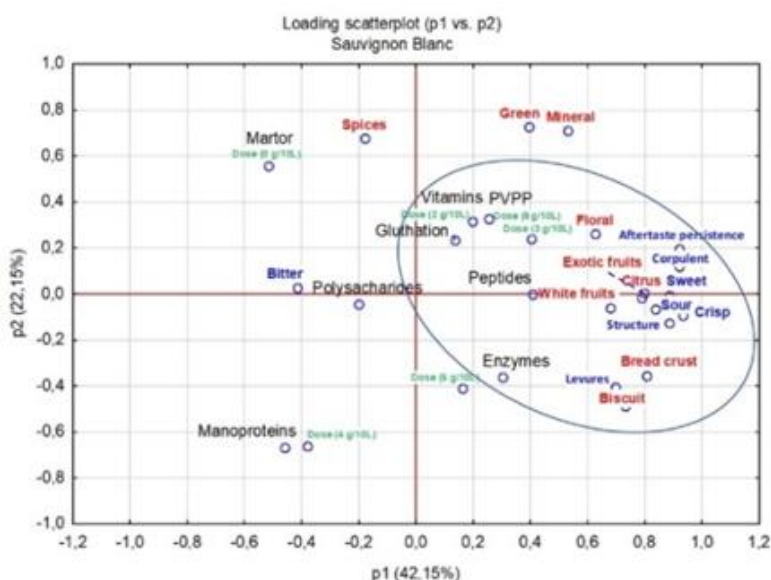


Figura 6.2 – Analiza componentelor principale pentru probe de Sauvignon blanc. Evaluarea componentei principale 1 (42,15 %) și componentei principale 2 (22,15 %) pentru distribuția descriptorilor de aromă în funcție de doză și de compoziția produselor de maturare

Figure 6.3. Principal component analysis for Sauvignon blanc samples. Evaluation of principal component 1 (42.15%) and principal component 2 (22.15%) for aroma descriptors distribution according to dose and ageing products characteristics

Al doilea grafic, inserat în figura 6.2, include principalele caracteristici de compoziție ale produselor de maturare care eliberează în masa vinului peptide, polizaharide și manoproteine. A fost inclusă și doza produsului de maturare administrată, astfel încât între aceste variabile există o corelație ce poate fi asociată cu o doză optimă, mai exact 4,0g/10L.

Graficul confirmă capacitatea produselor de maturare cu un conținut ridicat de peptide (administrat la probele V10SB, V10BB, V11SB, V11BB), în doză de 3,0g/ 10L, poate crește percepția de citrice, de fructe și verde. Având în vedere că în cazul multor probe, descriptorul verde/vegetal a fost perceput și punctat cu note de bonificație mici în raport cu probele martor, deci putem concluziona că toate produsele testate în etapa de maturare au redus percepția senzației olfactive verde.

În ceea ce privește caracteristicile senzoriale influențate de produsele de maturare aplicate imediat după fermentația alcoolică, a fost bine definită o zonă de caracterizare, în această situație majoritatea descriptorilor se încadrează și sunt în prezent asociați cu majoritatea caracteristicilor comune, care sunt importante prin capacitatea de eliberare a vitaminelor, peptidelor, enzimelor, PVPP/PVI și glutatoin în vin prin procesul de autoliză.

Analiza multifactorială dintre compoziția unor produse oenologice de maturare și conținutul de aminoacizi și amine biogene din probele experimentale

Analiza multifactorială realizează evaluarea ulterioară a variațiilor în cadrul seturilor de date și a normalității de distribuire a datelor în funcție de criteriile de grupare.

Testul Fisher LSD s-a aplicat pentru a putea realiza o corecție a comparațiilor multiple, a calculat deviațiile standard extrase din fiecare grup inclus în studiu în funcție de criteriile de grupare: timpul de maturare și tipul de substanțe chimice cedate din produsul oenologic pe parcursul perioadei de maturare.

Pentru evaluarea individuală a compoziției chimice din fiecare produs oenologic de maturare în cele două perioade de timp, 12 luni și 18 luni, a fost constatată o diferență semnificativ statistică în cazul tuturor probelor experimentale în privința aminoacizilor și aminelor biogene, excepție făcând unii dintre ei și anume: L-prolină, L-leucină, etanolamină, cadaverină și putresceină, în cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin. În schimb, pentru probele experimentale de Sauvignon blanc, testarea și interpretarea statistică între cele două perioade de timp, 12 luni de contact cu levuri, respectiv 18 luni, variațiile semnificative s-au produs pentru: L-glicină, 4-OH-prolină, L-metionină, L-serină, L-treonină, L-fenilalanină, L-tirozină, L-arginină, L-histidină, L-asparagină și L-cistină.

Aminele biogene prezintă aceeași tendință între probele experimentale, mai exact de a prezenta variații semnificative. Variația este semnificativă și explicată prin prisma modificărilor apărute la probele experimentale luate în studiu, în urma reacțiilor care intervin în timpul procesului de maturare pe levuri: de hidroliză, de esterificare și decarboxilare a aminoacizilor.

În tabelul 6.5 au fost inserate valorile mediei pentru factori specifici de grupare: perioada de maturare și tipurile de substanțe chimice eliberate în etapa de maturare pe levuri a vinului pentru probele experimentale de Sauvignon blanc și în tabelul 6.6 pentru probele experimentale de Busuioacă de Bohotin. A fost realizată o grupare a compușilor chimici cedați de produsele oenologice de maturare prin autoliză, astfel încât evaluarea a fost realizată în funcție de acest considerent.

Tabelul 6.5/ Table 6.5

Evaluarea valorilor medii pentru factori de grupare specifici a probelor experimentale de Sauvignon blanc
 Evaluation of the average values of specific grouping factors of the experimental samples of Sauvignon blanc

Aminoacizi determinați	Perioada de contact cu levurile		Compuși cedați prin autoliză enzimatică din produsele oenologice de maturare						
	12 luni	18 luni	PS/MN	PEP/MN/AO/AA	VT/AA	PVMD/ PVPD/ChT	GLu	MN/, 8-gl	Control
	1	2	1	2	3	4	5	6	7
GLY	20.48±3.66 ²	17.27±4.26 ¹	17.73±2.21	20.52±4.89	16.61±2.72	18.29±7.56	16.34±0.85	19.64±0.20	19.52±0.56
ALA	97.67±20.17 ²	41.26±36.33 ¹	95.63±15.12	79.57±48.63	54.56±14.10	53.81±26.36	57.17±20.71	55.01±20.72	60.31±42.63
VAL	32.88±6.66 ²	26.47±3.60 ¹	30.99±0.37	33.47±8.10	25.40±5.06	27.03±4.71	27.78±2.85	26.44±5.05	28.02±1.47
4OH-PRO	11.55±1.41	12.59±3.84	13.08±1.99	13.44±2.19 ⁶	12.57±1.31 ⁶	9.16±0.72 ⁶	10.51±0.35	7.14±3.14 ^{2,3,4,6}	13.48±3.88 ⁶
ILE	32.72±5.31 ²	16.13±4.89 ¹	25.14±5.82	26.29±15.06	23.28±8.04	24.81±10.39	22.48±8.23	24.92±9.98	17.34±5.06
LEU	15.98±3.19	28.98±18.00	19.88±7.74 ⁶	16.53±3.84 ⁶	14.78±1.36 ⁶	14.52±0.57 ⁶	15.30±1.58 ⁶	96.08±65.73 ^{1,2,3,4,5,7}	15.18±2.02 ⁶
MET	9.03±2.37 ²	7.38±1.31 ¹	7.28±1.45	9.46±2.43	7.31±1.20	7.06±2.05	8.60±1.17	7.65±0.93	7.94±0.06
SER	23.61±4.61 ²	16.30±3.87 ¹	20.49±1.27	23.59±5.56	15.67±4.18 ⁶	18.84±7.30	17.70±7.26	18.08±5.30 ³	18.92±6.47
TRE	23.08±5.20 ²	46.29±16.25 ¹	28.48±8.09	34.80±12.45	30.27±11.81	31.07±14.39	35.22±11.06	38.89±25.72	43.96±20.55
CYS	5.74±2.39 ²	1.75±1.25 ¹	3.68±1.58	4.23±3.26	3.04±0.79	5.95±1.98	4.81±1.78	1.98±0.12	1.66±0.79
PRO	94.22±14.6 ²	68.06±27.05 ¹	102.91±15.43	88.18±25.81	68.91±29.76	73.55±22.95	67.01±27.43	72.94±25.52	69.41±25.10
ASP	17.06±2.31 ²	8.43±4.40 ¹	16.18±1.63	14.96±5.77	10.88±6.53	10.46±6.27	10.73±2.25	10.12±6.03	8.92±2.12
FEN	18.32±3.62 ²	12.51±0.94 ¹	14.53±1.73	16.92±6.41	14.34±3.78	14.83±3.26	14.46±2.61	14.91±2.33	15.39±2.48
TRP	3.08±1.03 ²	1.24±0.59 ¹	1.59±1.13	2.73±1.74	1.84±1.14	2.72±1.10	2.16±0.11	1.47±1.39	1.62±1.43
TYR	1.93±0.62 ²	3.57±0.60 ¹	2.85±1.47	3.22±1.05	2.41±0.85	2.67±1.25	2.68±0.26	2.20±0.77	2.25±0.67
GLU	24.80±3.65 ²	11.09±2.99 ¹	16.03±6.43	19.38±9.07	14.54±8.61	20.88±15.42	20.59±8.38	16.91±8.39	17.92±5.56
LYS	23.79±4.85 ²	19.77±4.37 ¹	23.78±2.95	24.27±6.12	18.50±5.66	18.90±3.64	19.53±1.89	19.66±2.51	21.22±0.91
ARG	15.48±3.54 ²	6.79±2.84 ¹	8.84±6.53	13.20±7.49	10.39±5.26	10.38±4.48	9.72±4.50	11.29±5.06	10.69±3.28
HYS	0.18±0.01 ²	4.15±4.78 ¹	0.46±0.39	3.62±1.81	3.69±1.07	1.75±0.22	1.02±0.19	0.52±0.49	1.00±0.15
ASP_AC	21.35±3.35 ²	16.68±5.33 ¹	19.85±1.79	21.75±4.05 ⁴	16.68±3.19	11.98±2.08 ²	17.57±4.86	19.61±1.70	18.11±1.37
GLU_AC	30.07±5.45 ²	13.74±6.39 ¹	22.80±4.54	24.11±14.34	18.19±5.01	19.73±10.86	20.25±7.80	20.75±3.97	21.88±6.14
(CYS2)	0.11±0.05 ²	0.13±0.18	0.20±0.19	0.14±0.10	0.12±0.04	0.07±0.03	0.04±0.03	0.08±0.06	0.13±0.07
ETH	7.88±1.99	7.71±6.95	13.62±7.32	8.78±4.39 ^{3,4,5}	5.23±2.98 ²	5.06±1.63 ²	6.26±2.78 ²	4.70±0.81	6.32±0.78
FENH	0.18±0.04 ²	0.76±0.14 ¹	0.50±0.37	0.43±0.10	0.44±0.31	0.60±0.09	0.48±0.20	0.48±0.42	0.48±0.45
HISM	0.84±0.23 ²	2.28±0.74 ¹	0.89±0.65	1.57±0.82	1.67±0.91	1.91±0.61	1.56±0.20	1.80±1.33	1.86±0.11
TYRM	9.39±2.81 ²	18.55±2.69 ¹	15.63±6.99	14.46±4.72	12.46±3.65	13.57±6.43	14.70±1.10	9.18±3.59	14.67±6.01
SPMD	1.37±0.65 ²	2.40±0.72 ¹	1.38±0.35	2.05±0.56	1.79±0.73	2.08±1.87	1.64±0.72	2.34±1.28	1.89±1.40
CAD	0.36±0.08	0.44±0.16	0.52±0.13	0.39±0.12 ³	0.28±0.07 ^{2,4}	0.55±0.13 ³	0.42±0.05	0.33±0.17	0.39±0.01
PUT	7.71±1.04 ²	38.15±7.01 ¹	17.58±12.18	26.54±12.83	21.17±16.10	23.24±11.94	25.02±10.03	21.12±9.21	21.30±10.38

Tabelul 6.6/ Table 6.6

Evaluarea valorilor medii pentru factori de grupare specifici a probelor experimentale de Busuioacă de Bohotin
 Evaluation of the average values of specific grouping factors of the experimental samples of Busuioacă de Bohotin

