

# **RAPORT FINAL DE ACTIVITATE**

*privind implementarea proiectului*

## **METODE ELECTROMAGNETICE PENTRU ÎMBUNĂTĂȚIREA PROCEDEELOR VINICOLE**

***PN-II-PT-PCCA-2013-4-2225/170***

**2017**

# **RAPORT FINAL DE ACTIVITATE**

*privind implementarea proiectului*

**“METODE ELECTROMAGNETICE  
PENTRU ÎMBUNĂTĂȚIREA  
PROCEDEELOR VINICOLE”**

***PN-II-PT-PCCA-2013-4-2225/170***

***perioada 01.07.2014-30.09.2017***

**2017**

CUPRINS

	Pag.
<b>Etapa I. Studii și analize privind tratarea și modelarea matematică a mustuelii/boștinei prin electroplasmoliză. Soluție tehnică.....</b>	<b>6</b>
I.1. Tratarea mustuelii/boștinei în câmp de înaltă frecvență.....	6
I.2. Tratarea mustuelii/boștinei în impulsuri de câmp electric.....	11
I.2.1. Model matematic pentru câmpul electric din zona celulei.....	12
I.2.2. Măsurători ai parametrilor electrici pentru mustuală .....	15
Bibliografie.....	18
<b>Etapa II. Realizare echipament de laborator pentru tratarea mustuelii/bostina. Experimentări și măsurători de parametri. Programe de soluționare și proiectare a instalațiilor cu efect PEF. Diseminare rezultate.....</b>	<b>19</b>
II.1. Realizare echipament de laborator WINETECH.....	19
II.2. Tratarea mustuelii/ boștinei la diferite forme de undă ale curentului electric....	20
II.2.1. Determinarea pH-ului.....	20
II.2.2. Determinarea acidității titrabile.....	21
II.2.3. Determinarea indicelui de refracție/ grade Brix (%)......	22
II.2.4. Analiza amprente UV-VIS a probelor de vin tratate/ netratate în câmp de înaltă frecvență (MW)/câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I*).....	23
II.3. Programe de soluționare și proiectare a instalațiilor cu efect PEF.....	24
II.4. Analiza mustuelii/boștinei comparativ tratată-netratată. Stabilirea contribuției factorilor care concură la apariția fenomenului electroplasmotic (parțial).....	25
II.4.1. Analiza comparativă a conținutului de pigmenți antocianici din amprenta spectrală VIS.....	25
II.4.2. Analiza de culoare. Analiza spectrală de culoare.....	30
II.4.3. Analiza senzorială.....	34
II.5. Algoritmi eficienți de soluționare a problemei de câmp electromagnetic în mustuală/boștină cuplate cu problema de difuzie termică.....	37
<b>Etapa III. Algoritmi și programe de soluționare a problemelor de electroplasmoliză. Elaborare documentație de execuție a modelului funcțional pentru tratarea mustuelii/bostină prin electroplasmoliză. Realizare și experimentare model funcțional pentru tratarea mustuelii/bostinei prin electroplasmoliză. Pachet programe winetech. ....</b>	<b>39</b>
III.1. Analiza mustuelii/boștinei comparativ tratată-netratată pentru diferite soiuri de struguri. Stabilirea contribuției factorilor care concură la apariția fenomenului electroplasmotic pentru soiurile de struguri reprezentative.....	39
III.1.1. Analize biochimice.....	39
III.1.1.1. Determinarea spectrofotometrică a conținutului în compuși polifenolici totali din must și vin.....	40
III.1.1.2. Determinarea spectrofotometrică a conținutului în flavonoide totale din must și vin.....	42
III.1.1.3. Determinarea conținutului în pigment antocianic monomeric total din must și vin.....	43
III.1.1.4. Determinarea capacității antioxidante.....	44
III.1.1.4.1 Metoda DPPH (Diphenylpicrylhydrazil Radical Scavenging Capacity).....	44
III.1.1.4.2 Metoda FRAP( <i>Ferric Reducin Antioxidant Power</i> ).....	45
III.1.1.4.3 Determinarea acidității titrabile și a pH-ului din must și vin.....	46
III.1.2. Analize fizico-chimice.....	47
III.1.2.1.1 Analiza conținutului de substanță uscată (zaharuri) a probelor de must.....	47
III.1.2.2.2 Analiza spectrofotometrică UVVIS a probelor de vin.....	51

