

REZUMAT

Substanțele volatile din vinuri reprezintă un domeniu important și încă neclarificat pe deplin în tehnologia viticolă românească.

Aromă, cuvânt intrat în sec. XV sau XVI, prin intermediul terminologiei religioase, din grecescul *αρωματικό* sau din slavicul *aromatŭ*; *aromatic*, adj., din francezescul *aromatique*; *aromatiza*, vb.; *aromeală*, s.f. (înv., ispită; stare de somnolență, de somn ușor); *aromi*, vb. (a seduce, a ispiti, a ațipi, a adormi) determină caracteristica principală a acestei clase de vinuri cu miros plăcut, pătrunzător, vinurile parfumate.

Din păcate, vinurile aromate românești – Tămâioasă românească, Busuioacă de Bohotin – au intrat într-un con de umbră în ultimul timp, trendul internațional de consum fiind reprezentat de vinurile seci. Cum vinurile aromate sunt de obicei dulci, zaharurile potențând substanțele volatile, consumatorul le-a ocolit, desconsiderând pe de altă parte și originalitatea lor. În momentul de față, mulți tehnologi încearcă să reatragă consumatorul oferindu-i vinuri aromate seci. Tehnologia este identică, fermentația însă se conduce la sec. Zaharurile remanente sunt în cantitate foarte mică, de aceea trebuie identificată o posibilitate de optimizare a tehnologiei astfel încât aromele să primeze și fără ajutorul glucidelor.

Substanțele volatile sunt influențate de condițiile climatice ale anului respectiv, dar mai ales de tehnologia de vinificare, în special de procedeul de macerare. Substanțele aromate, ce dau personalitate, tipicitate și autenticitate vinurilor, sunt extrase din piețițe (compuși terpenici) în cursul procesului de macerare și/sau apar în timpul procesului de fermentare și/sau învechire (alcooli, acizi, esteri).

Vinurile obținute din soiul autohton aromat Tămâioasă românească și Muscat Ottonel, varietate cosmopolită, luată în studiu pentru o comparație necesară identificării nivelului valoric, ar trebui valorificate și analizate în scopul îmbogățirii paletelor olfactive și readuse pe piață în vederea îmbunătățirii sortimentului de vinuri aromate.

Lucrarea este structurată în 7 capitole, din care în primele trei capitole sunt prezentate soiurile de viță de vie și vinurile aromate luate în studiu, precum și stadiul actual al cercetărilor privind tehnologiile de producere a vinurilor aromate și metodele de analiză folosite la identificarea compușilor de aromă. În următoarele patru capitole, partea experimentală, sunt prezentate cadrul instituțional în care s-au desfășurat cercetările, materialul, metoda și tehnicile de analiză utilizate, rezultatele obținute și interpretarea lor, precum și concluziile generale.

Capitolul I (pag. 33-41), introductiv, prezintă stadiul actual al cercetării privind soiurile de viță de vie și vinurile aromate luate în studiu (Muscat Ottonel și Tămâioasă românească). Au

fost prezentate originea și caracterele ampelografice ale acestora, precum și valoarea agrobiologică și tehnologică demonstrată în diverse areale viticole din România. De asemenea sunt prezentați compușii responsabili de aroma vinurilor, mai ales cei ce conferă aroma primară, cea determinată de substanțele aromate găsite în pielea strugurilor.

Capitolul II (pag. 42-59) face o trecere în revistă a tehnologiei de producere a vinurilor aromate, prezentând aspecte legate de tehnicile de macerare uzuale (macerarea pe boștină, macerarea cu preparate enzimatice și utilizarea de levuri comerciale) dar și tehnologii inovative (macerarea cu ultrasunete, macerarea cu microunde, criomacerarea), împreună cu avantajele și dezavantajele specifice.

Capitolul III (pag. 60-72) prezintă date generale și specifice referitoare la analiza compușilor volatili, aparatura utilizată, principiul și modul de lucru a gazcromatografului, cât și metoda de extracție a aromelor din vinurile studiate.

Capitolul IV (pag. 74-76) prezintă cadrul organizatoric și instituțional în care s-au efectuat cercetările specifice temei de doctorat.

Capitolul V (pag. 77-86) reliefează principalele obiective de cercetare, metodele și mijloacele de investigare dintre cele mai moderne, admise de OIV și care dispun de un grad înalt de fidelitate. De asemenea sunt prezentate tehnologiile de macerare aplicate soiurilor pentru vinuri aromate, care fac obiectul variantelor experimentale luate în studiu.