	Perioada de contact cu levurile		Compuși cedați prin autoliză enzimatică din produsele oenologice de maturare						
Aminoacizi determinați	12 luni	18 luni	PS/MN	PEP/MN/AO/AA	VT/AA	PVMD/ PVPD/ChT	GLu	MN/, β-gl	Control
	1	2	1	2	3	4	5	6	7
GLY	18.6±2.46 ²	13.6±3.91 ¹	12.7±5.30	16.2±4.1	16.6±2.7	18.3±7.6	16.1±1.8	18.7±1.3	19.2±1.8
ALA	107.5±15.54	110.5±10.90	97.7±4.45	115.9±6.3	54.6±24.1	53.8±26.4	107.4±4.3	107.0±7.1	100.4±3.4
VAL	29.4±4.28	27.7±5.23	27.7±1.50	31.6±1.3 ³	25.4±5.1 ²	27.0±4.7	27.0±1.9	28.6±2.9	27.8±0.4
4OH-PRO	9.5±1.53 ²	7.8±1.81 ¹	8.0±3.27	8.0±1.3	12.6±1.3	9.2±0.7	10.2±0.1	7.9±0.6	9.4±2.1
ILE	35.6±4.01	24.0±16.10	27.0±10.10 ⁶	28.4±14.4 ⁶	23.3±8.0 ⁶	24.8±10.4 ⁶	24.3±12.2 ⁶	70.7±25.6 ^{1,2,3,4,5,7}	21.4±14.0 ⁶
LEU	14.8±2.18	16.6±4.44	17.0±1.63	17.3±4.1	14.8±1.4	14.5±0.6	15.4±4.0	13.3±0.8	11.5±2.8
MET	11.1±1.77 ²	4.8±3.31 ¹	6.6±2.78	8.3±5.3	7.3±1.2	7.1±2.1	7.0±3.9	10.4±1.3	11.2±0.0
SER	24.7±4.09 ²	20.2±4.21 ¹	19.2±5.96	23.9±5.6	15.7±4.2	18.8±7.3	22.8±1.1	22.6±1.0	22.3±0.3
TRE	21.4±3.51 ²	39.6±4.02 ¹	26.3±8.03	33.0±11.6	30.3±11.8	31.1±14.4	30.6±16.6	26.0±11.3	31.4±14.4
CYS	1.4±0.92	0.7±0.73	0.8±0.61	0.8±0.7	3.0±1.8	6.0±2.0	1.6±0.7	0.9±0.0	0.8±0.1
PRO	98.8±9.33	102.4±9.32	91.9±4.15 ³	99.0±6.2 ³	68.9±29.8 ^{1,2}	73.6±23.0	97.0±5.5	101.3±10.5	102.1±14.1
ASP	14.8±1.71	23.1±14.63	12.5±1.45 ⁶	14.7±1.8 ⁶	10.9±6.5 ⁶	10.5±6.3 ⁶	13.9±0.4 ⁶	76.4±35.3 ^{1,2,3,4,5,7}	14.0±0.2 ⁶
FEN	22.8±2.59 ²	18.8±1.80 ¹	19.3±2.19	21.9±3.0	14.3±3.8	14.8±3.3	19.8±2.5	20.5±1.5	20.0±0.2
TRP	3.4±1.42 ²	0.1±0.05 ¹	1.1±0.48	1.5±0.9	1.8±1.1	2.7±1.1	2.0±0.8	2.0±0.6	2.1±0.2
TYR	2.6±0.51 ²	5.1±1.27 ¹	4.1±2.05	4.4±2.1	2.4±0.9	2.7±1.2	3.6±1.8	3.8±1.8	3.4±1.7
GLU	13.5±1.50	14.5±6.82	11.2±3.86	13.4±4.6	14.5±8.6	20.9±15.4	19.1±6.5	18.7±6.2	12.3±2.8
LYS	31.7±3.12	30.8±5.61	31.7±1.46	34.1±2.6 ³	18.5±5.7 ²	18.9±3.6	31.8±3.6	32.4±5.8 ³	32.9±4.0
ARG	19.1±2.24 ²	12.3±4.51 ¹	15.7±2.52	17.6±2.3	10.4±5.3	10.4±4.5	15.8±2.6	14.0±6.3	13.0±7.7
HYS	0.2±0.01 ²	1.0±0.52 ¹	0.8±0.70	0.8±0.2	3.7±1.1	1.7±2.2	0.4±0.1	0.5±0.2	0.3±0.1
ASP_AC	24.2±2.71 ²	18.7±6.64 ¹	15.2±8.50	21.3±5.7	16.7±3.2	12.0±5.1	23.7±1.7	23.6±3.0	23.8±3.7
GLU_AC	18.6±2.46	27.9±5.74	27.8±3.54	28.6±2.9	18.2±5.0	19.7±6.9	28.1±1.7	28.7±6.7	25.9±4.8
(CYS2)	107.5±15.54 ²	0.5±0.35 ¹	0.5±0.43	0.4±0.1	0.1±0.0	0.1±0.0	0.2±0.08	0.2±0.05	0.6±0.1
ETH	29.4±4.28 ²	12.3±1.85 ¹	9.6±1.20 ⁵	10.7±1.2	5.2±3.0	5.1±2.6	13.2±1.5 ¹	11.5±1.6	12.4±2.9
FENH	9.5±1.53 ²	1.1±1.50 ¹	0.5±0.16	0.8±0.2	0.4±0.3	0.6±0.6	0.4±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1
HISM	35.6±4.01 ²	0.5±0.06 ¹	0.5±0.10	0.5±0.2	1.7±0.9	1.9±0.6	0.4±0.2	0.5±0.3	0.4±0.1
TYRM	14.8±2.18 ²	18.2±3.39 ¹	14.0±5.60	13.7±7.3	12.5±3.6	13.6±6.4	14.2±7.9	15.1±8.9	14.9±8.1
SPMD	11.1±1.77 ²	1.4±0.13 ¹	1.3±0.12 ³	1.4±0.1	1.8±0.7 ¹	2.1±1.9	1.4±0.2	1.4±0.1	1.3±0.0
CAD	24.7±4.09 ²	0.6±0.15 ¹	0.5±0.20	0.5±0.2	0.3±0.1	0.6±0.1	0.5±0.1	0.7±0.3	0.5±0.3
PUT	21.4±3.51 ²	26.5±5.92 ¹	16.2±13.01	17.1±13.9	21.2±16.1	23.2±5.9	19.8±5.4	19.4±5.8	19.8±6.8

Din punct de vedere compozițional, produsul utilizat la probele V12SB și V12BB, POWERLEES® ROUGE, cu conținut ridicat de manoproteine cu efect de stabilizare și β -glucanază ce prezintă capacitatea de a produce o accelerare a ratei de extracție a compușilor desprinși din pereți celulari de levuri prin autoliză și apariția lor în masa vinului. Astfel, s-a constatat în cazul unor aminoacizi ca L-leucină, 4-OH-prolină și L-asparagină pentru proba V12SB efecte semnificative din punct de vedere statistic în comparație cu celelalte tipuri de produse oenologice de maturare aplicate.

Pentru aminoacizi determinați L-izoleucină și L-asparagină la probele experimentale de Busuioacă de Bohotin, nivelele au fost superioare: $70,7 \pm 25,6$ mg/L pentru L-izoleucină și $76,4 \pm 35,3$ mg/L pentru L-asparagină în comparație cu proba martor (V1BB) care prezintă valori medii de $21,4 \pm 14,0$ mg/L, și în cazul probei V3BB tratată cu produsul oenologic din gama BÂTONNAGE, mai exact BÂTONNAGE PLUS ÉLEVAGE®, ce prezintă peptide, manoproteine și aminoacizi în compoziție. Valorile medii de $28,4 \pm 14,4$ mg/L au fost înregistrate în cazul aminoacidului L-izoleucină, iar pentru L-asparagină $10,5 \pm 6,3$ mg/L în cazul probei experimentale V8BB tratată cu produsul TRAP' METALS®, cu un conținut ridicat de PVI/PVP și chitosan, cu variații de $14,7 \pm 3,14$ mg/L pentru proba V3BB.

În cazul probelor experimentale de Sauvignon Blanc, produsele oenologice ce au conținut ridicat de manoproteine și prezintă enzime în constituția lor, în special β -glucanază au produs variații ale unor aminoacizi. Astfel, în cazul aminoacidului L-leucină s-a înregistrat variații de $96,08 \pm 65,73$ mg/L, deci a prezentat valori superioare față de celelalte probe tratate cu alte produse oenologice de maturare și de proba martor. Spre deosebire de L-leucină, aminoacidul L-4-OH-prolină a avut valori diferite statistic, de $7,14 \pm 3,14$ mg/L, confirmate de valori $P < 0,5$, dar inferioare față de celelalte produse administrate.

În tabelul 6.7 a fost inserată analiza de corelație. În cadrul matricelor de corelație a fost realizată analiza dintre variabilele descrise și dependența dintre ele. În acest caz au fost identificate modele de dependență semnificativă. A fost considerată valoarea coeficientului de corelație (r), dar și valoarea factorului de diferențiere (p – Pearson) pentru care valorile sunt semnificative în raport cu corelația dintre conținutul de aminoacizi, amine biogene și perioada de maturare, doza aplicată (g/10L) și conținutul de azot pentru cele 12 produse oenologice de maturare administrate probelor experimentale.

Pentru valorile care au prezentat diferențe semnificative între corelații, s-a identificat semnul factorului de corelație pentru care s-au asociat scăderi de concentrație în cazul valorilor negative sau creșteri de concentrație în cazul valorilor pozitive pentru variabila dependentă de acest factor, mai exact perioada de maturare.

Tabelul 6.7/ Table 6.7

Analiza de corelație cu privire la conținutul de aminoacizi și amine biogene în funcție de perioada de maturare, doza aplicată (g/10L) și conținutul în azot al produselor oenologice de maturare aplicate (%)

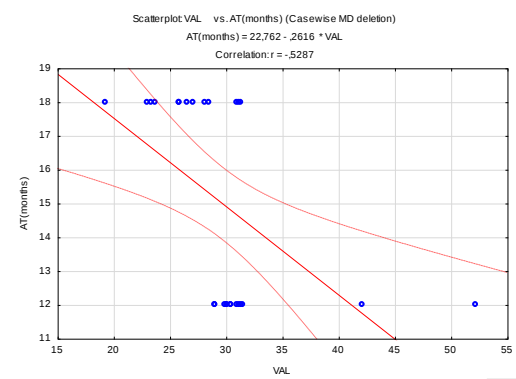
Correlation analysis regarding the content of amino acids and biogenic amines according to the maturation period, the applied dose (g/10L) and the nitrogen content of the applied oenological maturation products (%)

	Corelațiile marcate sunt semnificative la $p < ,05000$						
		Sauvignon Blanc			Busuioacă de Bohotin		
	Variabile	Timpul de maturare (luni)	Conținutul de azot(%)	Doza de produs oenologic (g/10L)	Timpul de maturare (luni)	Conținutul de azot(%)	Doza de produs oenologic (g/10L)
GLY	R(x,y)	-,6221	-,0906	-,0900	-,3887	-,0742	,0016
	P	p=,001	p=,660	p=,662	p=,050	p=,719	p=,994
ALA	R(x,y)	,1158	,4495	,3462	-,7068	,0755	,0580
	P	p=,573	p=,021	p=,083	p=,000	p=,714	p=,778
VAL	R(x,y)	-,1873	,1886	,3742	-,5287	,2312	,1554
	P	p=,360	p=,356	p=,060	p=,005	p=,256	p=,448
4OH-PRO	R(x,y)	-,4566	,0734	-,2886	,1848	,4075	-,2205
	P	p=,019	p=,722	p=,153	p=,366	p=,039	p=,279
ILE	R(x,y)	-,3077	-,1997	,0561	-,8607	,1068	,1514
	P	p=,126	p=,328	p=,786	p=,000	p=,603	p=,460
LEU	R(x,y)	,2541	,4586	,0046	,2075	-,2957	,0400
	P	p=,210	p=,018	p=,982	p=,309	p=,142	p=,846

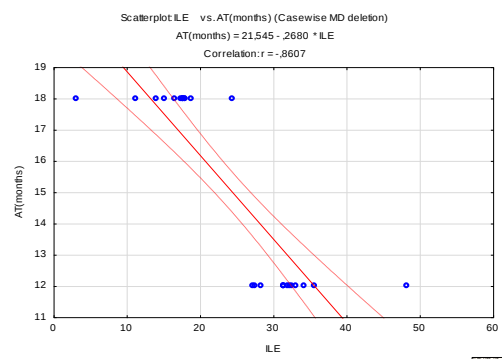
MET	R(x,y)	-,7778	-,1366	-,0887	-,4100	,3059	,0444
	P	p=,000	p=,506	p=,667	p=,037	p=,129	p=,829
SER	R(x,y)	-,4965	,2973	,1516	-,6662	,2233	,2552
	P	p=,010	p=,140	p=,460	p=,000	p=,273	p=,208
TRE	R(x,y)	,9289	,1734	,0185	,7075	-,1621	-,1678
	P	p=,000	p=,397	p=,929	p=,000	p=,429	p=,413
CYS	R(x,y)	-,3674	-,0453	,0425	-,7369	,0043	,2442
	P	p=,065	p=,826	p=,837	p=,000	p=,983	p=,229
PRO	R(x,y)	,1982	,0746	-,1288	-,5307	,0262	,1071
	P	p=,332	p=,717	p=,531	p=,005	p=,899	p=,603
ASP	R(x,y)	,1740	-,2930	,0504	-,7874	,2140	,1676
	P	p=,395	p=,146	p=,807	p=,000	p=,294	p=,413
FEN	R(x,y)	-,6876	,3691	,1080	-,7527	,1175	,0620
	P	p=,000	p=,063	p=,600	p=,000	p=,568	p=,764
TRP	R(x,y)	-,8595	-,0177	-,0236	-,7521	,1850	,2349
	P	p=,000	p=,932	p=,909	p=,000	p=,366	p=,248
TYR	R(x,y)	,8030	,1393	,2730	,8145	,2732	,2102
	P	p=,000	p=,497	p=,177	p=,000	p=,177	p=,303
GLU	R(x,y)	,1019	-,1545	,2943	-,9058	-,0060	,1275
	P	p=,620	p=,451	p=,144	p=,000	p=,977	p=,535
LYS	R(x,y)	-,0602	-,0701	,2377	-,4128	,1783	,0783
	P	p=,770	p=,734	p=,242	p=,036	p=,384	p=,704
ARG	R(x,y)	-,7036	,2421	,3098	-,8156	,1646	,0801
	P	p=,000	p=,233	p=,123	p=,000	p=,422	p=,697

HYS	R(x,y)	,7542	,1637	,2372	,5217	,3870	,1252
	P	p=,000	p=,424	p=,243	p=,006	p=,051	p=,542
ASP_AC	R(x,y)	-,4944	-,0565	,0086	-,4796	,2847	-,0422
	P	p=,010	p=,784	p=,967	p=,013	p=,159	p=,838
GLU_AC	R(x,y)	,1194	,3884	,1876	-,8199	,0244	,0239
	P	p=,561	p=,050	p=,359	p=,000	p=,906	p=,908
(CYS2)	R(x,y)	,6081	,0424	-,0304	,0917	-,0337	-,0622
	P	p=,001	p=,837	p=,883	p=,656	p=,870	p=,763
ETH	R(x,y)	,5296	-,0755	-,1820	-,0180	,0426	,0405
	P	p=,005	p=,714	p=,373	p=,930	p=,836	p=,844
FENH	R(x,y)	,4273	-,0552	-,0629	,9449	-,1426	,0339
	P	p=,029	p=,789	p=,760	p=,000	p=,487	p=,869
HIISM	R(x,y)	,6130	,0764	-,0263	,8073	-,1380	-,0543
	P	p=,001	p=,711	p=,899	p=,000	p=,502	p=,792
TYRM	R(x,y)	,8907	-,1234	,0445	,8662	,0408	-,0377
	P	p=,000	p=,548	p=,829	p=,000	p=,843	p=,855
SPMD	R(x,y)	-,1621	,2368	,1175	,6147	,0063	,0992
	P	p=,429	p=,244	p=,568	p=,001	p=,976	p=,630
CAD	R(x,y)	,7877	-,2381	,2373	,2969	-,2805	,3379
	P	p=,000	p=,241	p=,243	p=,141	p=,165	p=,091
PUT	R(x,y)	,9197	-,1353	,0571	,9535	,0744	,0419
	P	p=,000	p=,510	p=,782	p=,000	p=,718	p=,839

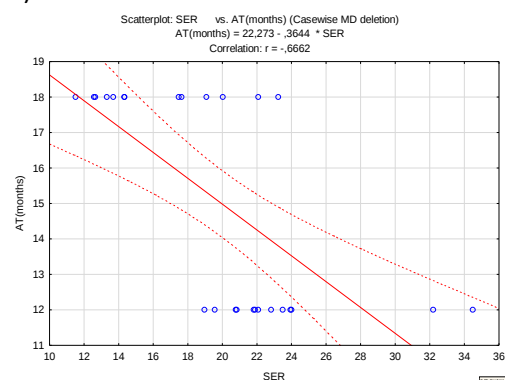
Aminoacizii în cazul probelor experimentale de Busuioacă de Bohotin, cu excepția următorilor L-4-OH-prolină, L-leucină și L-cistină, L-valină, L-izoleucină, L-serină, L-cisteină, L-fenilalanină, L-glutamină, care au prezentat corelații semnificative cu privire la evaluarea celor două perioade de maturare luate în studiu (figura 6.1.a) – f.).