III.1.2.2.1	Determinarea abundenței biocomponentelor de tip antociani.....	51
III.1.2.2.2	Determinarea proprietăților cromatice.....	53
III.1.2.2.3	Analiza multivariată.....	55
III.1.3.	Evaluare senzorială.....	56
III.2.	Algoritmi eficienți de soluționare a problemei de câmp electromagnetic în mustuală/boștină cuplate cu problema de difuzie termică.....	59
III.2.1.	Stabilirea parametrilor fizici ai boștinei.....	59
III.2.2.	Soluționarea problemei de difuzie termică.....	61
III.3.	Elaborare documentație model funcțional.....	63
III.4.	Realizarea și experimentarea modelului funcțional preliminar pentru tratarea mustuelii/boștină prin electroplasmoliză.....	65
III.5.	Stabilire flux tehnologic pentru soiurile de struguri care se pretează cel mai bine la tratarea prin electroplasmoliză.....	66
III.5.1.	Vinificarea strugurilor din soiul Pinot Noir.....	66
III.5.2.	Vinificarea strugurilor din soiul Merlot.....	67
III.6.	Testare și definitivare Pachet programe WINETECH de soluționare a câmpului electromagnetic.....	68
III.7.	Elaborare documentație sursă de tensiune pentru model funcțional.....	69
	Concluzii.....	70
<b>Etapa IV</b>	<b>Definitivare algoritmi și programe de soluționare a problemelor de electroplasmoliză. Realizarea și experimentare modelului funcțional bazat pe electroplasmoliza. Stabilire flux tehnologic. Demonstrarea funcționalității și utilității modelului funcțional.....</b>	<b>72</b>
IV.1	Analiza mustuielii/boștinei comparativ tratată-netratată pentru două soiuri de struguri reprezentativi (albi și roșii).....	72
IV.1.1.	Introducere.....	72
IV.1.2.	Soiul de struguri MUSCAT OTTONEL.....	73
IV.1.3.	Soiul de struguri PINOT NOIR.....	73
IV.1.4.	Soiul de struguri MERLOT.....	73
IV.1.5.	Analiza mustuielii/boștinei comparativ tratată-netratată.....	74
IV.1.5.1.	Metode colorimetrice de evaluare a calității vinurilor.....	75
IV.1.5.1.1	Culoarea.....	75
IV.1.5.1.2	Sistemul colorimetric RGB.....	75
IV.1.5.1.3	Sistemul colorimetric CIE L*a*b*.....	75
IV.1.5.1.4	Compoziția chimică al vinurilor.....	76
IV.1.6	Determinarea parametrilor cromatici specifici vinurilor.....	78
IV.1.6.1.	Material și metodă de analiză.....	79
IV.1.6.2.	Analize fizico-chimice.....	80
IV.1.6.3.	Analize biochimice.....	91
IV.1.6.1.3.	Determinarea parametrilor oenologici.....	92
IV.1.6.1.3.	Determinarea compușilor bioactivi și a capacității antioxidante pentru probele de vin provenite din strugurii Merlot, Pinot Noir.....	93
IV.2	Realizare sursă de tensiune și frecvență variabilă pentru modelul funcțional pentru tratarea mustuelii/bostină prin electroplasmoliză. Definitivare model funcțional.....	94
IV.3.	Definitivarea fluxului tehnologic pentru tratarea mustuelii/bostină prin electroplasmoliză.....	98
IV.3.1.	Analizele fizico-chimice ale probelor procesate în anul 2017 comparativ cu 2016.....	99
IV.3.1.1.	Analiza spectrofotometrică UVVIS a probelor de must_2017.....	99
IV.3.1.2.	Determinarea proprietăților cromatice pentru soiul Pinot Noir.....	100

---

IV.3.1.3.	Determinarea proprietăților cromatice pentru soiul Merlot.....	102
IV.3.2.	Conținutul total de polifenoli.....	105
IV.3.2.1.	Analiza multivariată.....	105
IV.3.3.	Definitivarea fluxului tehnologic.....	107
IV.3.4.	Analiza senzorială a probelor de vin.....	109
	Bibliografie.....	110
IV.4.	Testare și definitivare Pachet programe WINETECH de soluționare a problemei de câmp electromagnetic în mustuială/boștină cuplate cu problema de difuzie termică.....	116
IV.4.1.	Soluționarea problemei de câmp electromagnetic.....	116
IV.4.2.	Difuzia termică.....	120
IV.5.	Demonstrarea funcționalității și utilității modelului funcțional.....	124
	<b>Concluzii.....</b>	<b>125</b>
	<b>Diseminarea rezultatelor.....</b>	<b>125</b>
	<b>Manual de utilizare model funcțional.....</b>	<b>129</b>

## **Etapa I. Studii și analize privind tratarea și modelarea matematică a mustuelii/boștinei prin electroplasmoliză. Soluție tehnică**

În cadrul acestei etape au fost realizate o serie de studii și analize privind tratarea mustuelii/boștinei prin electroplasmoliză.

Pentru o mai bună înțelegere a comportamentului mustuelii/boștinei în timpul procesării în câmp de înaltă frecvență este necesară cunoașterea proprietăților dielectrice ale acesteia. Aceste proprietăți sunt definite de constanta dielectrică ( $\epsilon'$ ) și factorul de pierderi ( $\epsilon''$ ). Constanta dielectrică  $\epsilon'$  este o măsură a capacității unui material de a cupla cu energia de înaltă frecvență, în timp ce  $\epsilon''$  este o măsură a capacității unui material de a absorbi căldură prin energia microundelor. Factorul de pierderi de fapt se referă la factorul de pierderi efective, care include efectul de conductivitate. Puterea disipată în interiorul unui material este proporțională cu  $\epsilon''$  și cu tangenta de pierderi  $\epsilon''/\epsilon'$ , un indicator al capacității materialului de a genera căldură. Acești factori influențează proprietățile dielectrice ale unui material. Prezența apei în alimente determină o absorbție de energie a de înaltă frecvență, cu cât conținutul de umiditate este mai mare, cu atât efectul de încălzire este mai pronunțat.

### **I.1. Tratarea mustuelii/boștinei în câmp de înaltă frecvență**

În această etapă experimentările preliminare pentru tratarea mustuelii/boștinei au fost făcute cu ajutorul unei instalații de procesare în câmp de înaltă frecvență cu putere regabilă de la 100-1000 W. Materia primă utilizată pentru realizarea obiectivelor și activităților propuse în cadrul proiectului au reprezentat-o strugurii din soiurile: Muscat Ottonel, Merlot, Pinot Noir (recoltați din podgoria *Crișana-Santimreu*, în anul 2014). Am optat pentru cele trei soiuri deoarece sunt caracterizate prin culoare și aromă diferită, care se modifică foarte rapid.

În cazul strugurilor cu boabe roșii mustuiala tratată în câmp de înaltă frecvență și netratată, a fost menținută la temperatura camerei timp de 3 zile după care a urmat procesul de presare cu obținerea mustului și însămânțarea cu drojdii selecționate. În final, după parcurgerea mai multor etape s-a obținut vinul care a fost supus pe lângă analizele fizico-chimice și biochimice și analizelor senzoriale.