Capitolul VI (pag. 87-190) prezintă rezultatele obținute privind caracteristicile fizico-chimice și de compoziție precum și date originale foarte importante, cu un caracter aparte, referitoare la identificarea compușilor volatili din vinurile obținute prin diferite tehnologii de macerare.

În finalul lucrării de doctorat sunt prezentate concluziile generale (capitolul VII, pag. 191-194), ce sintetizează contribuțiile aduse și implicațiile rezultatelor obținute privind optimizarea tehnologiei de obținere a vinurilor aromate în podgoriile Cotnari și Iași.

Acest studiu se focalizează în special pe prima parte a procesului de vinificație și anume asupra macerării, analizând în paralel atât tendințele clasice (macerarea pe boștină și macerarea cu preparate enzimatice și levuriene) cât și abordări mai moderne apărute în ultimii ani, precum ultrasunetele, microundele, criomacerarea.

Studiul de față are ca scop principal obținerea de date referitoare la optimizarea tehnologiei de obținere a vinurilor aromate din soiuri autohtone și cosmopolite ca urmare a aplicării diferitelor tratamente de macerare-fermentare în condițiile pedo-climatiche ale podgoriilor Iași și Cotnari.

Obiectivele principale ale acestui studiu sunt:

- Analiza fizico-chimică a probelor obținute prin diferite metode de macerare: macerare clasică/ pe boștină, macerare cu preparate enzimatice și levuriene comerciale, macerare cu microunde, macerare cu ultrasunete, criomacerare;
- Stabilirea gradului de influență a metodei de macerare asupra variației compușilor responsabili de aroma vinurilor obținute din soiurile Muscat Ottonel și Tămâioasă românească; în principal s-au considerat compușii terpenici, deoarece ei sunt cei ce apar în urma procesului de macerare;
- Identificarea compușilor de aromă din vinurile de Muscat Ottonel și Tămâioasă românească obținute prin diverse variante de macerare.

Recoltarea strugurilor s-a executat manual, în găleți de plastic. Strugurii au fost transportați și prelucrați în cadrul Laboratorului de Oenologie al Facultății de Horticultură – Iași.

Strugurii au fost procesați urmând fluxul tehnologic general pentru obținerea de vinuri aromate, dar accentul a fost pus pe faza de macerare, efectuată atât pe cale clasică, prin macerare pe boștină cât și aplicând metodele moderne descrise mai jos.

Varianta V0. Proba martor

Strugurii de Muscat Ottonel și Tămâioasă românească au fost procesați urmărind etapele fluxului tehnologic general pentru obținerea vinurilor albe nearomate. Astfel, după zdrobire și desciorchinare, mustuiala a fost presată direct, fără a fi lăsată în contact cu boștina. Fermentarea a avut loc în urma activității levurilor indigene. Vinurile au fost trase, condiționate, filtrate și îmbuteliate.

Varianta V1. Macerarea enzimatică

Macerarea cu enzime a fost realizată folosindu-se două produse enzimatice comerciale ZYMARÔME G[®] și ZYMOCLAIRE Muscat[®].

Au fost folosite de asemenea și trei levuri specifice vinurilor aromate (FERMOL AROMATIC[®], FERMACTIVE MUSCAT[®] și FERMOL GRAND ROUGE NATURE[®]), iar proba martor a fost însămânțată cu levuri specifice vinurilor nearomate (FERMACTIVE AP[®]).

S-a considerat că varianta Tămâioasă românească, respectiv Muscat Ottonel obținută prin tratare cu enzima Zymoclaire Muscat[®] și însămânțată cu levura Fermactive Ap[®] ca fiind proba martor pentru macerația enzimatică, având în vedere că aceste levuri sunt specifice pentru obținerea vinurilor nearomate, deci nu va influența caracteristicile profilului aromatic dat de soi.

Mustuiala, astfel tratată cu enzime, a fost apoi presată cu o presă hidraulică, mustul fiind trecut apoi în recipiente de sticlă în vederea desăvârșirii fermentației alcoolice cu ajutorul

levurilor folosite așa cum este arătat mai sus. După fermentare, vinurile au fost trase, condiționate, filtrate și îmbuteliate.

Varianta V2. Macerarea clasică/ pe boștină

Strugurii desciorchinați și zdrobiți au suferit o macerare clasică de 12 respectiv 48 ore, după care au fermentat pe parcursul a două săptămâni, la temperaturi scăzute, de maxim 15 °C. Mustuiala a fost presată cu o presă hidraulică, mustul trecând apoi în recipiente de sticlă în vederea desăvârșirii fermentației alcoolice. După fermentare cu levura Fermactive Ap[®], vinurile au fost trase, condiționate, filtrate și îmbuteliate.