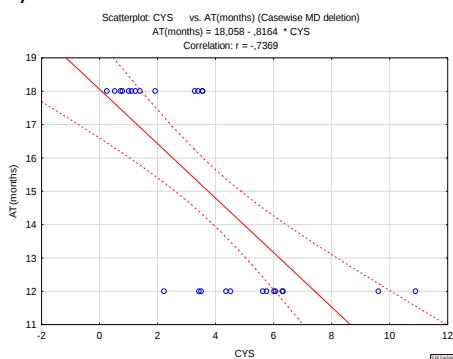
a)



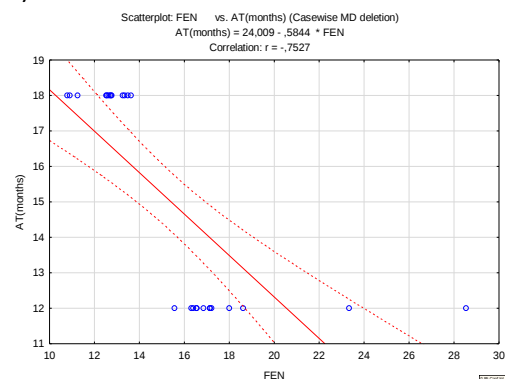
b)



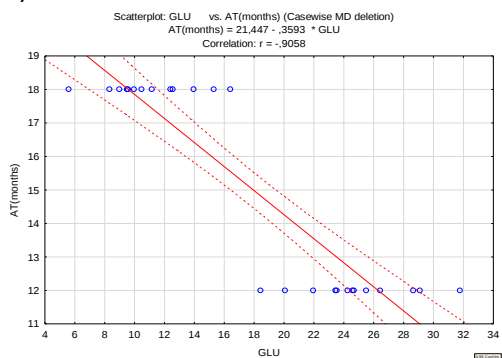
c)



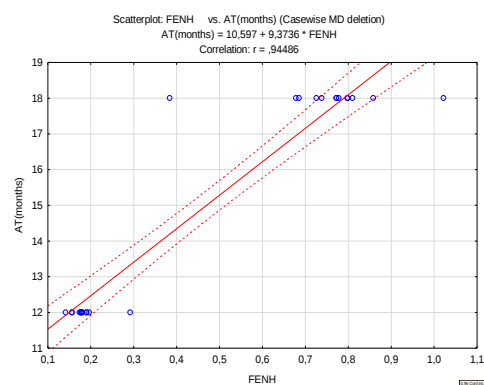
d)



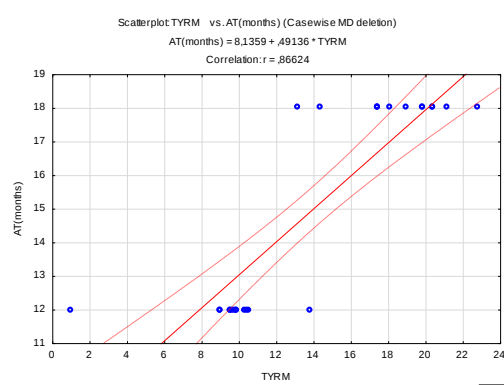
e)



f)



g)



h)

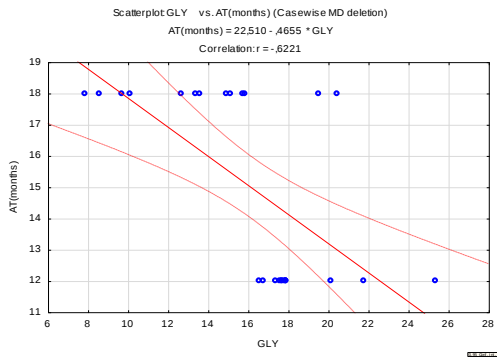
Figura 6.4 – Corelația dintre aminoacizi/amine biogene și perioada de maturare în cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin

Figure 6.4 – Correlation between amino acids/biogenic amines and aging on lees period in the case of Busuioaca de Bohotin samples

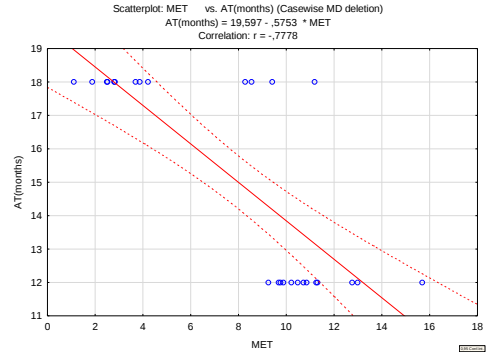
Astfel, au fost evidențiate valorile coeficienților de corelație negative, fapt ce a demonstrat o degradare a aminoacizilor acumulați pe parcursul etapelor de fermentație alcoolică, maturarea pe levuri și decarboxilare în amine biogene. În schimb, pentru aminele biogene fenilalanină (figura 6.1. g), histamină, tiramină (figura 6.1.h), spermidină și putresceină a fost evidențiată o creștere semnificativă a concentrațiilor după o perioadă de 18 luni de maturare pe levuri în cazul tuturor probelor, coeficienții de corelație fiind de 0,656, respectiv 0,999.

În analiza probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc, prin confirmarea analizei multivariate privind variațiile multiparametrice s-a efectuat testarea variațiilor liniare în raport cu alte variabile luate în analiză, precum doza de produs de maturare aplicată și conținutul de azot pe care îl au în compoziție produsele și sunt capabile să îl elibereze prin procesul de autoliză. În aceste situații, perioada de maturare a fost un factor important pentru variațiile concentrațiilor de aminoacizi, astfel că influența a fost similară cu cea a probelor experimentale de Busuioacă de Bohotin.

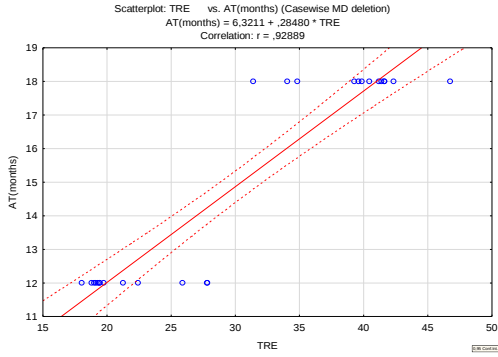
În vederea evaluării variației în funcție de perioada de maturare, au fost înregistrate modificări semnificative ale conținutului de aminoacizi. Acestea nu au prezentat doar variații în sensul degradării acestora și trecerii lor în amine biogene, astfel încât treonina, tirozina, histidina și cistina au prezentat valori pozitive, cistina de 0,6081 și tirozina de 0,8030 (Figura 6.2.a). – 6.2.f). Toate aminele biogene au prezentat creșteri ca și în cazul aminoacizilor, însă excepția a fost spermidina, ce a înregistrat scăderi semnificative. O corelație pozitivă în raport cu conținutul de azot al produselor oenologice de maturare, inserată în tabelul 6.7, s-a produs în cazul compușilor alanină ($r=0,44950$) (Figura 6.2.g), leucină ($r=0,4586$) (Figura 6.2.h) și acid glutamic ($r=0.3884$) (Figura 6.2.i).



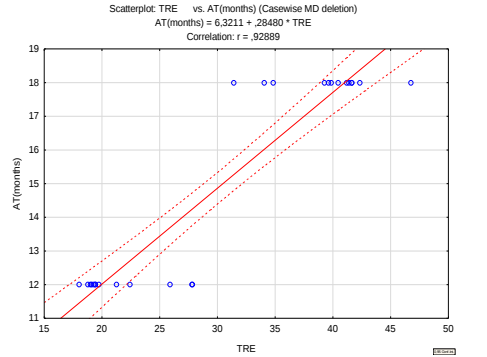
a)



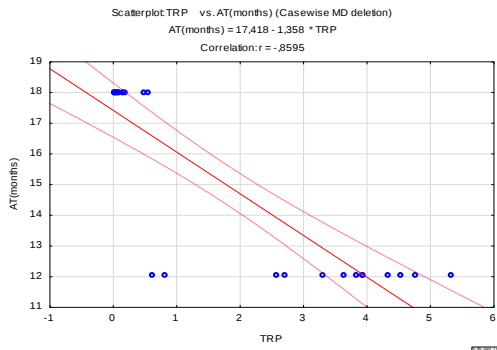
b)



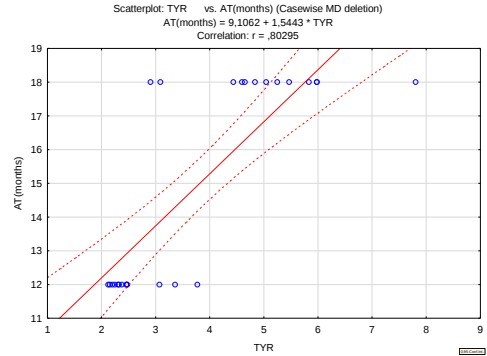
c)



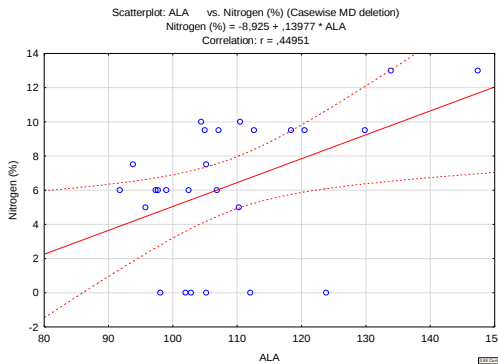
d)



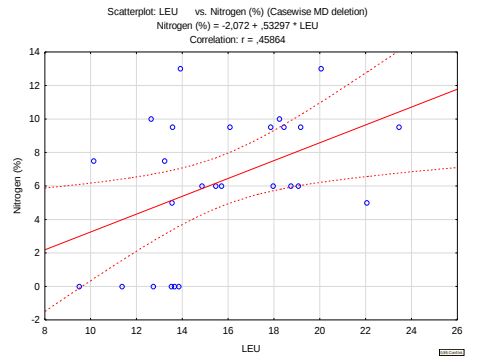
e)



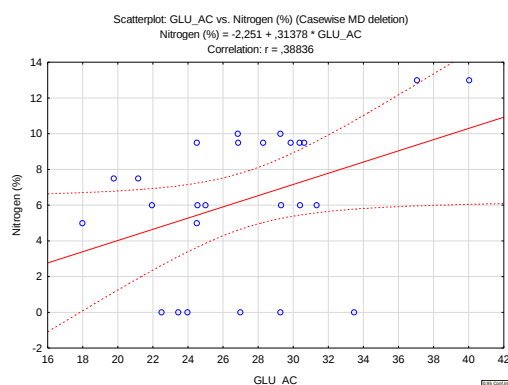
f)



g)



h)



i)

Figura 6.5 – Corelația dintre aminoacizi/amine biogene și perioada de maturare în cazul probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc

Figure 6.5 – Correlation between amino acids/biogenic amines and aging on lees period in the case of Sauvignon blanc samples

Analiza discriminantă a fost aplicată pentru a evidenția separarea rezultatelor în funcție de criteriile de clasificare. Pe măsură ce au fost stabilite mai multe asemănări între comportamentul de variație a compușilor determinați, în cazul probelor experimentale obținute din două soiuri diferite, a fost posibilă evaluarea unor funcții de discriminare cunoscute sub numele de surse (ROOT), cu relevanța statistică pentru care $p < 0,05$. Pentru a utiliza funcția de asociere, a fost luat în considerare contribuția fiecărui compus cu azot determinat la separarea grupurilor. Criteriile de diferențiere au fost stabilite pe baza mai multor variabile categoriale setate pentru compușii luați în analiză. Astfel, în vederea realizării analizei discriminante au fost luate în considerare dozele de produse oenologice adăugate, categoria de produs oenologic de maturare, tipurile de macromolecule cedate pe parcursul procesului enzimatic de autoliză levuriană. Datorită faptului că între diverse tipuri de produse oenologice administrate după fermentația alcoolică au fost găsite asemănări cu privire la compușii macromoleculari prezenți în compoziția lor.

A fost efectuată o normalizare și o asociere a mai multor tipuri de produse oenologice care prezintă proprietăți similare, cu mențiunea că la baza formării unor criterii relevante de separare a categoriilor de produse au stat caracteristicile diferite.

În cazul criteriului de diferențiere produs oenologic de maturare administrat (Figura 6.6 a), b), c)), funcțiile de discriminare au fost determinate pe baza următorilor compuși – valină, 4-OH-prolină, cistină, serină, prolină și cadaverină cu specificitate ridicată și semnificative din punct de vedere statistic ($p < 0,05$). Tot în această analiză au fost incluși histidina, glicina, fenilalanina, acidul aspartic, tiramina și etanolamina. În schimb la stabilirea funcțiilor de discriminare corespunzătoare tipului de compuși chimici cedați prin autoliză enzimatică în masa vinului (Figura 6.6.b)), de ,01308 aproximativ F (102,172)=1,9256 $p < ,0001$, spectrul de substanțe luate în analiză a fost alcătuit din 11 aminoacizi (leucină, asparagină, valină, glicină ($p < 0,05$), 4-OH-prolină, cistină, glutamină, fenilalanină ($p < 0,05$), cisteină, metionină ($p < 0,05$),

izoleucină, acid aspartic și serină, plus două amine biogene, mai exact putresceină și tiramină ($p < 0,05$).

Funcțiile canonice de diferențiere au fost cel mai puternic influențate de dozele aplicate din produsele oenologice de maturare, astfel au fost identificate 6 grupe individuale cu un anumit grad de separare specific ($0,00735$ aprox. $F(105,131) = 2,1741$ $p < 0,0000$). Pentru aminoacizii valină ($p < 0,05$), histamină ($p < 0,05$), fenilalanină ($p < 0,05$), 4-OH-prolină, lizină, serină ($p < 0,05$), prolină ($p < 0,05$), cistină, glicină ($p < 0,05$), acid aspartic, asparagină ($p < 0,05$), tirozină ($p < 0,05$), cisteină ($p < 0,05$), izoleucină ($p < 0,05$), arginină ($p < 0,05$), acid glutamic, alanină, glutamină, iar dintre amine biogene menționăm cadaverină, spermidină și etilamină. Chiar dacă spectrul de compuși a fost mai ridicat la analiza discriminantă utilizând variabile de diferențiere, precum doza de produs oenologic utilizată în etapa de maturarea pe levuri și categoria de substanțe chimice cedate prin autoliză în masa vinului, puterea de discriminare a modelelor a fost mai limitată, în sensul că a fost posibilă separarea unei zone corespunzătoare pentru manoproteine, β -glucanază, ceea ce demonstrează influența produsului de maturare aplicat asupra profilului de aminoacizi și amine biogene corespunzător.

În schimb, la evaluarea dozelor administrate în vederea maturării probelor experimentale pe levuri, s-a relevat faptul că dozele de 6 g produs oenologic/10L vin au produs zone de separare distinctivă la nivelul aminoacizilor și aminelor biogene (Figura 6.6.c). Figura 6.4.a). confirmă mai multe zone de separare, chiar dacă analiza este constituită pe contribuția unui număr mai mic de aminoacizi, dar pe mai multe categorii de substanțe chimice cedate prin autoliză: manoproteine (BÂTONNAGE BODY®, SUPER-MANN®), enzime (POWERLEES® ROUGE) și polizaharide, compușii cu azot (BÂTONNAGE PLUS 150 KD®).