În cadrul studiului nostru am urmărit stabilirea unor tehnici de procesare eficiente atât din punct de vedere energetic cât și pentru obținerea unui produs final de înaltă calitate. Pentru cele trei soiuri de struguri (Muscat Ottonel, Merlot, Pinot Noir) s-au efectuat analize fizico-chimice și biochimice în diferite etape ale procesului de producere ale vinului

**Analizele fizico-chimice** pentru probele recoltate din cele trei etape au fost:

**pH-ul.** Cunoașterea pH-ului în tehnologia vinului, prezintă o importanță deosebită, deoarece influențează direct proprietățile gustative ale vinului, limpezimea, culoarea vinurilor roșii și condițiile de dezvoltare a microorganismelor utile dar și patogene ale vinului. Rezultatele cu privire la pH-ul obținut din cele trei probe tratate /netratate în câmp de înaltă frecvență (etapa I-III) sunt prezentate în **Tabelul I.1.**

**Aciditatea.** Determinarea acidității, este una din determinările cele mai importante, pentru că aciditatea determină calitatea mustului și mai târziu a vinului. Aciditatea din struguri și must este formată în principal din acizii tartric, malic și într-o proporție mai mică din acidul citric. În vin se regăsesc acizii prezenți în struguri la care se mai adaugă și acizii care se formează în urma sau în timpul fermentațiilor, cum ar fi acidul carbonic, acidul acetic, acidul propionic, acidul lactic, acidul succinic. Aciditatea probelor s-a realizat prin metodă titrimetrică, prin neutralizarea acidității probelor cu o soluție de hidroxid de sodiu 0,1M cu factor cunoscut ( $F= 0.9527$ ).

**Conductivitatea** este un parametru care este influențat nu doar de prezența acizilor prezenți în probe ci și de alți parametri cum ar fi: concentrația diverselor specii anionice prezente

în produsele viticole, diverse proteine sau enzime cu rol de coloid protector, de concentrația ionilor metalici cu rol de complexare. Determinarea conductivității s-a determinat cu ajutorul Multi Parameter Analyser modelul Consort C830, producție Belgia, iar rezultatele sunt prezentate în **Tabelul I.1.**

**Tabelul I.1.**

Analizele fizico-chimice ale probelor studiate în cele trei etape

Soiuri de struguri	Probe pe etape	ANALIZE FIZICO-CHIMICE								
		Temp.	pH 1:1	Aciditatea (g acid tarttric/L)	Conduct. (mS) 1:1	Bx% 1:1	Glucide (g/L)	Indicele de refracție 1:1	Na+ (ppm) 1:5	Cu 2+ (ppm) 1:5
MUSCAT OTTONEL (MO)	Mustuiala	22	3.52	2.981	2.0700	17.10	171.68	1.359100	3.58	3.60
	Mustuiala MW*	21	3.77	3.144	2.7600	18.00	180.72	1.360500	2.38	2.70
	Must	22	3.61	3.168	2.2300	17.40	174.69	1.360750	5.82	1.50
	Must MW*	22	3.8	3.287	3.0700	18.20	182.72	1.361000	6.92	1.10
	Vin	24	3.08	3.787	1.7900	1.50	15.06	1.335400	15.90	5.3E-4
	Vin MW*	24	3.26	4.644	1.5300	1.40	14.05	1.335133	5.82	8.9E-4
PINOT NOIR (PN)	Mustuială	21	3.290	5.055	1.6700	6.90	69.27	1.343000	5.73	98.33E-3
	Mustuială MW*	21	3.433	4.716	2.1933	7.40	74.29	1.344401	6.21	99.00E-3
	Must	23	3.3933	6.216	1.9166	6.633	66.59	1.342766	<b>84.5666</b>	1.92E-2
	Must MW*	23	3.5400	3.858	1.5466	7.150	71.78	1.343933	6.9600	4.90E-3
	Vin	24	2.980	6.645	1.7900	1.377	13.83	1.335033	<b>142.00</b>	4.30E-3
	Vin MW*	24	2.890	6.288	1.9900	1.117	11.21	1.334700	<b>138.00</b>	1.90E-3
MERLOT (M)	Mustuială	21	3.383	4.912	1.5300	9.400	94.38	1.346900	5.21	82.00E-3
	Mustuială MW*	21	3.483	3.001	2.1200	10.100	101.40	1.348150	5.77	71.66E-3
	Must	23	3.5000	5.002	1.6133	9.333	93.71	1.346766	15.0000	9.16E-3
	Must MW*	23	3.6300	3.072	1.5266	10.233	102.74	1.348166	8.0000	5.80E-3
	Vin	24	2.990	6.645	2.5700	1.767	17.74	1.335566	<b>104.00</b>	2.70E-3
	Vin MW*	24	2.900	6.645	2.0800	2.100	21.08	1.336183	<b>151.00</b>	2.00E-3

MW\* – procesare în câmp de înaltă frecvență

**Indicele de refracție / grade Brix (%).** Determinarea glucidelor din probe s-a realizat cu ajutorul refractometrului de tip Abbe, prin determinarea indicelui de refracție. Citirea se face pentru indicele Brix (unitatea de măsurare a glucidelor dintr-o soluție apoasă), iar conversia se face cu ajutorul unui tabel de transformare în grame glucide/L (1 Brix = 10,04g/L la 200C). Rezoluția indicelui Brix este 0,1, iar a indicelui de refracție nD este 0,0005. Pentru a verifica acuratețea determinărilor refractometrice s-a ridicat regresia liniară robustă între valorile celor doi indici pentru toate probele de mustuială, must și vin, fără și cu tratament electromagnetic cu microunde. Rezultatele regresie (**Tabelul 2.a**) prescriu o semnificație statistică cu valoarea p = 0,0001, coeficient de corelație Pearson cu valoarea R = 0,99925 și coeficient de determinare cu valoarea R<sub>2</sub> = 0,99851. Aceste valori relevă faptul că determinările sunt statistic extrem de semnificative, iar măsurătorile prezintă acuratețe ridicată.

**Cationii de sodiu și cupru,** s-au determinat cu ajutorul analizorului Cyberscan PCD 6500, marca Eutech Instruments, producție Eutech Instruments Pte Ltd., IL, USA. Pentru fiecare cation s-a preparat o soluție ISA (Ionic Strength Adjuster) specifică, care s-a adăugat fiecărei soluții a probelor. Calibrarea analizorului s-a efectuat separat pentru fiecare cation în parte conform specificațiilor tehnice ale producătorului, cu câte două soluții de calibrare. De altfel, fiind un analizor cu calculator de proces, calibrarea defectuoasă este exclusă, parametrii calibrării trebuind să fie în intervalul memorat de analizor.