Varianta V3. Macerare cu ajutorul microundelor

Macerarea cu microunde s-a realizat cu ajutorul cuptorului cu microunde din cadrul Laboratorului de Oenologie. Probele de mustuială au fost iradiate la 350W și 650 W. Mustuiala a fost presată cu o presă hidraulică, mustul trecând apoi în recipiente de sticlă în vederea desăvârșirii fermentației alcoolice. După fermentare cu levura Fermactive Ap[®], vinurile au fost trase, condiționate, filtrate și îmbuteliate.

Varianta V4. Macerarea cu ultrasunete

Macerarea cu ultrasunete a fost realizată folosind baia cu ultrasunete din cadrul Laboratorului de Oenologie (frecvență 45 kHz, putere 160W). Probele de mustuială au fost tratate 5, 10, respectiv 15 minute. Mustuiala a fost apoi presată cu o presă hidraulică, iar mustul trecut în recipiente de sticlă în vederea desăvârșirii fermentației alcoolice. După fermentare cu levura Fermactive Ap[®], vinurile au fost trase, condiționate, filtrate și îmbuteliate.

Varianta V5. Criomacerare

Probele de struguri au fost ținute la congelator la aproximativ -20 °C și apoi zdrobite cât încă erau înghețate. Mustuiala a fost apoi presată cu o presă hidraulică, iar mustul trecut în recipiente de sticlă în vederea desăvârșirii fermentației alcoolice. După fermentare cu levura Fermactive Ap[®], vinurile au fost trase, condiționate, filtrate și îmbuteliate.

Analiza caracteristicilor de compoziție ale vinurilor obținute s-a efectuat pe parcursul lunilor ianuarie-februarie 2007 și 2008 în cadrul Laboratorului de Oenologie al Facultății de Horticultură din cadrul Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” Iași. Analizele fizico-chimice au fost efectuate pe baza metodelor indicate în standardele internaționale și în literatura de specialitate.

La variantele de vin astfel obținute s-au efectuat următoarele analize fizico-chimice: densitate, concentrația alcoolică, aciditatea totală, aciditatea volatilă, zaharuri reducătoare, extract nereducător.

Pe lângă analizele generale s-a efectuat profilul aromatic al vinurilor procesate prin diversele tehnologii de macerare, cu ajutorul gaz-cromatografiei cuplată cu spectrofotometria de masă. Prin compararea compușilor identificați și a ariilor picurilor rezultate s-a stabilit gradul de influență a condițiilor climatice, respectiv a tehnologiilor de macerare folosite, asupra proporțiilor de participare a substanțelor volatile caracteristice fiecărui soi studiat.

Se observă încadrarea diferențiată a vinurilor în categoriile de calitate, fapt datorat pe de o parte gradului de maturare la care au fost recoltați strugurii, respectiv condițiilor climatice întâlnite și pe de altă parte procedeului de macerare utilizat. Valori generale vizibil mai mici se observă la probele din 2008, an mai răcoros și mai ploios față de 2007, când temperaturile ridicate și precipitațiile scăzute au condus la o creștere a zaharurilor din must, determinând valori ale concentrațiilor alcoolice și extractelor nereducătoare mari.

Probele obținute după cum a fost arătat mai sus au fost supuse extracției SPE, folosindu-se cartușe LiChrolut EN/RP-18 (40-120 μm) 100 mg și RP (40-63 μm) 200mg, 6 mL Standard PP și LiChrolut EN (40-120 μm) 500 mg, 6 mL Standard PP.

S-au luat în lucru câte 20 mL de probă care au fost trecute prin câte un cartuș SPE cu umplutură C^{18} . Patul adsorbant a fost întâi condiționat cu 10 mL diclormetan, 10 mL metanol și 10 mL soluție apoasă de etanol 13% v/v. Patul adsorbant a fost uscat prin trecerea forțată a aerului pentru 20 minute. Compușii reținuți în stratul adsorbant au fost recuperați prin percolarea patului cu 2 mL diclormetan. Extractul astfel obținut a fost închis ermetic și ulterior injectat în gaz-cromatografal Shimadzu GC-2010, cuplat cu un spectrometru de masă QP2010 Plus.

Se injectează în coloana cromatografică 1000 μL extract, în mod splitless. Durata analizei a fost de 72 de minute pentru fiecare probă de vin. Compușii de aromă au fost determinați cu ajutorul bibliotecii de spectre NIST 08, Wiley 08 și SZTERP. S-a considerat procentajul de asemănare acceptabil cel care nu scade mai jos de 70%. Aria picului reprezentativ al fiecărui compus în parte este considerată direct proporțională cu cantitatea substanței respective din varianta de vin analizată.