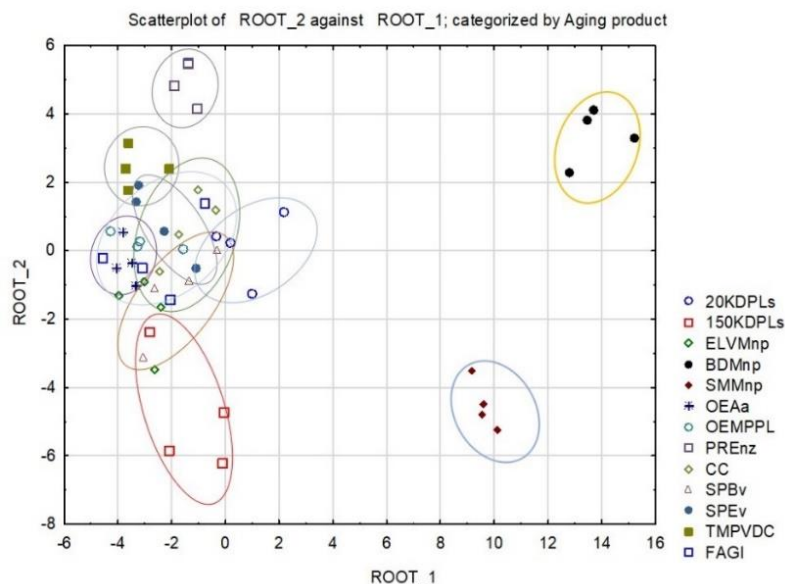


Figura 6.6.a). – Distribuția variabilelor dependente de tipul de produs oenologic administrat în etapa de maturare pe levuri

Figure 6.6. a). - Distribution of dependent variables according of the type of oenological product given in the yeast maturation stage

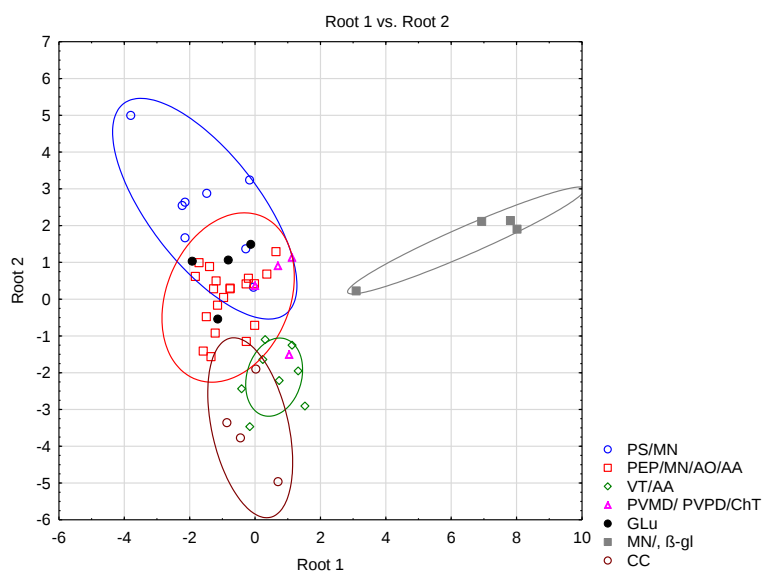


Figura 6.6.b). – Distribuția variabilelor dependente în funcție de tipul de compuși chimici cedați în probele de vin pe parcursul maturării pe levuri

Figure 6.6.b). – Distribution of dependent variables according of the type of chemical compounds given in wine samples in the yeast maturation stage

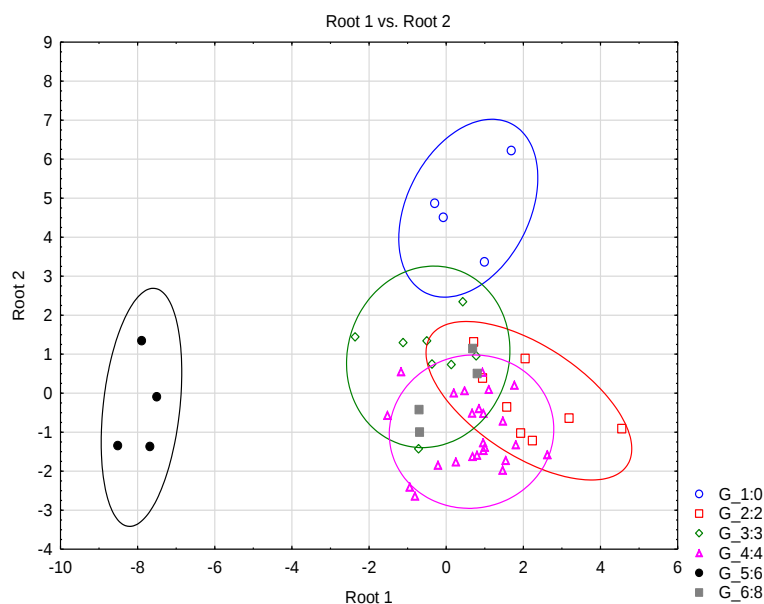


Figura 6.6.c). – Distribuția variabilelor dependente în funcție de doza aplicată la maturare pe levuri a probelor de vin

Figure 6.6.c). – Distribution of the dependent variables according to the dose of oenological products applied to wine samples in the yeast maturation stage

Analiza componentelor principale (PCA) a fost aplicată în condițiile în care analiza caracteristicilor probelor experimentale cu privire la identificarea aminoacizilor și aminelor biogene din probele experimentale luate în studiu au fost diferențiate în funcție de soiul de struguri, Sauvignon blanc, respectiv Busuioacă de Bohotin. În cazul probelor experimentale, 13 din soiul Sauvignon blanc, respectiv 13 din soiul Busuioacă de Bohotin, dintre care separăm probele V13SB și V13BB în care nu s-a administrat nici un produs oenologic de maturare, fiind numite probe martor sau de control, în cazul celorlalte probe au fost administrate în mod similar aceleași produse oenologice de maturare și aceleași doze, astfel a fost posibilă stabilirea acelorași substanțe cedate prin autoliză enzimatică, cu rol activ în determinarea profilului aromatic și a compușilor cu azot (aminoacizi, amine biogene).

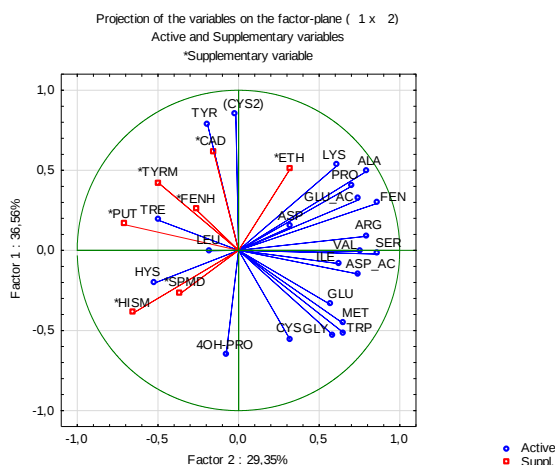


Figura 6.7 - Analiza componentelor principale – a). Distribuția variabilelor active (principale) – aminoacizi și variabile suplimentare – amine biogene

Figure 6.7 – Principal component analysis – a). Distribution of active (main) variables – amino acids and additional variables – biogenic amines

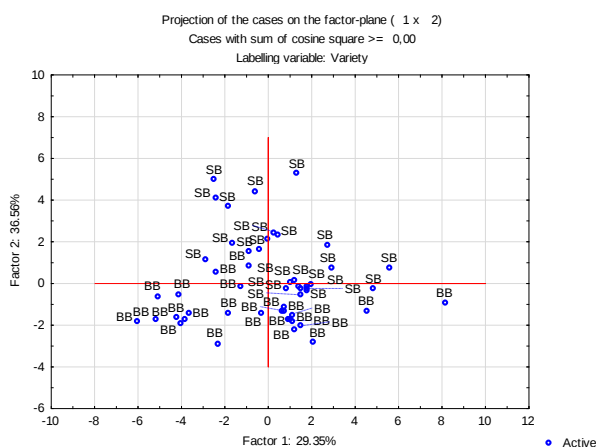


Figura 6.7. b). Asocierea variabilelor active și suplimentare cu factorii de grupare
b). Associating of active and additional variables with grouping factors

În cadrul analizei componentelor principale, au fost identificați doi factori de diferențiere, mai exact factorul F1 (35,56 %) și factorul F2 (29,35 %). Pentru a fi posibilă diferențierea, aminoacizii au reprezentat variabilele active și aminele biogene variabilele suplimentare (figura 6.7.b).). Variabilele categoriale au fost distribuite în funcție de soiul de struguri din care au fost obținute probele experimentale și au fost incluse în analiza de distribuție după cei doi factori de diferențiere. S-a constatat în figura 6.7.b). faptul că pentru cele două soiuri, Sauvignon blanc, respectiv Busuioacă de Bohotin este caracteristic factorul F1, astfel încât probele au fost diferențiate în două cadrane, cu probele obținute din soiul Sauvignon blanc situate în partea superioară, iar probele obținute din soiul Busuioacă de Bohotin în partea inferioară.

Prin realizarea unei observații la figura 6.7.a)., se constată faptul că din categoria aminelor biogene, doar spermidina și histamina, iar din categoria aminoacizilor, menționăm următorii: 4-OH-prolina, cisteina, glicina, metionina, triptofanul, metionina, glutamina, acidul aspartic, izoleucina și valina, sunt cei care au avut o variație direct proporțională, fiind încadrați în zona inferioară ce aparține de F1, deci sunt caracteristice probelor obținute din soiul Busuioacă de Bohotin. Restul variabilelor au fost încadrate în zona superioară, în cadranul superior, deci sunt caracteristice probelor obținute din soiul Sauvignon blanc.

Analiza de cluster – În cadrul studiului privind evoluția aminoacizilor și aminelor biogene pe parcursul etapei de maturare pe levuri cu administrarea de 12 produse oenologice comerciale de maturare imediat după fermentația alcoolică, au fost identificați în cele 26 probe experimentale un număr de 22 aminoacizi și 7 amine biogene (inserate în tabelul 6.7).

Evoluția compușilor a fost grupată ușor diferit în cazul celor două soiuri studiate, astfel în cazul probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc, compușii identificați au putut fi clasificați în două clustere principale, conform datelor inserate în figura 6.8.a)., atât în funcție de clasa de compuși eliberați prin autoliză enzimatică, precum și în funcție de tipul de produs oenologic comercial administrat. Primul cluster a fost format de următorii compuși identificați în probele de vin: acid aspartic, triptofan, glutamină, serină, spermidină și glicină, iar al doilea cluster a fost realizat de restul compușilor identificați.

Din punct de vedere a factorilor de influență pentru distribuție au fost realizate 3 clustere principale. La probele de Sauvignon Blanc se pot identifica 2 clustere (Figura 6.8.a).), care sunt asociate factorului perioadă de maturare, confirmată și de alte studii efectuate anterior. În schimb, este remarcată influența apartenenței pe care o are două produse de maturare, în cazul probelor V4SB (BÂTONNAGE BODY®), V5SB (SUPER-MANN®). Produsele au prezentat o influență semnificativă prin facilitarea unor nivele mai ridicate de aminoacizi și amine biogene, fapt care a condus la individualizarea unui cluster separat. De altfel, distribuția în funcție de perioada de maturare, evidențiată prin al doilea cluster poate fi împărțită în două sub-clustere, unul dintre acestea fiind conturat de contribuția următoarelor produse administrate: BÂTONNAGE PLUS 20KD® (administrat la proba V1SB), BÂTONNAGE PLUS 150 KD® (V2SB), BÂTONNAGE PLUS ÉLEVAGE® (V3SB), BÂTONNAGE BODY® (V4SB) și produsul SUPER MANN® (V5SB).

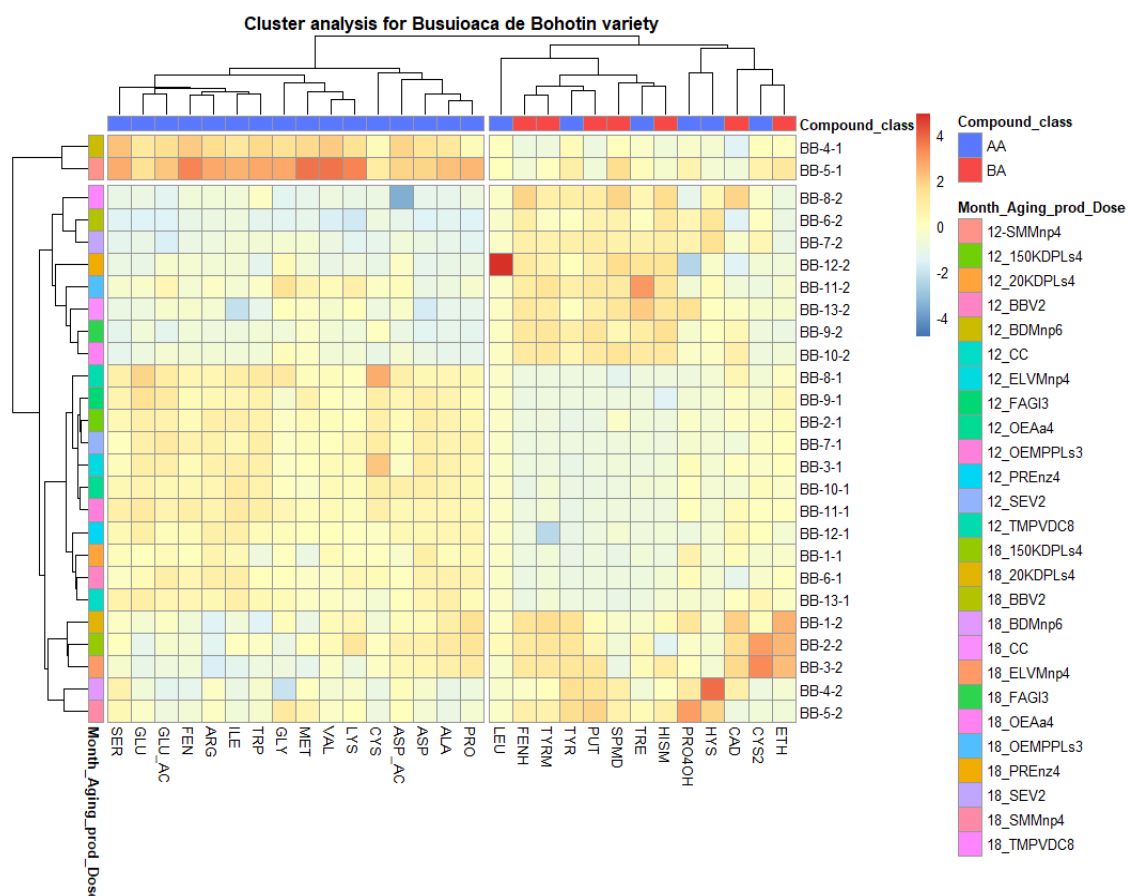


Figura 6.8.b). – Modificările concentrațiilor de aminoacizi și amine biogene în funcție de clasa de compuși cedați prin autoliză din produsele oenologice de maturare, doza diferită aplicată pentru probele experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin

Figure 6.8.b). – The changes in the concentrations of amino acids and biogenic amines according to the class of compounds yielded by autolysis from the oenological maturation products, the different dose applied for the experimental samples obtained from the Busuioaca de Bohotin variety

CONCLUZII

Calitatea vinurilor a fost adesea asociată cu aria lor geografică de producție și cu soiul de struguri, mai exact cu calitatea materiei prime utilizate în elaborarea lor, dar și cu procesul tehnologic. Maturarea vinului pe levuri reprezintă un pas fundamental pentru complexitatea și profunzimea aromei.