Înainte de efectuarea analizelor biochimice s-a realizat un screening UV-VIS a tuturor probelor din cele trei etape, cu scopul de a observa absorbțiile maxime specifice diferiților compuși bioactivi.

a) **Determinarea compușilor bioactivi din vin:**

✓ **Determinarea polifenolilor totali** s-a realizat utilizând metoda Folin – Ciocâltău. Curba de calibrare s-a realizat cu ajutorul acidului galic, coeficientul de corelație fiind  $R^2 = 0,995$ . Cantitatea de compuși fenolici totali a fost exprimată în mg echivalenți acid galic (GAE)/L probă și sunt prezentate în **Tabelul I.2**.

✓ **Determinarea flavonoidelor totale** s-a realizat prin metoda spectrofotometrică [10]. Determinarea conținutului total de flavonoide s-a realizat într-un balon cotat de 10 ml în care s-a introdus 1 ml probă, 2 ml apă distilată și 3 ml NaNO<sub>2</sub> (5%). Probele au fost lăsate în repaus pentru 5 minute după care s-a adăugat 0,3 ml AlCl<sub>3</sub> (10%), și din nou s-au menținut probele în repaus de 6 minute. În final s-a adăugat 2 ml NaOH 1M, s-a completat până la semn balonul cotat iar după exact 15 minute, s-a citit absorbanta la 510 nm. Curba de calibrare s-a realizat cu catechină, ca și standard, realizându-se diluții în intervalul de 0-0,5 mg/ml, rezultatele fiind exprimate sub formă de mg catechină/L probă și prezentate în **Tabelul I.2**.

✓ **Determinarea conținutului în pigment antocianic monomeric total** (doar pentru vinul roze și roșu, Pinot Noir, respectiv Merlot). Această metodă se bazează pe proprietatea antocianilor de a-și schimba culoarea în funcție de pH [10]. Conținutul total de antociani monomerici (echivalenți ciani din 3-glucozida/L probă) a fost calculat conform relației (I.1.2), și sunt prezentate în **Tabelul I.2**:

$$\text{Conținutul de antociani (mg/L)} = (A \times MW \times DF \times 1000) / \varepsilon \times L \quad (1)$$

unde: A = (A520 nm pH 1.0-A700 nm pH 1,0) - (A520 pH 4.5 nm - A700 nm pH 4,5), Masa moleculară a cianidin 3-glucozida (449.2); DF = factorul de diluție;  $\varepsilon$  = absorbivitatea molară a cianidin 3-glucozida în soluție apoasă acidă (26,900 M-1cm-1); L = drumul optic (1 cm).

**Tabelul I.2.**

Cantitatea de compuși bioactivi din probele studiate în cele trei etape

Soiuri de struguri	Probe pe etape	COMPUȘI BIOACTIVI		
		Compuși polifenolici (mgGAE/L)	Flavonoide totale (mg CE/L)	Pigment antocianic monomeric (mg/L)
MUSCAT OTONEL	Mustuiala	465.707	259.754	-
	Mustuiala MW*	219.094	161.488	-
	Must	296.782	176.301	-
	Must MW*	607.748	295.882	-
	Vin	96.857	7.225	-
	Vin MW*	209.234	57.803	-
PINOT NOIR	Mustuiala	191.356	9.754	0.000
	Mustuiala MW*	607.269	171.965	6.888
	Must	747.151	160.043	20.039
	Must MW*	1290.570	385.838	291.897
	Vin	490.570	160.043	61.368
	Vin MW*	806.287	247.471	144.111
MERLOT	Mustuiala	338.703	25.289	7.890
	Mustuiala MW*	1310.609	389.089	273.945
	Must	1065.226	211.344	248.730
	Must MW*	1489.980	355.130	548.851
	Vin	532.809	118.858	89.381
	Vin MW*	875.442	266.980	232.448

MW\* – procesare în câmp de înaltă frecvență

b) **Determinarea capacității antioxidante** a probelor, a fost făcută folosind următoarele metode:

✓ **Metoda DPPH** (2,2 Diphenylpicrylhydrazil Radical Scavenging Capacity) este o metodă spectrofotometrică, larg utilizată pentru a testa abilitatea compușilor de a îndepărta radicalii liberi sau capacitatea lor de a dona hidrogen. Este utilizată pentru cuantificarea antioxidantilor în sisteme biologice complexe. Protocolul de lucru folosit a fost conform metodei descrise de Brand-Williams și colab., (1995) [11]. Procentul de inhibiție a DPPH-ului a fost calculat conform relației de mai jos, iar rezultatele sunt prezentate în **Tabelul I.3**.



✓ **Metoda FRAP** (*Ferric Reducin Antioxidant Power*), metoda simplă spectrofotometrică care testează puterea antioxidantă a probelor luate în studiu, și se bazează pe reducerea complexului tripiridiltriazina ferică (Fe(III)-TPTZ) la complexul tripiridiltriazina feroasă ((Fe(III)-TPTZ) de către un reductant la pH acid. Soluția FRAP de lucru se prepară proaspătă prin amestecarea a 50 ml tampon acetat 300 mM cu 5 ml soluție Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O și 5 ml TPTZ. Probele (100 μl) recoltate la etapele descrise în fluxul tehnologic (Figura 2) au fost lăsate să reacționeze cu 500 μl soluție FRAP și 2 ml apă distilată pentru o oră, la întuneric, după care citirile la spectrofotometru s-au realizat la 595 nm. Ca și standard s-a folosit Trolox, curba standard s-a realizat între concentrații cuprinse între 0,5-0,03 și 400 mM, având un coeficient de corelație R<sup>2</sup> = 0,9900. Rezultatele au fost exprimate în mmol echivalenți Trolox/L probă. Rezultatele obținute sunt prezentate în **Tabelul I.3**.