Condițiile climaterice anuale influențează acumularea compușilor de aromă din struguri și respectiv vin. Cantitățile compușilor volatili, exprimate prin unități de arie, au fost mai mari în cazul vinurile martor obținute din struguri de Muscat Ottonel și Tămâioasă românească din recolta anului 2007 decât cele din 2008, an ploios și mai răcoros în perioada maturării strugurilor. La aceasta concură și faptul că în anul 2007 cantitatea de zaharuri din boabele de struguri, cunoscută ca potențator al aromelor a fost, de asemenea, mai ridicată.

În condițiile din anii de experiență, vinurile obținute din soiul Tămâioasă românească au un conținut mai mare de substanțe aromate (exprimat în unități de arie) decât soiul Muscat

Ottonel. Vinurile de Tămâioasă românească din recolta 2007 au un conținut de aproape două ori mai mare de linalool, de 10 ori mai mare de hotrienol, de 4 ori mai mare de acid geranic decât cele de Muscat Ottonel.

Profilurile aromatice ale vinurilor obținute din cele două soiuri sunt în general asemănătoare, cu unele diferențe. Astfel, limonenul, 3,7-dimetil-6-octen-1-diolul, 2,6-dimetil-7-octen-2,6-diolul și dihidromircenolul au fost identificate doar în variantele procesate din struguri de Tămâioasă românească, pe când epoxilinalolul și terpendiolul au fost înregistrate numai în cadrul probelor de Muscat Ottonel.

Tehnicile de macerare aplicate la vinificația primară influențează diferențiat anumite clase de compuși odoranți. Dintre compușii terpenici prezenți în variantele analizate, s-au remarcat îndeosebi linaloolul și hotrienolul.

În probele de vinuri din Muscat Ottonel și Tămâioasă românească procesate prin criomacerare și macerare enzimatică se regăsesc cele mai mari conținuturi de linalool.

La vinurile din soiul Muscat Ottonel, macerarea cu ultrasunete a afectat în mod negativ linaloolul, concentrația sa în proba martor fiind aproape de două ori mai mare decât cea din proba tratată cu ultrasunete 10 minute și de patru ori mai mare în proba supusă aceluiași tratament timp de 15 minute. În proba de vin obținută prin macerarea boștinei în baia de ultrasunete timp de 5 minute, linaloolul a lipsit cu desăvârșire.

La vinurile din soiul Tămâioasă românească, macerarea cu ultrasunete a afectat în mod pozitiv linaloolul, concentrația sa în proba martor fiind mai mică decât cea din proba macerată prin menținerea în baia de ultrasunete 10 minute. De asemenea, concentrația linaloolului a crescut în vinul recoltă 2008 tratat cu ultrasunete 15 minute față de vinul martor.

La vinurile din soiul Muscat Ottonel obținute prin macerare clasică pe boștină timp de 48 ore s-au acumulat mai mulți compuși terpenici, în special linalool, față de varianta macerată 12 ore și cea martor. Cu toate acestea, diferențele nu sunt atât de mari încât să justifice economic o macerare de lungă durată.

Macerarea clasică aplicată la vinificarea soiului Tămâioasă românească timp de 48 ore nu a extras cantitativ mai mulți compuși, iar comparativ cu proba obținută prin macerare pe boștină 12 ore, epoxilinaloolul și nerolul au dispărut. Cantitatea de linalool nu s-a modificat vizibil.

În cazul variantelor de vinuri obținute din procesarea strugurilor Muscat Ottonel și Tămâioasă românească, dintre toate probele studiate, macerarea cu microunde la 350W a extras cantitatea cea mai mare de linalool, pe când iradierea mustuielii cu o putere de 650W a condus la obținerea cantității cele mai mici de linalool.

Vinurile de Muscat Ottonel obținute în varianta de tratare a mustuielii cu ultrasunete 5 minute, varianta prin criomacerare și cele două variante tratate cu enzima Zymarome G[®] și

însămânțate cu maia de levuri Fermactive Muscat[®] și Fermol Aromatic[®], conțin cele mai mari volume de hotrienol.

Vinurile de Tămâioasă românească obținute prin iradierea mustuielii la 650W și cele procesate prin enzimare cu Zymoclaire Muscat[®] și însămânțate cu Fermactive Ap[®] înregistrează cele mai mari conținuturi de hotrienol.