În etapa de maturare pe levuri apar o serie de modificări chimice, au loc mai multe procese ce contribuie la caracteristicile senzoriale finale. Compoziția fizico-chimică evoluează ca o consecință a modificărilor importante care se dezvoltă din reacții de esterificare, hidroliză, redox, difuzia lentă și continuă a oxigenului, îndepărtarea dioxidului de carbon și limpezirea spontană.

Aroma reprezintă un criteriu important de calitate al produselor alimentare, precum și a vinului, astfel ea constituie unul din cele mai importante aspecte ce contribuie la aprecierea finală a unui vin de către consumatori. Prin etapa de maturare pe levuri, din prisma diferitelor reacții și interacțiunii de natură fizico-chimice, percepția aromei finale a vinului este influențată.

Produsele oenologice utilizate pentru etapa de maturare pe levuri prezintă o influență redusă asupra parametrilor fizico-chimici, se observă o creștere a extractului nereducător la probele V3SB, V5SB, V12SB, V5BB, V12BB în comparație cu probele martor V13SB, V13BB. Cu privire la aciditatea totală a probelor de vin se poate observa o ușoară scădere în urma etapei de maturare cu diferite produse oenologice.

Dozele diferite de produse oenologice utilizate în maturarea pe levuri și agitarea periodică a probelor de vin nu au avut o influență semnificativă asupra parametrilor cromatici, intensitatea și nuanța probelor experimentale obținute din soiurile Sauvignon blanc și Busuioacă de Bohotin nu au suferit mari modificări în urma procesului autolitic.

Probele experimentale V12SB, V4SB, V2SB, V3SB au înregistrat cele mai mari valori ale concentrației de tiramină după 18 luni de maturare pe levuri, se observă o creștere între cele două intervale de timp în care au fost realizate analizele, 12 luni de contact cu levurile, și ulterior după încă 6 luni. Creșterea este în corelație cu scădere conținutului de L-fenilalanină, deci enzima TDC nu a participat la decarboxilarea aminoacidului precursor și nu a influențat conținutul de L-tirozina care a înregistrat creșteri cantitative în intervalul următor de timp.

În cazul probelor experimentale de Sauvignon blanc s-au înregistrat valori ridicate ale conținutului de putresceină după 18 luni de maturare pe levuri, cele mai ridicate au fost în cazul probelor V12SB, V3SB și V8SB, modificări ce au fost în corelație cu cantitățile mari ale aminoacidului precursor L-arginină în primele 12 luni de maturare pe levuri, după care s-a înregistrat o scădere la toate probele după încă 6 luni de maturare. Deci, cantitățile mari de putresceină apar în urma reacției de decarboxilare a argininei.

Cu privire la conținutul de aminoacizi al probelor experimentale, se observă atât în cazul celor obținute din soiul Sauvignon blanc, cât și a celor obținute din soiul Busuioacă de Bohotin cele mai mari valori la L-alanină și L-prolină după 18 luni de maturare pe levuri.

În vederea evaluării variației în funcție de perioada de maturare, au fost înregistrate modificări semnificative ale conținutului de aminoacizi în cazul probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon Blanc, cât și din soiul Busuioacă de Bohotin. Acestea nu au

prezentat doar variații în sensul degradării acestora și trecerii lor în amine biogene, astfel încât aminoacizii L-treonină, L-tirozină, L-histidină și L-cistină au prezentat valori pozitive.

În schimb, la evaluarea dozelor administrate în vederea maturării probelor experimentale pe levuri, s-a relevat faptul că dozele de 6g produs oenologic/10L vin au produs zone de separare distinctive la nivelul aminoacizilor și aminelor biogene în cazul probelor V4SB, respectiv V4BB.

În urma interpretărilor statistice, percepția notelor olfactive verde și mineral au avut variații importante în cazul probelor experimentale obținute din soiul de struguri Sauvignon blanc, variația a fost invers proporțională cu dozele utilizate la cele 12 probe în comparație cu proba de control.

Cu privire la corelația realizată între percepțiile senzoriale și dozele de produse oenologice aplicate, analiza statistică reprezintă o confirmare a capacității produselor cu un conținut ridicat de peptide pentru a crește percepția de citrice, fructe albe și fructe verzi, după 18 luni de contact a probelor experimentale cu respectivul produs oenologic de maturare utilizat.

Vinurile se remarcă printr-o structură bună, corpolență și stabilitate fizico-chimică în timp, toate acestea sunt datorate contactului prelungit cu produsele oenologice de maturare.

CONCLUSIONS

The quality of wines was often associated with their geographical area of production and with the variety of grapes, more precisely with the quality of the raw material used in their elaboration, but also with the technological process. Ageing wine on lees is a fundamental step for a wine complexity and depth flavour.

During the ageing on lees stages, a series of chemical changes occur, several processes take place that contribute to the final sensory characteristics. The physico-chemical composition evolves as a consequence of important changes that develop from esterification, hydrolysis, redox reactions, slow and continuous diffusion of oxygen, removal of carbon dioxide and spontaneous clarification.

Aroma represents an important quality criteria of food products, as well as of wine, thus it constitutes one of the most important aspects that contribute to the final appreciation of a wine by consumers. Through the stage of ageing on lees, from the perspective of carious reactions and physical-chemical interaction, the perception of the final aroma of the wine is influenced.

The oenological products used for the ageing on lees stage show little influence on the physico-chemical parameters, an increase of the non-reducing extract is observed in samples V3SB, V5SB, V12SB, V5BB and V12BB compared to the control samples V13SB, V13BB. Regarding the total acidity of the wine samples, a slight decrease can be observed following the ageing on lees stage with different oenological products.

The different doses of oenological products used in the ageing on lees and the stirring of the wine samples did not have a significant influence on the chromatic parameters, the intensity and the nuance of the experimental samples obtained from the Sauvignon Blanc and Busuioaca de Bohotin grape varieties did not undergo great changes following the autolytic process.

Experimental samples V12SB, V4SB, V2SB, and V3SB recorded the highest tyramine concentration values after 18 months of ageing on lees, an increase is observed between the two time intervals in which the analyses were carried out, 12 months of contact with lees, and subsequently after another 6 months. The increase is correlated with a decrease in the content of L-phenylalanine, so the TDC enzyme did not participate in the decarboxylation of the precursor amino acid, and not L-tyrosine which registered quantitative increases in the following time interval.

In the case of the experimental samples of Sauvignon Blanc, high values of the putrescine content were recorded after 18 months of ageing on lees; the highest were in the case of the samples V12SB, V3SB and V8SB, changes that were correlated with the large amounts of the precursor amino acid L-arginine during the first 12 months of maturation on yeasts, after which a decrease was recorded in all samples after another 6 months of maturation. So, the large amounts of putrescine arise from the decarboxylation reaction of arginine.

Regarding the amino acid content of the experimental samples, the highest values for L-alanine and L-proline can be observed both in the case of those wines obtained from Sauvignon Blanc grape variety and those wines obtained from Busuioaca de Bohotin grape variety after 18 months of ageing on lees.

In order to evaluate the variation to the ageing period, significant changes in the amino acid content were recorded in the case of the experimental samples obtained from Sauvignon Blanc variety, as well as from the Busuioaca de Bohotin variety. They did not only show variations in the sense of their degradation and passage into amino acids, so that the amino acid L-threonine, L-tyrosine, L-histidine and L-cystine showed positive values.

On the other hand, when evaluating the doses administered in order to ageing on lees the experimental samples, it was released that the dose of 6g oenological product/10L wine produced distinctive separation zones at the level of amino acids and biogenic amines in the case of V4SB and V4BB.

Following statistical interpretations, the perception of green and mineral notes had important variations in the case of the experimental samples obtained from the Sauvignon Blanc grape variety, the variation was inversely proportional to the doses used in the 12 samples compared to the control sample.

Regarding the correlation made between the sensory perceptions and the doses of oenological products applied, the statistical analysis represents a confirmation of the ability of products with a high content of peptides to increase the perception of citrus fruits, white fruits and green fruits, after 18 months of contact of the experimental samples with the respective ageing product used.

The wines stand out for their structure, body and physico-chemical stability over time; all of these are due to the prolonged contact with oenological ageing products.

BIBLIOGRAFIE REFERENCES

1. Alcaide-Hidalgo J. M., Moreno-Arribas M. V., Martín-Álvarez P. J., Polo M. C., 2007 – *Influence of malolactic fermentation, postfermentative treatments and ageing with lees on nitrogen compounds of red wines*, Food Chemistry 103, p. 572-581.
2. Alexandre H., Guillox-Benantier M., 2006 – *Yeast autolysis in sparkling wine*, Aust. J. Grape Wine Res., 12, p. 119-127.
3. Alexandre H., Heintz D., Chassagne D., Guillox-Benantier M., Charpentier C., Feuillat M., 2001 – *Protease A activity and nitrogen fractions released during alcoholic fermentation and autolysis in enological conditions*, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 26, p. 255-240.
4. Álvarez-Fernández M. A., Carafa I., Vrhovsek U., Arapites P., 2020 – *Modulating Wine Aromatic Amino Acid Catabolites by Using Torulospira delbrueckii in Sequentially Inoculated Fermentations or Saccharomyces cerevisiae Alone*, Microorganisms, 8 (9), p.1349
5. Amerine A., 1983 – *Wines: Their Sensory Evaluation*, W. F. Freeman & Co.
6. Ancin C., Ayestran B., Garcia A., Garrido J., 1988 – *Evolution of fatty acids content in Granacha and Viura musts during fermentation and ageing wine*, Z. Lebensm. – Unters. Forsch., 2006, p. 143-147.
7. Andújar Ortíz I., Moreno-Arribas M. V., Martín-Alvarez P. J., Pozo-Bayón M. A., 2009 – *Analytical performance of three commonly used extraction methods for the gas chromatography-mass spectrometry analysis of wine volatile compounds*, Journal of chromatography A., 1216 (43), p. 7351-7357.
8. Arizumi K., Suzuki Y., Kato I., Yagi Y., Otsuka K., Sato M., 1994 – *Winemaking from Koshu variety by the sur lie method: change in the content of nitrogen compounds*, American Journal of Enology and Viticulture 3, p. 312-318.
9. Augustin M., 1986 – *Etude de l'influence de certains facteurs sur les composés phénoliques du raisin et du vin*, Thèse de doctorat en Sciences, OEnologie.
10. Babayan T. L., Berzakov M. G., Latov V., Belikov V., Belavsteva E., Titova E., 1981 – *Induced autolysis of Saccharomyces cerevisiae: morphological effects, theological effects and dynamics of accumulation of extracellular hydrolysis products*, Current Microbiology, 5, p. 163-168.
11. Babayan T. L., Berzakov M. G., 1985 – *Autolysis in yeast*, Acta Biotechnologia, n.2, p. 129-136.
12. Bartoshuk L. M., Rifkin B., Marks L. E., Bars P., 1986 – *Taste and aging*, Journal of Gerontology 41 (1), p. 51-57.
13. Bertuccioli M., Ferrari S., 1999 – *Laboratory experience on the influence of yeast in mouthfeel*, Proceedings, Les entretiens scientifiques de Lallemend. Montreal, Canada.
14. Bover-Cid S., Iquiedo-Pulido M., Mariné-Font A., Vidal-Carou M. C., 2006 – *Biogenic mono-, di- and polyamine contents in Spanish wines and influence of a limited irrigation*, Food Chemistry 96, p. 43-47.

15. Buteau C., Duitschaever C. L., Ashton G. C., 1984 – *A study of the biogenesis of amines in a Villard Noir wine*, American Journal of Enology and Viticulture 35, p. 228-236.
16. Buxaderas S., López -Tamames L., 2012 – *Ultrastructural changes of sparkling wine lees during long-term aging in real enological conditions*, FEMS Yeast Res., 12 (4), p. 466-476.
17. Caridi A., 2006 – *Enological functions of parietal yeast mannoproteins*, Antoine van Leeuwenhoek 89, p. 417-422.
18. Carneviller V., 1999 – *Contribution à l'étude des fractions azotées et plus particulièrement des peptides du moût de raisin et du vin. Application à la caractérisation des vins de cépage Chardonnay*, Thèse de doctorat, Sciences biologiques fondamentales et appliquées : industries agro-alimentaires, Université de Dijon.
19. Carneviller V., Charpentier C., Feuillat M., 1999 – *Production de peptides par Saccharomyces cerevisiae au cours de fermentation alcoolique et d'autolyse dans un moût de Chardonnay*, Œnologie 1999, Bordeaux, p. 287-289.
20. Cebollero E., Carrascosa A. V., Gonzalez R., 2005 – *Evidence for yeast autophagy during simulation of sparkling wine aging: a reappraisal of the mechanism of yeast autolysis in wine*, Biotechnology Progress 21, p. 614-616.
21. Charpentier C., Nguyen Van Long T., Bonaly R., Feuillat M., 1986 – *Alteration of cell wall structure in Saccharomyces cerevisiae and Saccharomyces bayanus during autolysis*, Applications in Microbiology and Biotechnology, 24, p. 405-413.
22. Charpentier C., Feuillat M., 1992 – *Yeast autolysis*, In : *Wine microbiology and biotechnology*, G. FLEET ed., Chur (Suisse), Harwood academic publisher, p. 225-242.
23. Charpentier C., 2000 – *Yeast autolysis and yeast macromolecules? Their contribution to wine flavour and stability*, American Journal of Enology and Viticulture, 51, p. 271-277.
24. Charpentier C., Aussenac J., Charpentier M., Prome J. C., Duteurtre B., 2005 – *Release of Nucleotides and Nucleosides during Yeast Autolysis: Kinetics and Potential Impact on Flavor*, Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2005, 53, 8, p. 3000-3007.
25. Charpentier C., 2010 – *Ageing on lees (sur lies) and the use of speciality inactive yeasts during wine fermentation*, Managing Wine Quality, Oenology and Wine Quality, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition 2010, p. 164-187.
26. Chen E., Jamieson M., Van Cheluwe G., 1980 – *The release of fatty acids as a consequence of yeast autolysis*, J. Am. Soc. Brew. Chem., 1, p. 13-18.
27. Chretien D., Sudraud P., 1993 – *Présence naturelle d'acide D(+) malique dans les moûts et les vins*, Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 27, p. 147-149.
28. Chung S. H., 1986 – *Contribution à l'étude de la formation des composés volatils au cours de l'autolyse des levures de vinification*, Doctorat de 3^{ème} cycle, University of Burgundy, Dijon, France.
29. Clarke R. J., 2004 – *Wine: Flavour Chemistry*, John Wiley & Sons, p.336.
30. Cohn M. S., Taborm C. W., Tabor H., Wickner R. B., 1978 – *Spermidine or Spermine requirement for killer double-stranded RNA plasmid replication in yeast*, Journal of Biology and Chemistry 253, p. 5225-5227.