✓ **Metoda TEAC** (Trolox Equivalents Antioxidant Capacity) se bazează pe abilitatea antioxidantilor de a diminua viața radicalului cation (ABTS<sup>+</sup>), un cromofor albastru verde care absoarbe la 734 nm, comparativ cu Trolox. ABTS<sup>+</sup> se produce prin reacția dintre soluția stoc de ABTS (7mM) cu persulfatul de potasiu (2,45 mM) timp de 12-16 ore. Pentru studiul activității antioxidante, soluția ABTS<sup>+</sup> se diluează cu apă distilată până când se obține o absorbantă de 0,70 ± 0,02 la 734 nm. După adăugarea a 25 μl probă la 2500 μl soluție ABTS<sup>+</sup>, amestecul se vortexează timp de 30 de secunde, iar absorbanta se citește la exact 1 minut la 734 nm. Rezultatele au fost exprimate ca % de decolorare a soluției radical-cation ABTS folosind ca și standard Trolox-ul. Curba de calibrare față de Trolox a prezentat un coeficient de corelație de R<sup>2</sup>=0,986. Rezultatele obținute sunt prezentate în **Tabelul I.3**.

✓ c) Caracterizarea culorii probelor a fost făcută utilizând două metode: metoda scanării directe a probelor nediluate cu ajutorul microplate-urilor (**Figura I.1.**), și metoda spectrofotometrică cu rezultate exprimate în spațiile tricromatice RGB și CIE L\*a\*b\* 1992 – în acest caz s-au utilizat diluții ale probelor.

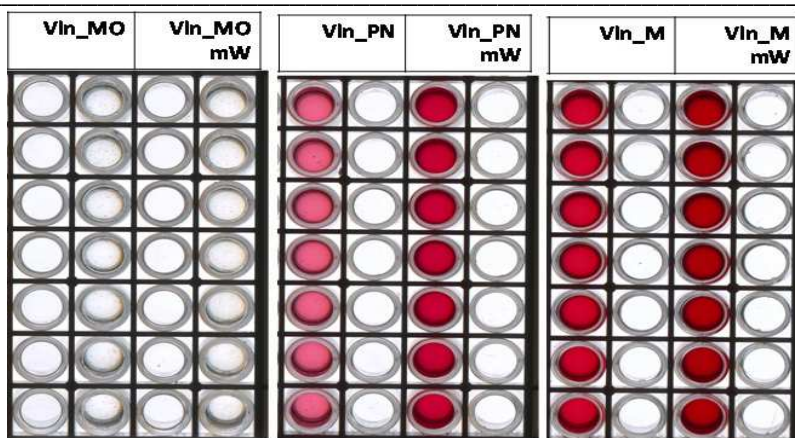
Scanarea directă s-a realizat cu ajutorul unui scanner CanoScan 9000F, marca Canon, prin transmisie cu sursă luminoasă de tip LED standardizat ca iluminant D65. Protocolul utilizat a fost ales ca Positive Film. Volumul de probă din fiecare celulă a fost ales astfel încât stratul de lichid să însumeze 2 mm.

**Tabelul I.3.**

Capacitatea antioxidantă a probelor studiate în cele trei etape

Soiuri de struguri	Probe pe etape	CAPACITATEA ANTIOXIDANTĂ		
		DPPH (%)	FRAP (mmolTE/L)	ABTS (%)
MUSCAT OTTONEL	Mustuiala	29.304	1.158	41.234
	Mustuiala MW*	8.837	0.668	31.610
	Must	12.258	0.728	33.393
	Must MW*	61.460	1.605	66.908
	Vin	34.179	0.910	14.783
	Vin MW*	37.229	1.618	15.592
PINOT NOIR	Mustuiala	31.779	0.840	16.642
	Mustuiala MW*	35.029	1.824	19.399
	Must	36.881	2.744	18.842
	Must MW*	53.694	8.342	39.192
	Vin	41.345	2.121	22.839
	Vin MW*	47.349	6.510	31.717
MERLOT	Mustuiala	34.208	1.685	16.680
	Mustuiala MW*	51.049	6.630	34.462
	Must	53.837	5.932	29.491
	Must MW*	66.135	8.536	51.194
	Vin	45.792	3.471	30.705
	Vin MW*	55.091	7.061	34.866

MW\* – procesare în câmp de înaltă frecvență.



**Figura I.1.** Rezultatul scanării probelor de vin pentru cele trei soiuri de struguri

Rezultatele cromatice date de scanările directe ale probelor de vin sunt prezentate în **Tabelul I.4**, împreună cu diferența de culoare,  $\Delta E$ , calculate pentru factorul tratament electromagnetic, și culorile renderizate în RGB. Se poate observa prezența atât a unei diferențe mici de culoare pentru vinul Muscat Ottonel, cât și diferențe de culoare mari pentru sortimentele de vin roșu, produse prin aplicarea tratamentului în câmp de înaltă frecvență.

**Tabelul I.4.**

Vin	Tratament	R	G	B	Culoare	L*	a*	b*	$\Delta E$
Muscat Ottonel (MO)	netratat	255	245	231		96.96	1.02	7.93	1.93
Muscat Ottonel (MO_MW)	tratat	255	241	226		95.86	2.25	8.93	
Pinot Noir (PN)	netratat	238	99	138		60.73	56.97	6.19	35.12
Pinot Noir (PN_MW)	tratat	200	0	48		42.00	67.61	33.92	
Merlot (M)	netratat	207	0	40		43.39	69.06	40.54	14.40
Merlot (M_MW)	tratat	170	0	6		35.13	59.18	46.97	

Metoda de determinare a culorii vinului cu acuratețea cea mai mare este metoda spectrofotometrică. Aceasta presupune ridicarea spectrelor VIS (în domeniul vizibil cu lungimi de undă: 380 – 720 nm) în reflectanță sau transmitanță. În cazul vinurilor de tip alb spectrul VIS s-a realizat cu probe nediluate, cu o cuvă de cuarț de 10 mm grosime. Calculul coordonatelor cromatice XYZ din spectrul VIS s-a realizat cu ajutorul funcțiilor standard de observator ( $10^\circ$ ) prescrise de standardul CIE 1964. Coordonatele cromatice XZY se transformă în RGB și Respectiv CIE  $L^*a^*b^*$ 1992 cu algoritmi prezentați anterior.