La ambele soiuri s-a remarcat că la variantale vinificate cu Fermol Grand Rouge Nature[®] și Fermactive Muscat[®], nu s-a format compusul hotrienol. În cazul vinurilor tratate cu enzimele Zymoclaire M[®] și Zymarome G[®] și levurile de mai sus, cantitatea de hotrienol este mai mică decât în proba martor.

În ceea ce privește macerarea pe boștină a strugurilor de Muscat Ottonel și Tămâioasă românească s-au remarcat variantele cu timp mediu și lung de macerare de 12, respectiv 48 ore la care cantitățile de hotrienol sunt ridicate, în comparație cu proba martor la care hotrienolul se află în cantitate mult mai mică.

Tehnicile de macerare aplicate la vinificația primară nu influențează variația acizilor, alcoolilor și esterilor cu amprentă senzorială.

Proba martor de Muscat Ottonel, varianta obținută prin macerare cu enzima Zymarome G[®] și însămânțată cu levura Grand Rouge Nature[®], varianta obținută cu enzima Zymoclaire M[®] și însămânțată cu Fermol Aromatic[®], înregistrează cea mai mari cantități de acid hexanoic, compus cu iz de caprine și grajd. Restul variantelor prezintă cantități foarte mici de acid hexanoic.

La vinurile obținute din soiul Tămâioasă românească, cantitatea cea mai ridicată de acid hexanoic s-a înregistrat la varianta în care s-a folosit Zymoclaire M[®] și Fermactive Ap[®] și la varianta obținută prin criomacerare.

La restul variantelor experimentale, acidul hexanoic este prezent în cantități mult mai mici, iar în varianta de vin procesată prin enzimare cu Zymoclaire M și însămânțată cu levura Fermol Aromatic, acidul hexanoic lipsește.

Alcoolii identificați ca fiind în cantitatea cea mai mare sunt feniletilalcoolul și 4-hidroxi-benzenetanolul.

Macerările enzimatică, macerarea cu ultrasunete și macerarea simplă pe boștină, conduc la creșterea cantității de alcoolul izobutilic, compus cu aromă puternică.

În vinurile de Tămâioasă românească obținute prin procesarea cu ultrasunete (10 minute), macerare simplă pe boștină 48 ore și macerare cu microunde (350 W) a strugurilor, alcoolul izobutilic a fost identificat în cantități mari. În variantele obținute prin macerare enzimatică, cantitatea de alcool izobutilic este mică.

În cazul vinurilor de Muscat Ottonel, varianta obținută prin enzimare cu Zymarome G[®] și

fermentare cu Fermol Aromatic[®] a conținut cantitatea cea mai mare de alcoolul izobutilic. În probele criomacerate, acest compus se găsește în cantități mici. Macerările simple pe boștină nu conduc la creșterea cantității de alcool izobutilic, pe când macerarea cu ultrasunete influențează în mod pozitiv formarea acestui produs.

Feniletilalcoolul, compus cu miros de trandafir, a fost identificat la ambele soiuri, în cantitate maximă la varianta Tămâioasă românească obținută prin macerare enzimatică cu enzima Zymoclaire M[®] și fermentare cu Fermactive Ap[®], iar la Muscat Ottonel la varianta obținută cu Zymarome G[®] și levura Fermol Grand Rouge Nature[®]. Cantitățile cele mai reduse s-au înregistrat la variantele vinificate prin macerare cu microunde.

Macerarea clasică pe boștină conduce la formarea unui număr mai redus de esteri, pe când criomacerarea favorizează creșterea numărului de esteri. În cazul macerării cu ultrasunete, esterii identificați în eșantioanele de vin scad atât ca număr cât și cantitativ.

Variantele procesate prin macerare cu preparate enzimatice, macerare clasică pe boștină și variantele obținute prin criomacerare prezintă cantități mai ridicate de acetat de izoamil, compus cu aromă puternică de banană.

Identificarea terpenelor în probele de vin martor de Muscat Ottonel și Tămâioasă românească, la care nu s-au aplicat niciun procedeu de macerare, demonstrează existența unor compuși responsabili de aromă în pulpa boabelor de strugure, fapt semnalat și de cercetări anterioare.

Rezultatele acestui studiu reprezintă primii pași cu bază științifică în crearea unor metode de modulare a caracteristicilor senzoriale a vinului, utilizând faza de macerare din cadrul vinificației primare. Producearea de vinuri cu note florale mai puternice (prin criomacerare) sau cu nuanțe fructate mai pregnante (prin macerare enzimatică) este facilitată. De asemenea va fi posibilă corecția unor defecte date de concentrații prea mari ale acizilor grași (macerare cu microunde).