31. Constantini A., Cersosimo M., Del Prete V., Garcia-Morun E., 2006 – *Production of biogenic amines by lactic acid bacteria: Screening by PCR, thinlayer chromatography, and HPLC of strains isolated from wine and must*, Journal of Food Protection 69, p. 391-396.
32. Courtis K., Todd B., Zhao J., 1998 – *The potential role of nucleotides in wine flavour*, Australian Grapegrower and Winemaker 409, p. 51-53.
33. Cotea V. D., 1985 – *Tratat de œnologie, vol. I*, Editura Ceres, București.
34. Cotea V. D., Barbu N., Grigorescu C. C., Cotea V. V., 2003 – *Podgoriile și vinurile României*, Editura Academiei Române.
35. Cotea V. D., Zănoagă C., Cotea V. V., 2009 – *Tratat de Oenochimie*, Editura Academiei Române, București.
36. Cotea V. V., 2019 - *Astringency estimation of wines maturing in different types of containers*, BioConferences.
37. Coton E., Torlois S., Bertrand A., Lonvaud-Funel A., 1999 – *Biogenic amines and wine lactic acid bacteria*, Bulletin OIV 815, P. 22-35.
38. Coton E., Coton M., 2005 – *Multiplex PCR for colony direct detection of Gram-positive histamine and tyramine-producing bacteria*, Journal of Microbiology, Methods 63, p. 296-304.
39. Croitoru C., 2001 – *Cercetări privind influența utilizării unor produse oenologice obținute prin degradarea termică și enzimatică a pereților celulari de drojdii autolizate după finalizarea fermentației alcoolice asupra calității și stabilității vinurilor*, Contract nr. 454/2001.
40. Croitoru C., Bulancea M., 2001a, 2001b – *Influența unor preparate enzimatice complexe și a unor procese enzimatice generatoare de produse oenologice asupra calității și stabilității vinurilor*, Simpozionul național Alimente și sănătatea la începutul mileniului III, Galați, Editura Academica.
41. Croitoru C., 2005a – *Adjuvanți de origine levuriană utilizați în oenologie*, Cea de a III-a Conferință științifico-internațională. In Wine 2005, Chișinău, Republica Moldova.
42. Croitoru C., Nedjma M., Moutounet M., Mencinicopschi Gh., Busuioc P. O., Codreși C. C., Viziteu G., Atodiresei N., Cox P. H., Voloacă F., Carapid P., 2007b – *Influența unor adjuvanți oenologici naturali de origine levuriană asupra stabilității fizico-chimice și a însușirilor olfacto-gustative ale vinurilor*, Sesiunea științifică anuală a I. C. D. V. V. Valea Călugărească, 06 septembrie 2006.
43. Croitoru C., 2009 – *Tratat de știință și inginerie oenologică. Produse de elaborare și maturare a vinurilor*, Editura Agir, București.
44. Damian Doina, Rotaru Liliana, Nechita Ancuța, Savin Costică, 2011 – *Ampelografie – Metode și metodologii de descriere și recunoaștere a soiurilor de viță de vie*, Editura PIM, Iași, p. 242.
45. Del-Barrio-Galán R., Pérez-Magariño S., Ortega-Heras M., Williams P., Doco T., 2011 – *Effect of ageing on lees and of three different dry yeast derivative products on Verdejo white wine composition and sensorial characteristics*, Journal Agriculture Food Chemistry 59, p. 12433-12442.
46. Del-Barrio-Galán R., Ortega-Heras M., Sánchez-Iglesias M., Pérez-Magariño S., 2012a – *Interactions of phenolic and volatile compounds with yeast lees, commercial yeast*

derivatives and non toasted chips in model solutions and young red wines, European Food Research and Technology, 234, p. 231-244.

47. Del-Barrio Galán R., Ortega-Heras M., Sánchez-Iglesias M., Pérez-Magariño S., 2012b – *Polysaccharide characterization of commercial dry yeast preparations and their effect on white and red wine composition*, LWT – Food Science and Technology, 48, p. 215-223.

48. Del-Barrio Galán R., Marcela Medel-Maraboli, Peña-Neira A., 2015 – *Effect of different aging techniques on the polysaccharide and phenolic composition and sensory characteristics of Syrah red wines fermented using different yeast strains*, Food Chemistry 179, p. 116-126.

49. Del Prete V., Constantini A., Cecchini F., Morassut M., Garcia-Moruno E., 2009 – *Occurrence of biogenic amines in wine: The role of grapes*, Food Chemistry 112, p. 474-481.

50. Desportes C., Charpentier M., Duteutre B., Maujean A., Duchiron F., 2001 – *Isolation, identification, and organoleptic characterization of low-molecular-weight peptides from white wine*, American Journal of Enology and Viticulture, 52, p. 376-380.

51. Dobrei A., Liliana R., Morelli S., 2008 – *Ampelografia*, Editura Solness.

52. Doubourdieu D., 1995 – *Interets oenologiques et risques associes a l'elevage des vins blancs sur lies en barriques*, Revue Française d'Oenologie, 155, p. 30-34.

53. Doubourdieu D., Lavigne-Cruege V., 2003 – *Rôle du glutathione dans l'evolution aromatique des vins blanc secs*, Wine Internet Technical Journal, 17.

54. Doubourdieu D., Lavigne V., 2005 – *Incidence de l'hydroxygénation sur la composition chimique et les qualités organoleptiques des vins blancs secs du Bordelais*, Chemistry.

55. Douwes J., 2005 – *(1→3)-β-D-glucans and respiratory health: a review of the scientific evidence*, Indoor Air, 15, p. 160-169.

56. Dupin I., Mac Kinnon B., Ryan C., Boulay M., Markides A., Jones G., Williams P., Waters E., 2000a – *Saccharomyces cerevisiae manoproteins that protect wine from protein haze: Their release during fermentation and lees contact and a proposal for their mechanism of action*, Journal of Agriculture and Food Chemistry, 48, p. 3098-3105.

57. Escot S., 1999 – *Release of polysaccharides by yeasts and the influence of yeast in mouthfeel*, Proceedings, Les entretiens scientifiques de Lallemend, Montreal, Canada.

58. Escot S., 2003 – *Contribution à l'étude des protéines glycosylées de levure à leurs interactions avec les polyphénols du vin rouge*, Thèse de doctorat, Université de Bourgogne.

59. Escot S., Gonzalez E., Feuillat M., Dulau L., Charpentier C., 2003 – *Influence des mannoprotéines d'origine levurienne sur l'agrégation des tanins*. Le V-Eme Symposium International d'œnologie, Editions Tec & Doc, PARIS, P. 393-396.

60. Fleet GH., Manners D. J., 1977 – *The enzymatic degradation of an alkali-soluble glucan from the cell walls of Saccharomyces cerevisiae*, Journal Gen. Microbiologym 98, p. 315-327.

61. Fleet GH., 1991 – *Cell walls*. In Rose AH and Harrison JS (eds), *The yeasts. Yeast organelles*, Academic Press, London, UK.

62. Ferrari G., Meunier J. M., Feuillat M., 1987 – *Dosage des acides gras totaux du vin et des levures de vinification*, Science of Aliments, 1, p. 61-76.

63. Ferrari G., Feuillat M., 1988 – *Holding white Burgundy wines on their lees. I. Nitrogenous compounds, fatty acids and sensory analysis of wines*, Vitis 27, p. 183-197.
64. Fernández M., 2006 – Influence of *Saccharomyces cerevisiae* yeast strain on the major volatile compounds of wine, Enzyme and Microbial technology, vol. 40, Issue 1, p. 151-157.
65. Feuillat M., Charpentier C., 1982 – *Autolysis of yeasts in champagne*, American Journal of Oenology and Viticulture 1, p. 6-13.
66. Feuillat M., 1987a - *L'élevage des vins blancs de Bourgogne. Le bois et la qualité des vins et eaux-de-vie (special issue)*, Conn. Vigne Vin, p. 123-142.
67. Feuillat M., 1987b – *Préparation d'autolysats de levures et addition dans les vins effervescents élaborés selon la méthode champenoise*, Rev. Fr. Oenol., 109, p. 17-27.
68. Feuillat M., Freyssinet M., Charpentier C., 1989 – *L'élevage sur lie des vins blancs de Bourgogne. II évolution des macromolécules : polysaccharides et protéins*, Vitis, 28, p. 161-176.
69. Feuillat M., 1998 – *Autolyse de levures*. Enologie : Fondements Scientifiques et technologiques, Paris : Lavosier.
70. Feuillat M., Freyssinet M., Charpentier C., 1998 - *L'élevage sur lies des vins blancs de Bourgogne. Evolution des macromolécules: polysaccharides et protéins*, Vitis 28, p. 161-176.
71. Feuillat M., 2003 – *Yeast Macromolecules: Origin, Composition and Enological Interest*, Americal Journal of Oenology and Viticulture, 54, p. 211-213.
72. Fornairon-Bonnefond C., Camarasa C., Moutounet M., Salmon J. M., 2002 – *New trends on yeast autolysis and wine aging on lees: a bibliographic review*, Journal International of Sciences Vigne Vin, 35, p. 57-78.
73. Francioli S., Torrens J., Riu-Aumatel M., Lopez-Tamanez E., Bauxaderas S., 2003 – *Volatile compounds by SP ME-GC as age markers of sparkling wines*, American Journal of Enology and Viticulture 54, p. 158-162.
74. Galgano F., Caruso M., Perreti G., Favati F., 2011 – *Authentication of Italian red wines on the basis of the polyphenols and biogenic amines*, Eur Food Res Technol., 232, p. 889-897.
75. Galili G., Thang GL., Zhu XH., Karchi H., Miron D., 2001 – *Molecular genetic dissection and potential manipulation of lysine transporter Put4*, Biochem Biophys Res Commun 531 (3), p. 416-421.
76. Garcia-Marino M., 2010 – *Influence of oenological practices on the formation of biogenic amines in quality red wines*, Journal of food Composition and Analysis 23, p. 455-462.
77. Garret R. H., Grishman C. M., 2010 – *Biochemistry*, 4th Edition, Hardcover.
78. Gerbaud V., Gabas N., Blouin JM., Pellerin P., Moutounet M., 1997 – *Effet des polysaccharides et des polyphénols du vin sur la cristallisation de l'hydrogénotartrate de potassium*, Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin 31 (2), p. 65-83.
79. Glória M. B. A., Watson B. T., Simon-Sarkadi L., Daeschel M. A., 1998 – *A survey of biogenic amines in Oregon Pinot noir and Cabernet Sauvignon wines*, American Journal Enology and Viticulture, 49, p. 279-282.

80. González-Marco A., Ancin-Azpilicueta C., 2006 – *Influence of lees contact on evolution of amines in Chardonnay wine*, Journal of Food Science, 71, p. 544-548.
81. Guillox-Benatier M., Chassagne D., Alexandre H., Charpentier C., Feuillat M., 2001 – *Influence of yeast autolysis after alcoholic fermentation on the development of Brettanomyces/ Dekerra in Wine*, Journal International Vigne Vin 35, p. 157-164.
82. Guillox-Benatier M., Chassagne D., 2003 – *Comparison of components release by fermented and active dry yeasts after aging on lees in a model wine*, Y. Agric. Food Chemistry, 51, p. 746-751.
83. Guo YY., 2015 – *YeastFab: the design and construction of standard biological parts for metabolic engineering in Saccharomyces cerevisiae*, Nucleic Acids Resolutions, Volume 43, p. 88
84. Halász A., Baráth Á., Simon-Sarkadi L., Holzapfel W., 1994 – *Biogenic amines and their production by microorganisms in food*, Trends Food Science and Technology 5, p. 42-49.
85. Hernawan T., Fleet GH., 1995 – *Chemical and cytological changes during the autolysis of yeasts*, J. Ind. Microbiol. 14, p. 440-450.
86. Hough J. S., Madoxx I. S., 1970 – *Yeast autolysis*, Process in Biochemistry 5, p. 50-52.
87. Jackson R. S., 1994 – *In: Wine Science*, p.447, Academic Press Inc. San Diego, USA.
88. Jackson R. S., 2008 – *Wine Science. Principles and Application*, Third Edition, Elsevier.
89. Jackson R. S., 2020 – *Chemical constituents of grapes and wine*, Wine Science, Fifth Edition, Principles and Applications – Food Science and Technology, p. 375-459.
90. Jiménez-Moreno N., Ancin-Azpilicueta C., 2009 – *Sorption of volatile phenols by yeast cell walls*, International Journal of Wine Research 1 (1), vol. 2009, p. 11-18.
91. Judet D., Bollaert S., Duquenne A., Charpentier C., Bensoussan M., Dantigny P., 2010 – *Validation of a predictive model for the combined effect of temperature and on growth of Botrytis cinerea and Penicillium expansum on grape berries*, International Journal of Food and Microbiology, 142 (1-2), p. 106-113.
92. Karen McNeil, 2001 – *The Wine Bible*, Revised Second Edition, WorkMan Publishing, New York.
93. Kelly-Treadwell P. H., 1988 – *Protease activity in yeast: its relationship to autolysis and Champagne character*, Aust. Grapegrower Winemaker, 4, p. 58-66.
94. Klose P., 2013 – *The Essence of Gastronomy Understanding the Flavor of Foods and Beverages*, CRC Press.
95. Kitamoto K., Yoshizawa K., Ohsumi Y., Anraku Y., 1988 – *Dynamic aspects of vacuolar and cytosolic amino acids pools of Saccharomyces cerevisiae*, Journal of Bacteriology, 170, p. 2683-2686.
96. Klis FM., Mol P., Hellingwerf K., Brul S., 2002 – *Dynamics of cell wall structure in Saccharomyces cerevisiae*, FEMS Microbiological Review 26, p. 239-256.
97. Kocková-Kratochvílová A., 1990 – *Yeasts and yeast-like organisms*, New York, USA: VCH.