Sortimentele de vin roșu și roze (Merlot și respectiv, Pinot Noir) au nuanțele de culoare intense și mai închise. Pentru astfel de situații utilizarea directă, nediluată a probelor este neindicată, în special dacă grosimea cuvei de cuarț este de 10 mm. Unele articole pe temă similară din literatura de specialitate actuală, recomandă utilizarea unei cuve de 2 mm sau probele diluate 1:5 (sau concentrație 20%). Culorile pronunțat închise – în special pentru probele tratate în câmp de înaltă frecvență – sunt cauza nerespectării legii Bouger-Labert-Beer, în care absorbanta este liniar proporțională cu concentrația soluției analizate.

Membrii proiectului propun o soluție originală pentru determinarea culorii vinurilor roze și roșu pe lângă cea de scanare directă în microplate-uri. Această metodă presupune realizarea unei predicții a parametrilor cromatici obținuți din spectrele VIS ridicate pentru concentrații diferite ale fiecărei probe de vin roze și roșu, fără și cu tratament electromagnetic. Seria de concentrații propusă are valorile: 2%, 10%, 20% (diluție 1:5), 30%, 40%, 60%, 80%.

Domeniile de concentrații: 2 %-40 % pentru probele fără tratament electromagnetic și 2 %-30 % pentru probe tratate în câmp de înaltă frecvență, sunt cele pentru care absorbanta (analog reflectanța) este strict liniar dependentă de concentrația probei. În afara acestor domenii legea *Bouger-Lambert-Beer* nu mai are valabilitate, ca urmare dependența funcțională va fi neliniară. Pentru calcularea parametrilor cromatici, în cazul probelor nediluate de vin roze și roșu, se va aplica predicția de tip *Burg*. Rezultatele cromatice ce provin din analiza spectrofotometrică a

tuturor probelor de vin indică prezența atât a unei diferențe mici de culoare, pentru vinul al Muscat Ottonel, cât și diferențe de culoare mari pentru sortimentele de vin roșu,  $\Delta E$ , produse prin aplicarea tratamentului în câmp de înaltă frecvență. Aceste concluzii sunt identice cu cele prescrise prin metoda de scanare directă a probelor de vin. Prin urmare, cele două metode propuse sunt identice din punct de vedere al determinărilor parametrilor cromatici RGB și CIEL\*a\*b\*.

În cazul vinului roze (PN) diferența de culoare datorită tratamentului în câmp de înaltă frecvență este dată de variația puternică a luminanței și componente cromatice a\*. În cazul vinului roșu (M) variațiile tuturor componentelor cromatice contribuie aproximativ identic în diferența de culoare datorită tratamentului în câmp de înaltă frecvență.

#### **Analiza senzorială**

Analiza senzorială s-a realizat în conformitate cu Regulamentul Asociației Degustătorilor Autorizați din România și conform Oficiului Internațional al Viei și Vinului. Sistemul folosește notarea de 100 de puncte conform Sistemului Internațional de concurs.

Conform sistemului OIV (Organizația Internațională a Viei și Vinului) de evaluare a calității, vinul, se evaluează pe trei caracteristici principale și nouă subcaracteristici, precum și o evaluare globală denumită armonie.

Caracteristicile principale care au fost evaluate în cadrul studiului nostru sunt:

- evaluare vizuală cu subcaracteristicile: limpiditate și aspect;
- evaluare olfactivă cu subcaracteristicile: tipicitate, intensitate și calitate;
- evaluare gustativă cu subcaracteristicile: tipicitate, intensitate, persistență și calitate.

Degustarea a fost făcută de către o comisie formată din trei membri, în condiții de laborator utilizând pahare de degustare tip OIV, vinurile având o temperatură de 16 (°C) cele albe și 18 (°C) cele roșii. Evaluarea am împărțit-o în următoarele categorii, funcție de media punctelor primite, obținută prin însumarea celor trei note și împărțirea la trei. Punctajul obținut a fost încadrat astfel:

- excelent între 100 - 90;
- foarte bun între 89 - 80;
- bun între 79-70;
- satisfăcător 69 - 60.

Primul vin analizat a fost **Muscat Ottonel** netratat, care primește 76 de puncte și se încadrează în categoria „bun”. Observațiile la acest vin sunt că nu are aromă foarte evidentă și este un vin scurt și fără corp. Muscat Ottonel procesat în câmp de înaltă frecvență primește 83 de puncte fiind la limita între „bun” și „foarte bun”, are aromă mult mai evidentă, atât în miros cât și în gust singura deficiență fiind culoarea evaluată datorită unei maderizări.

**Pinot Noir** netratat are mediana de 72 de puncte, la limita categoriei „bun”, datorită culorii deficitare acidității agresive și aromei discrete. Pinot Noir procesat în câmp de înaltă frecvență are mediana de 79 de puncte, la limita categoriei „foarte bun”, fiind mult îmbunătățită culoarea, aromă mai evidentă, mai corpolent datorită taninurilor suplimentare transferate care aduc și un pic de astrigență.

**Merlotul** netratat are mediana de 82 de puncte la limita categoriei „foarte bun” motivat de aromă, culoare și corpolentă mult superioare Pinot Noir. Merlotul procesat în câmp de înaltă frecvență are mediana de 88 de la limita superioară a categoriei „foarte bun” mult mai colorat mult mai aromat și mult mai plin datorită transferului de substanțe prin tratamentul aplicat.

Concluzia este că până în momentul actual analiza senzorială ne dovedește că procesarea în câmp de înaltă frecvență are efecte benefice în ceea ce privește transferul de substanțe din piele și din ciorchini, aducând suplimentar culoare aromă și corpolență. Deficiența constatată în special la vinul alb este maderizarea datorată unei oxidări accelerate motivată de creșterea temperaturii în timpul tratamentului în prezența oxigenului. Această deficiență o putem diminua dacă vom utiliza o protecție cu un antioxidant la începerea procesului.