98. Kollár R., Reinhold BB., Petráková E., Yeh HJ., Ashwell G., Drgonová J., Kapteyn JC., Klis FM., Cabib E., 1997 – *Architecture of the yeast cell wall. Beta (1-6) – glucan interconnects mannoprotein, Beta (1-3) - glucan and chitin*, Journal of Biology and Chemistry, 272 (28), p. 17762-17775.
99. Krainer E., Stark R. E., Naider F. K., Alagrama K., Becker J. M., 1994 – *Direct observation of cell wall glucans in whole cells of Saccharomyces cerevisiae by magic-angle spinning 13C-NMR*, Biopolymers, 34, p. 1627-1635.
100. Landete J. M., Ferrer S., Polo L., Pardo I., 2005b – *Biogenic amines in wines from three Spanish regions*, J. Agric. Food Chemistry, 53, p. 1119-1124.
101. Landete J. M., De las Rivas B., Marcobal A., Muñoz R., 2007a – *Molecular methods for the detection of biogenic amine-producing bacteria on foods*, International Journal of Food Microbiology, p. 258-269.
102. Landete J. M., Ferrer S., Pardo I., 2007b – *Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine*, Food Control 18, p. 1569-1574.
103. Landete J. M., Pardo I., Ferrer S., 2007c – *Tyramine and phenylethylamine production among lactic acid bacteria isolated from wine*, International Journal of Food Microbiology, 11, p. 73-84.
104. Ledoux V., Dulau L., Dubourdiou D., 1992 – *Intrepretation de l'amélioration de la stabilité protéique des vins au cours de l'élevage sur lies*, Journal International des sciences de la Vigne et du Vin, 26, p. 239-251.
105. Llauberes R. M., Dubourdiou D., 1987 – *Exocellular polysaccharides from Saccharomyces cerevisiae*, Journal of Science of Food and Agriculture, 41, p. 277-286.
106. Lubbers S., Leger P., Charpentier C., Feuillat M., 1993 – *Essai colloïdes protecteurs d'extraits de parois de levures sur la stabilité tartrique d'un vin modèle*, Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 27, 1, p. 13-22.
107. Lubbers S., Voilley A., Feuillat M., Charpentier C., 1994 – *Influence of mannoproteins from yeast on the aroma intensity of a model wine*, Food Science and technology, vol.27, 2, p. 108-114.
108. Lubbers S., Charpentier C., Feuillat M., Voilley A., 1994 – *Influence of yeast walls on the behaviour of aroma compounds in a model wine*, American Journal of Enology Viticulture, 45, p. 29-33.
109. Lurton L., Segain J. P., Feuillat M., 1989 – *Etude de la protéolyse au cours de l'autolyse de levures en milieu acide*, Sci. Aliments 9, p. 111-124.
110. Lipke P. N., Ovalle R., 1998 – *Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges*, Journal of Bacteriology, 180, p. 3735-3740.
111. Lonvaud-Funel A., Joyeux A., 1994 – *Histamine production by wine lactic acid bacteria: isolation of a histamine-producing strain of Leuconostoc oenos*, Journal of Applications in Bacteriology, 77, p. 401-407.
112. Lonvaud-Funel A., 2001 – *Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria*, FEMS Microbiology Lett. 199, 9-13.
113. López-Rituerto E., Avenoza A., Busto J. H., Peregrina J. M., 2013 – *NMR study of histidine metabolism during alcoholic and malolactic fermentations of wine and their*

influence on histamine production, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 61 (39), p. 9464-9469.

114. Lucas P., Landete J., Coton M., Coton E., Lonvaud-Funel A., 2003 – *The tyrosine decarboxylase operon of Lactobacillus brevis IOEB 9809: characterisation and conversation in tyramine-producing bacteria*, *FEMS Microbiology Lett.* 229, p. 65-71.

115. Luguera C., Moreno-Arribas V., Pueyo E., Polo M. C., 1997 – *Cappilarity electrophoretic analysis of wine proteins. Modifications during the manufacture of sparkling wines*, *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 45, p. 3766-3770.

116. Luo Y., Wang J., Liu B., Wang Z., Yung Y., Yue T., 2015 – *Effect of yeast cell morphology, cell wall, physical structure and chemical composition on patulin adsorption*, *PLOS ONE* 10, p. 1-16.

117. Marcobal Á., De Las Rivas B., Moreno-Arribas V., Muñoz R., 2004 – *Identification of the ornithine decarboxylase gene in the putrescine-producer Oenococcus oeni BIFI-83*, *FEMS Microbiology Lett.* 239, p. 213-220.

118. Marcobal Á., Martín-Álvarez P. J., Polo M. C., Muñoz R., Moreno-Arribas M. V., 2006b – *Formation of biogenic amines through the industrial manufacture of red wines*, *Journal of Food Processing and Preservation* 69, p. 397-404.

119. Mangani S., Guerrini S., Granchi L., Vincenzini M., 2005 – *Putrescine accumulation in wine : role of Oenococcus oeni*, *Curr. Microbiology* 51, p. 6-10.

120. Marinela S., 2012 – *Ampelografia*, Editura Libra, București.

121. Marques A., Leitão M. C., Ramão M. V., 2008 – *Biogenic amines in wines: influence of oenological factors*, *Food Chemistry* 107, p. 853-860.

122. Martuscelli M., Arfelli G., Manetta A. C., Suzzi G., 2012 – *Biogenic amines content as a measure of the quality of wines of Abruzzo (Italy)*, *Food Chemistry* 140, p. 590-597.

123. Martínez-Rodríguez A. J., Polo M. C., 2000 – *Characterization of the nitrogen compounds released during yeast autolysis in a model wine system*, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48 (4), p. 1081-1085.

124. Martínez-Rodríguez A. J., Polo M. C., Carracosa A. V., 2001a – *Structural and ultrastructural changes in yeast cells during autolysis in a model wine system and in sparkling wines*, *International Journal in Food Microbiology* 71, p. 45-51.

125. Martínez-Rodríguez A. J., Polo M. C., Carracosa A. V., 2001b – *Release of nitrogen compounds to the extracellular medium by three strains of Saccharomyces cerevisiae during induced autolysis in a model wine system*, *International Journal in Food Microbiology*, 68, p. 155-160.

126. Martínez-Rodríguez A. J., Pueyo E., 2009 – *Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: from a traditional to an improved winemaking technology*, *Trends in Food Science & Technology*, vol. 20, p. 289-299.

127. Martín J. F. G., Sun D. W., 2013 – *Ultrasound and electric fields as novel techniques for assisting the wine ageing process: The state-of-the-art research*, *Trends in Food Science & Technology*, 33(1), p. 40-53.

128. Moine-Ledoux V., 1995 – *An invertase fragment responsible for improving the protein stability of dry white wines*, The Journal of Science of Food and Agriculture, Volume 79, p. 537-543.

129. Moine-Ledoux V., Perrin A., Paladu I., Dubourdieu D., 1997 – *Premiers résultats de stabilisation tartrique des vins par addition de mannoprotéines purifiées (Mannostabo)*, Journal International of Science Du Vigne et Vin, 31 (1), p. 23-29.

130. Moine-Ledoux V., Dubourdieu D., 2002 – Role of yeast mannoproteins with regard to tartaric stabilisation of wines, Bulletin de l'OIV (France), p. 857-858, p. 471-482.

131. Molnar I., Oura E., Suomalainen H., 1981 – *Study of the volatile substances produced during the autolysis of champagne yeast*, Acta Alimentaria, 1, p. 27-36.

132. Moreno-Arribas V., Pueyo E., Polo M. C., 1996 – *Peptides in musts and wines. Changes during the manufacture of Cava (Sparkling Wines)*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 44, p. 3783-3788.

133. Moreno-Arribas V., Bartolomé B., Pueyo E., Polo M. C., 1998a – *Isolation and characterization of individual peptides from wine*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 46, p. 3422-3425.

134. Moreno-Arribas V., Pueyo E., Polo M. C., Martinez-Rodriguez A. J., 1998b – *Changes in the amino acid composition of the different nitrogenous fractions during the aging of wine with yeasts*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 46, p. 4042-4051.

135. Moreno-Arribas V., Lonvaud-Funel A., 1999 – *Tyrosine decarboxylase activity of Lactobacillus brevis IOEB 9809 isolated from wine and Lactobacillus brevis ATCC 367*, FEMS Microbiology Lett. 180, p. 55-60.

136. Moreno-Arribas V., Pueyo E., Moreno-Arribas V., Nieto F. J., Martin-Álvarez P. J., Polo M. C., 2000 – *Influence of the polysaccharides and nitrogen compounds of foaming properties of sparkling wines*, Food Chemistry 70, p. 309-317.

137. Moreno-Arribas V., Pueyo E., Polo M. C., 2002 – *Analytical methods for the characterization of proteins and peptides in wines*, Analytica Chimica Acta, Volume 458, p. 63-75.

138. Moreno-Arribas V., Polo M. C., Jorganes F., Muñoz R., 2003 – *Screening of biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine*, International Journal of Food Microbiology 84, p. 117-123.

139. Mustea M., 2004 – *Viticultura. Bazele tehnologice, înființarea și întreținerea plantațiilor tinere de vii roditoare*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași.

140. Nannelli F., Claisse O., Gindreau E., De Revel G., Lonvaud-Funel A., Lucas P. M., 2008 – *Determination of lactic acid bacteria producing biogenic amines in wine by quantitative PCR methods*, The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology 47, 594-599.

141. Ng T. W. H., Feldman D. C., 2012 – *Age and innovation-related behavior: The joint moderating effects of supervisor undermining and proactive personality*, Journal of Organisational Behavior, 34 (5), p. 583-606.

142. Nguyen C. M., Yohn J. J., Huff C., Weston W. L., Morelli J. G., 1998 – *Facial port wine stains in childhood: prediction of the rate of the improvement as a function of the age of the patient, size and location of the port wine stain and the number of treatments with*

the pulsed dye (585 nm) laser, British Journal of Dermatology, Volume 128, Issue 5, p. 821-825.

143. Nishimura A., 2020 – *The yeast α -arrestin Art3 is a key regulator for arginine-induced endocytosis of the high-affinity proline transporter PUT4*, Biochem Biophys Res Commun 531 (3), p. 416-421.

144. Ortiz-Julien A., Sieczkowski N., 2005 – *Une levure inactivée spécifique pour la préservation des arômes et de la couleur et amélioration du volume en bouche*, Revues de Œnologues, p. 117.

145. Önal A., Tekelli S. E. K., 2013 – *A review of the liquid chromatographic methods for the determination of biogenic amines in foods*, Food Chemistry, 138 (1), p. 509-515.

146. Palomero F., Morata A., Benito S., Calderón F., Suárez-Lepe J. A., 2009 – *New genera of yeasts for over-lees aging of red wine*, Food Chemistry 112, p. 432-441.

147. Pati S., Liberatore M. T., Del Nobile M. A., La Notte E., 2010 – *Aroma quality improvement of Chardonnay white wine by fermentation and ageing in barrique on lees*, Food Research International Volume 43, Issue 4, p. 996-1002.

148. Parker R. M. Jr., 2000 – *Wine Buyer's Guide*, 5th ed, Dorling Kindersley Ltd.

149. Perez-Seradilla J. A., Castro M. D. L., 2008 – *Role of lees in wine production: a review*, Food Chemistry, 111, p. 447-456.

150. Perrot L., Charpentier C., Charpentier C., Feuillat M., Chassagne D., 2002 – *Yeast adapted to wine: nitrogenous compounds released during induced autolysis in a model wine*, Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 31, 1, p. 23-31.

151. Peynaud E., 1987 – *The Taste of Wine: The Art Science of Wine Appreciation*, John Wiley & Sons, p. 415.

152. Pretorius IS., Baeur F., 2002 – *Meeting the consumer challenge through genetically customized wine-yeast strains*, Trends in Biotechnology, 20 (10), p. 426-432.

153. Pueyo E., Martín-Alvarez P., Polo M. C., Santa-Maria G., Bartolome B., 2000 – *Release of lipids during yeast autolysis in a model wine system*, Journal of Agricultural Food Chemistry, 46, p. 116-122.

154. Ravi Kumar M. N. V., 2000 – *A review of chitin and chitosan application*, Reactive and Functional Polymers, 46, p. 1-27.

155. Ribéreau-Gayon P., 2006 – *Handbook of Enology: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments*, Aging Red Wines in Vat and Barrel: Phenomena Occurring During Aging, p. 387-428.

156. Rice A. C., 1976 – *Solid Waste Generation and By-Product Recovery Potential from Winery Residues*, American Journal of Enology and Viticulture, 27, p. 21-26.

157. Robinson J., 1994 – *The Oxford Companion to Wine (3 ed.)*, Oxford University press, New York.

158. Robinson J., 2006 – *Overview of epidemiological studies on wine, health and morality*, The Oxford Companion to Wine, Oxford University press, New York, Drugs Exp. Clinical Resource, 29, p. 173-179.

159. Rotaru Liliana, 2009 – *Soiuri de viță de vie pentru struguri de vin*, Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iași.

160. Roustan J. L., Sablayroble J. M., 2004 – *Role of trehalose and glycogen in alcoholic fermentation in winemaking condition*, Journal of Wine Research, 15, p. 189-202.
161. Rowe J. D., Harbertson J. F., Osborne J. P., Freitag M., Lim J., Bakalinsky A. T., 2010 – *Systematic Identification of Yeast Proteins Extracted into model wine during Aging on Yeast Lees*, Food Science and Technology, and Biochemistry and Biophysics, Oregon State University, Corvallis, p. 99350-8494.
162. Saucier C., 1997 – *Les tanins du vin : Etude de leur stabilité colloïdale*, Thesis, University Bordeaux II.
163. Seeman T. E., Charpentier P. A., Berkman L. F., Tinetti M. E., Guralnik J. M., Albert M., Blazer D., Rowe JW., 1994 – *Predicting changes in physical performance in a high-functioning elderly cohort: MacArthur studies of successful ageing*, Journal of Gerontology, 272 (28), p. 17762-17775.
164. Singleton V. L., 1987 – *Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wine and Model Systems: Observations and Practical Implications*, American Journal of Enology and Viticulture, 38, p. 69-77.
165. Smits G. J., Kapteyn J. C., Ende H. V. D., Klis F. M., 1999 – *Cell wall dynamics in yeast*, Current Opinion in Microbiology, 2, p. 348-352.
166. Soleas G. J., Carey m., Goldberg D. M., 1999 – *Method development and cultivar-related differences of nine biogenic amines in Ontario wines*, Food Chemistry 64, p. 49-58.
167. Soufleros E., Barrios M., Bertrand A., 1998 – *Correlation between the content of the biogenic amines and other wine compounds*, American Journal of Enology and Viticulture, 49, p. 266-278.
168. Stuckey W., 1991 – *The effect of lees contact time on Chardonnay wine composition*, In: International symposium on nitrogen in grapes and wine. Seattle, The American society for Enology and Viticulture Ed., p. 315-319.
169. Stone H., 2004 – *Sensory Evaluation Practices*, Academic Press Inc., Tragon Corporation, Redwood City, p. 408.
170. Ten Brink B., Damink C., Joosten H. M. L. J., Huis in 't Veld J. H. J., 1990 – *Occurrence and formation of biologically active amines in foods*, International Journal of Food Microbiology 11, p. 73-84.
171. Todd B., 1995 – *Aspects of yeast autolysis in sparkling wine production*. In: *Proceedings in the ninth Australian wine industry technical conference*, Winetitle ed, p. 33-38.
172. Torrea D., Ancin A., 2002 – *Content of biogenic amines in a Chardonnay wine obtained through spontaneous and inoculated fermentation*, Journal of Agriculture and Food Chemistry 50, p. 4895-4899.
173. Toressi S., Frangipane M. T., Garzillo A. M. V., Massantini R., Contini M., 2014 – *Effects of a β -glucanase enzymatic preparation on yeast lysis during aging of traditional sparkling wines*, Food Research International, Volume 55, p. 83-92.
174. Țârdea C., 2007 – *Chimia și analiza vinului*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași.
175. Țârdea C., Sârbu Gh., Țârdea Angela, 2010 – *Tratat de vinificație*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași.

176. Uthurry A. C., Suárez-Lepe J. A., Lombardero J., Garcia del Hierro J. R., 2006 – *Ethyl carbamate production induced by selected yeasts and lactic acid bacteria in red wine*, Food Chemistry 94, p. 262-270.
177. Van Der Driessche S., Thys L. F. V., 1982 – O.I.V., No 755.
178. Vazquez-Lasa M. B., Iñiguez-Crespo M., González-Larraina M., González-Guerrero A., 1998 – *Biogenic amines in Rioja wines*, American Journal of Enology and Viticulture 49, p. 229.
179. Vidal S., Williams P., Doco T., Moutounet M., Pellerin P., 2003 – *The polysaccharides of red wine: total fractionation and characterization*, Carbohydr Polym, 54, p. 439-447.
180. Vivas N., Saint Cricq de Gaulejac N., 2000 – *L'enjeu oenologique de l'élevage sur lie des vins rouges. II. Proprie'rite's et modes de valorisation. Connaissances actuelles & Avenir de l'élevage en barriques (Special issue)*, Journal des Sciences et Techniques de la Tonnellerie, p. 43-46.
181. Vivas N., Vivas de Gaulejac N., Nonier M. F., Nedjma M., 2001b – *Les phénomènes colloïdaux et l'intérêt des lies dans l'élevage des vins rouges: Une nouvelle approche technologique et méthodologique*, 2° partie – Méthodes destinées aux élevages en cuves de grande capacité, Revue Fr. oenologie, 190, p. 32-35.
182. Vivas N., 2005 – *Red wine barrel ageing on lees. Advantages of oxidations under reductive conditions*, Cooperage Demptos at the Centre for Structural Studies and Organic Analysis (CESAMO), Université Bordeaux 1, 351 cours de la Libération 33405 Talence.
183. Vivas N., Noiner M. F., Vivas de Gaulejac N., 2005 – *L'élevage en barriques sur lie des vins rouges. Intérêt des oxydations en conditions de reduction*, Vinidea.net (Wine Internet Technical Journal), 7.
184. Vosti D. C., Joslyn M. A., 1954 – *Autolysis of baker's yeast*, Applied Microbiology 2, p. 70-78.
185. Water E. J., Wallace W., Tate M. E., Williams P. J., 1993 – *Isolation and partial characterization of a natural haze protective factor from wine*, Agriculture Food chemistry, 41, 5, p. 724-730.
186. Water E. J., Pellerin P., Brillouet J. M., 1994 – *A Saccharomyces mannoprotein that protects wine from protein haze*, Carbohydrate Polymers, Volume 23, Issue 3, p. 185-191.
187. Weijman A. C. M., Goulbev W. I., 1987 – *Carbohydrate patterns and taxonomy of yeasts and yeast-like fungi*. In: de Hoog GS, Smith MTh, Weijman ACM (eds) The expanding realm of yeast-like fungi, Amsterdam: Elsevier Science Publishers, p. 361-371.
188. Wiekman A., Dürr M., 1974 – *Characterization of amino acids pools in the vacuolar compartment of Saccharomyces cerevisiae*, Archives of Microbiology, 101, p. 45-57.
189. Will F., Pfeifer W., Dietrich H., 1991 – *Die bedeutung der kolloide für die qualitat des weines*, Viticulture and Oenology Sciences, 46, p. 78-84.
190. Williams D. L., 1997 – *Overview of (1-3)- β -D-glucan immunobiology*, Mediators of Inflammation, 6, p. 247-250.

191. Zamfir C. I., 2009 – *Studiul autenticității și tipicității vinurilor roșii obținute din soiuri autohtone*, Teză de doctorat, USAMV Iași.
192. Zoecklein B., Marcy J., Jasinski Y., 1997 – *Effect of fermentation storage sur lie or postfermentation thermal processing on white Riesling (Vitis vinifera L.) glycoconjugates*, American Journal of Enology and Viticulture, 4, p. 397-402.
193. ***ISO 3591:1977 – *Sensory Analysis. Apparatus. Wine-tasting glass*
194. ***ISO 8589:2010 – *Sensory Analysis. General guidance for the design of test room*
195. *** <https://www.vitadeviedemasa.ro>
196. *** <https://www.brsquared.org>
197. ***<https://www.wine-searcher.com>
198. *** <https://www.viesivin.ro>
199. ***<https://www.researchgate.net>
200. ***<https://www.tex.tuiasi.ro>

LISTA FIGURILOR LIST OF FIGURES

Figura 1.1 – Depozitul de levuri prezent în damigeana de vin (www.brsquared.org)	25
Figura 1.2 – Depozitul de celule de levuri prezent în masa vinului	26
Figura 3.1 – Laboratorul de Oenologie al Universității de Științele Vieții “Ion Ionescu de la Brad” Iași (original)	58
Figura 3.2 – Struguri din soiul Sauvignon Blanc (www.vitadeviedemasa.ro)	60
Figura 3.3 – Struguri din soiul Busuioacă de Bohotin (www.viesivin.ro)	61
Figura 4.1 Diagrama de cromaticitate în sistemul CIE, a*, b* (www.researchgate.net)	72
Figure 4.1 Chromaticity Diagram in CIE, a*, b* (www.researchgate.net)	72
Figura 4.2 – Coordonatele rectangulare și cilindrice ale spațiului CIELab (www.tex.tuiasi.ro)	73
Figura 4.3 – Sistem cromatografic de tip UltiMate™ 3000 UHPLC (original)	75
Figura 5.1 – Valorile concentrației alcoolice a vinurilor de Sauvignon blanc 2020	81
Figura 5.2 – Valorile concentrației alcoolice a vinurilor de Busuioacă de Bohotin 2020	81
Figura 5.3 – Valorile acidității totale obținute pentru probele de Sauvignon Blanc	83
Figura 5.4 – Valorile acidității totale obținute pentru probele de Sauvignon blanc	84
Figura 5.5 – Conținutul de zaharuri (g/L) al probelor de Sauvignon blanc în anul 2020	88
Figura 5.6 – Conținutul de zaharuri (g/L) al probelor de Busuioacă de Bohotin în anul 2020	89
Figura 5.7 – Analiza olfactivă a probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc, anul 2020	126
Figura 5.8 – Analiza gustativă a probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc, anul 2020	126
Figura 5.9 – Analiza olfactivă a probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, anul 2020	129
Figura 5.10 – Analiza gustativă a probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, anul 2020	129
Figura 6.1.a – Corelația dintre percepția notei de crustă de pâine și doza de produs oenologic aplicată (valoarea mediei în cazul tuturor variantelor) pentru vinurile obținute din Busuioacă de Bohotin	135
Figura 6.1. b – Corelația dintre percepția aromei de autolizat și doza de produs oenologic aplicată (valoarea mediei în cazul tuturor variantelor) pentru vinurile obținute din Busuioacă de Bohotin	135
Figura 6.2 – Analiza componentelor principale pentru probele de Busuioacă de Bohotin. Evaluarea componentei principale 1 (43,15%) și componentei principale 2 (29,14%) pentru distribuția descriptorilor de aromă în funcție de doză și de compoziția produselor de maturare	139

Figura 6.3 – Analiza componentelor principale pentru probele de Sauvignon blanc. Evaluarea componentei principale 1 (42,15 %) și componentei principale 2 (22,15 %) pentru distribuția descriptorilor de aromă în funcție de doză și de compoziția produselor de maturare	140
Figura 6.4 – Corelația dintre aminoacizi/amine biogene și perioada de maturare în cazul probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin	149
Figura 6.5 – Corelația dintre aminoacizi/amine biogene și perioada de maturare în cazul probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc	151
Figura 6.6.a). – Distribuția variabilelor dependente de tipul de produs oenologic administrat în etapa de maturare pe levuri	152
Figura 6.6.b). – Distribuția variabilelor dependente în funcție de tipul de compuși chimici cedați în probele de vin pe parcursul maturării pe levuri	153
Figura 6.6.c). – Distribuția variabilelor dependente în funcție de doza aplicată la maturare pe levuri a probelor de vin	153
Figura 6.7 - Analiza componentelor principale – a). Distribuția variabilelor active (principale) – aminoacizi și variabile suplimentare – amine biogene	154
Figura 6.7. b). Asocierea variabilelor active și suplimentare cu factorii de grupare	154
Figura 6.8.a). – Modificările concentrațiilor de aminoacizi și amine biogene în funcție de clasa de compuși cedați prin autoliză din produsele oenologice de maturare, doza diferită aplicată pentru probele experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc	156
Figura 6.8.b). – Modificările concentrațiilor de aminoacizi și amine biogene în funcție de clasa de compuși cedați prin autoliză din produsele oenologice de maturare, doza diferită aplicată pentru probele experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin	157

LISTA TABELELOR LIST OF TABLES

Tabelul 5.1 Principalele caracteristici fizico-chimice și de compoziție ale vinurilor obținute din soiul Sauvignon blanc în anul 2020	85
Tabelul 5.2 Principalele caracteristici fizico-chimice și de compoziție ale vinurilor obținute din soiul Busuioacă de Bohotin în anul 2020	86
Tabelul 5.3 Parametrii cromatici ai probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc în anul 2020	92
Tabelul 5.4 Parametrii cromatici ai probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin în anul 2020	93
Tabelul 5.5 Aminele biogene identificate în probele experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc, anul 2020	97
Tabelul 5.6 Aminele biogene identificate în probele experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin, anul 2020	104
Tabelul 5.7 Aminoacizii identificați în probele experimentale de Sauvignon blanc, după 12 luni de maturare pe levuri	109
Tabelul 5.8 Aminoacizii identificați în probele experimentale de Sauvignon blanc, după 18 luni de maturare pe levuri	110
Tabelul 5.9 Aminoacizii identificați în probele experimentale de Busuioacă de Bohotin după 12 luni de maturare pe levuri	119
Tabelul 5.10 Aminoacizii identificați în probele experimentale de Busuioacă de Bohotin după 18 luni de maturare pe levuri	120
Tabelul 5.11 Media probelor experimentale de Sauvignon blanc obținută în urma analizei organoleptice	125
Tabelul 5.12 Media probelor experimentale de Busuioacă de Bohotin obținută în urma analizei organoleptice	128
Tabelul 6.1 Relația dintre descriptorii senzoriali ai probelor experimentale obținute din soiul Sauvignon blanc și compoziția produselor de maturare	132
Tabelul 6.2 Relația dintre descriptorii senzoriali ai probelor experimentale obținute din soiul Busuioacă de Bohotin și compoziția produselor de maturare	133
Tabelul 6.3 Relația dintre descriptorii senzoriali ai probelor experimentale de Sauvignon blanc și doza aplicată de produse oenologice	137
Tabelul 6.4 Relația dintre descriptorii senzoriali ai probelor experimentale de Busuioacă de Bohotin și doza aplicată de produse oenologice	138
Tabelul 6.5 Evaluarea valorilor medii dintre factori de grupare specifici ai probelor experimentale de Busuioacă de Bohotin	142
Tabelul 6.6 Evaluarea valorilor medii dintre factori de grupare specifici ai probelor experimentale de Sauvignon blanc	143

Tabelul 6.7 Analiza de corelație cu privire la conținutul de aminoacizi și amine biogene în funcție de perioada de maturare, doza aplicată (g/ 10L) și conținutul în azot al produselor oenologice aplicate (%)

145

LISTA PUBLICAȚIILOR

Lucrări ISI

1. **Cerbu M. C.**, Colibaba L. C., Luchian C. E., Zamfir C. I., Nechita B. C., Cioroiu I. B., Niculaua M., Cotea V. V., 2023 – *Effect of ageing on lees on the quality of white and rosé wines from Iași vineyard*, BIO Web of Conferences, vol. 56, 43rd World Congress of Vine and Wine, numărul 02022, <https://doi.org/10.1051/bioconf/20235602022>

Lucrări BDI

1. **Cerbu M. C.**, Cotea V. V., Colibaba L. C., Niculaua M., Călin I., Niță R. G., Zamfir C. I., Sandu-Ville Ș., 2021 – *Study concerning the influence of two techniques of maceration-fermentation on the physico-chemical and sensory characteristics of red wines*, Conferința Multidisciplinară privind Dezvoltarea Durabilă, Timișoara, Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology, volumul 25, nr. 2, p. 96-100, https://journal-hfb.usab-tm.ro/2021/JHFB_2021_Vol_II/17Cerbu_Maria-Iulia%20et%20al.pdf

2. **Cerbu M. C.**, Cotea V. V., Zamfir C. I., Niculaua M., Călin I., Popîrdă A., Colibaba L. C., Sandu-Ville Ș., 2021 – The effect of different techniques of maceration-fermentation on the phenolic composition of red wines, Journal of Applied Life Sciences and Environment, Vol. LIV, nr. 1 (185)/ 2021: p. 63-69, <https://jurnalalse.com/wp-content/uploads/JALSE-21-06.pdf>

3. **Cerbu M. C.**, Cotea V. V., Colibaba L. C., Călin I., Niță R. G., Sandu-Ville Ș., Zamfir C. I., Niculaua M., 2021 – *Influence of maturation products on chromatic and physical-chemical parameters of Sauvignon blanc and Busuioacă de Bohotin wines*, Lucrări științifice seria Horticultură, volumul 64, nr. 2, p. 191 - 198, [https://www.uaiasi.ro/revista_horti/files/Nr2_2021/vol%2064_2_2021%20\(28\).pdf](https://www.uaiasi.ro/revista_horti/files/Nr2_2021/vol%2064_2_2021%20(28).pdf)

4. Călin I., Cotea V.V., Colibaba L. C., Luchian C., **Cerbu M. C.**, Zamfir C. I., Nechita B. C., 2021 – *The dynamic of methanol and acetaldehyde in white wines treated with sulphur dioxide and dimethyl decarbonate*, Lucrări științifice seria Horticultură, volumul 64, nr. 2, p. 61 – 68, [https://www.uaiasi.ro/revista_horti/files/Nr2_2021/vol%2064_2_2021%20\(9\).pdf](https://www.uaiasi.ro/revista_horti/files/Nr2_2021/vol%2064_2_2021%20(9).pdf)

5. Călin I., Cotea V.V., Lipșa F. D., Colibaba L. C., Luchian C., Scutărașu C., **Cerbu M. C.**, Cimpoi V. I., Zamfir C. I., 2020 – *Influence of stabilisation treatments on the sensory characteristics of white wines*, Lucrări științifice seria Horticultură, volumul 63, nr. 2, p. 89 – 96,