## I.2. Tratarea mustelii/boștinei în impulsuri de câmp electric

Presarea mecanică este cel mai comun mod de separare a lichidelor din materiale poroase, complet sau parțial saturate de lichid. Procedura este utilizată în diferite aplicații industriale, printre care și producția vinului. Totuși, compresia mecanică reușește să distrugă doar parțial membranele celulelor, o bună parte din lichid, rămânând în interiorul celulelor. O soluție costisitoare este de a crește foarte mult forța de comprimare, mărind în acest fel numărul porilor din membrana celulei. Alte soluții sunt oferite de procedee chimice, biologice, ultrasunete, care pot rupe membrana fără a ridica temperatura celulei [1], [2], [3]. Menționăm că ridicarea temperaturii poate conduce la deteriorări nedorite dar și la modificări ale conținutului de substanțe și fermenți utili producerii vinului.

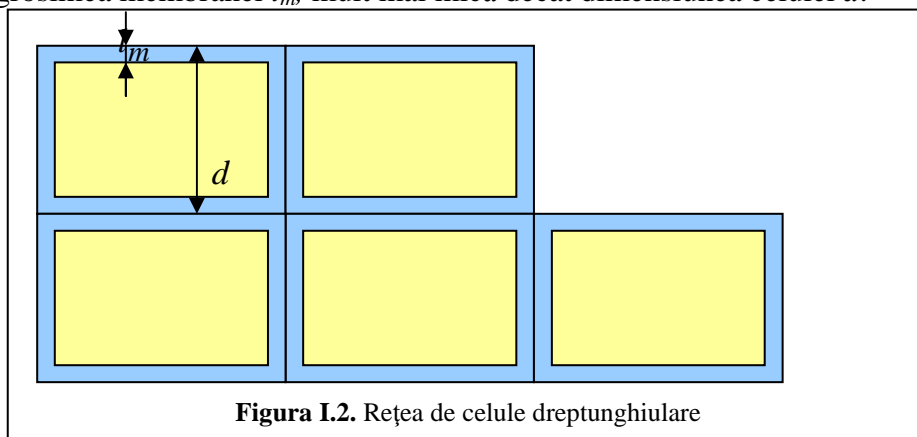
Metodele electromagnetice permit a fi cele mai eficiente proceduri de îmbunătățire a separării lichid-solid. Injectarea unui curent continuu, a fost studiată în literatură ([4], [5]), conducând la concluzia unei eficiențe crescute, datorită combinației dintre efectul presiunii și electroosmoză. Din păcate, curentul continuu poate produce efecte nedorite de electroliză care degradează calitatea produsului.

Aplicarea unei tensiuni alternative de diferite forme (cel mai adesea în impulsuri) înlătură acest dezavantaj și are ca efect spargerea celulei, fenomen numit ELECTROPLASMOLIZĂ. Este de așteptat ca eficiența aplicării impulsurilor de câmp electric (PEF) să depindă de: tipul celulei, amplitudinea impulsului, durata impulsului, numărul impulsurilor etc. În literatură sunt raportate numeroase studii privind aplicarea PEF la extragerea sucului din celulele de morcovi [6], de mere [7], [8], de sfeclă de zahăr [9]. Rezultatele arată că electroplasmoliza produce o drastică îmbunătățire a extragerii lichidului intracelular. În plus, creșterea de temperatură este neglijabilă, iar o parte din microorganisme sunt inactivate.

### I.2.1. Model matematic pentru câmpul electric din zona celulei

Detectarea directă a formațiunilor poroase, prin imagini ale membranei, nu este posibilă. O măsură a evoluției numărului electroporilor poate fi evoluția densității de curent produsă la o anumită valoare intensității câmpului electric. Elaborarea unui model matematic pentru electroplasmoliză se lovește însă de o mare varietate de particularități biologice ale celulelor: omogenitatea structurii, tipul lichidului intra și extra celular, conținutul de gaze, numărul de celule cu membrana intactă, etc. În general, literatura de specialitate adoptă modele simplificate, dar care conduc la rezultate acceptabile calitativ.

Cel mai simplu model aproximează, consideră celula de formă dreptunghiulară (**Figura I.2**), cu grosimea membranei  $l_m$ , mult mai mică decât dimensiunea celulei  $d$ .



**Figura I.2.** Rețea de celule dreptunghiulare

În ipoteza aplicării potențialului  $u$  pe un strat de celule, analiza câmpului electric se face imediat, folosind o schemă RC. Luând în considerare o suprafață unitară pentru celulă, avem:

$$C_m = \epsilon_m \frac{l_m}{2} \quad (I.1)$$

$$R_c = \frac{(d - 2l_m)}{\sigma_c} \cong \frac{d}{\sigma_c} \quad (I.2)$$

unde:  $\epsilon_m$  este permitivitatea membranei,  $\sigma_c$  este conductivitatea lichidului din celula. Intensitatea medie a câmpului electric pe o celulă este:

$$E = \frac{u_m + u_c}{d} \quad (I.3)$$

iar intensitatea câmpului electric în membrană este:

$$E_m = \frac{u_m}{2l_m} \quad (I.4)$$

Ecuatia tensiunii membranei  $u_m$  rezultă imediat:

$$R_c C_m \frac{du_m}{dt} + u_m = u \quad (I.5)$$

La impuls de tensiune dreptunghiular, care, pe durata în care acționează produce o tensiune constantă pe celulă, ecuația (I.5) are soluția:

$$u_m = u(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}) \quad (I.6)$$

unde constanta de timp  $\tau$  este:

$$\tau = R_c C_m \quad (I.7)$$

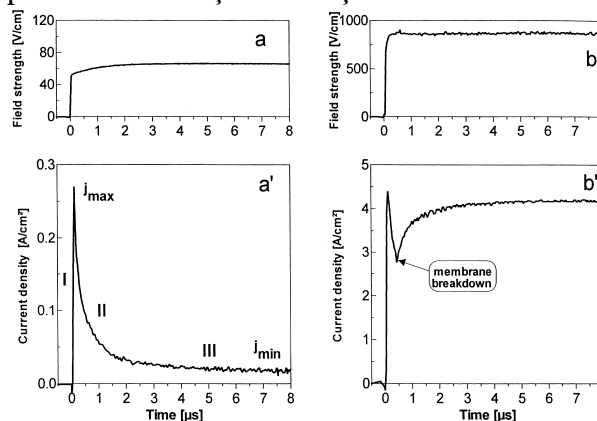
Din (I.2) și (I.4) rezultă:

$$E_m = \frac{u}{2l_m} (1 - e^{-\frac{t}{\tau}}) \quad (I.8)$$

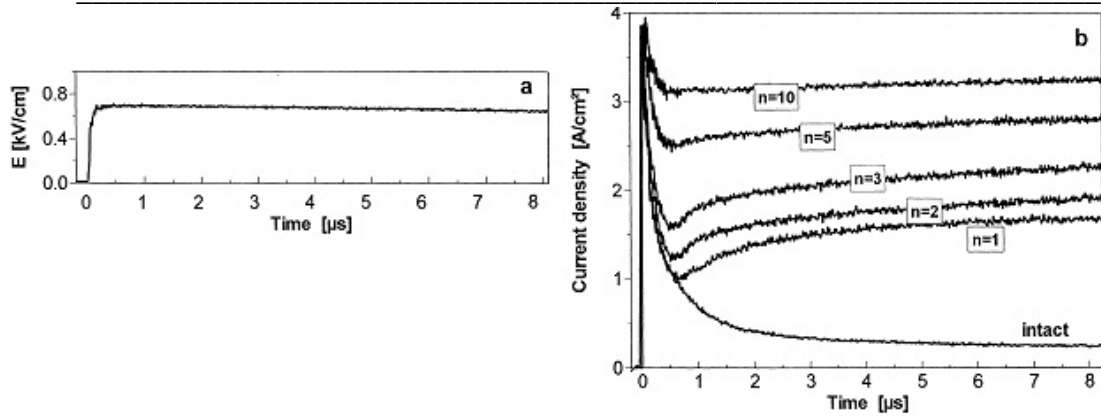
Pentru a distruge membrana (deci pentru a produce porii de eliberare a lichidului intracelular) este necesar ca valoarea intensității câmpului electric al membranei să depășească tensiunea de străpungere  $E_m > E_{str}$ . Pentru a evita refacerea membranei, sunt recomandate 2 căi:

- i) Realizarea unei valori  $E_m > E_{str}$  pe durata impulsului. Se poate face măbind amplitudinea impulsului și/sau măbind durata impulsului (de ex. **Figura I.3.** din [10], în cazul roșiilor.
- ii) Repetarea impulsurilor (de ex. **Figura I.4.** din [10])

Apariția electroporilor este însoțită de creșterea curentului absorbit.



**Figura I.3.** Intensitatea câmpului electric  $E$  pe celulă și densitatea de curent în cazul  $b$  apar electroporii [22]



**Figura I.4.** Dependența densității de curent în funcție de numărul de impulsuri.

Frecvența impulsurilor este 1Hz [10]

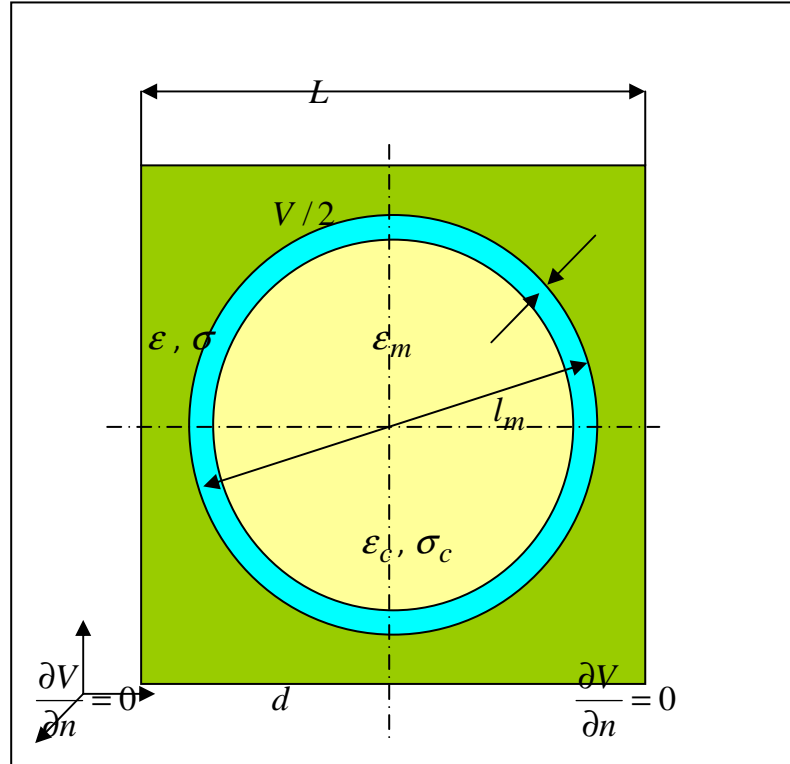
Adoptarea unei forme mai complicate pentru geometria celulei necesită utilizarea unei metode numerice de soluționare a problemei de câmp electric. Oricum, stabilirea datelor necesare soluționării problemelor este imposibilă dacă nu admitem o regularitate a distribuției celulelor în domeniul de calcul. O variantă acceptabilă este de a considera celule de formă sferică, distribuite uniform în mustaiulă, sau în produsul ce rezulta la o primă compresie (**Figura I.5**).

Spatiul intercelular are conductivitatea  $\sigma$  și permitivitatea  $\epsilon$ . În cazul celulelor presate, avem  $L=d$ . Condițiile de frontieră Neumann rezultă din periodicitatea structurii:

$$\frac{\partial V}{\partial n} = 0, \text{ pentru } x = \pm L/2, y = \pm L/2$$

iar condiția de frontieră Dirichlet rezultă din geometria vasului:

unde:  $u_{electrod}$  este tensiunea dintre electrozi și  $D_{electrozi}$  este distanța dintre electrozi.



**Figura I.5.** Celula sferică

Regimul quasistationar anamagnetic al câmpului electromagnetic presupune neglijarea derivatei în timp a inducției magnetice [12]. Ca urmare, din legea inducției electromagnetice rezultă:

$$\mathbf{E} = -\nabla V \quad (\text{I.9})$$

Dacă în legea circuitului magnetic:

$$\nabla \times \mathbf{H} = \mathbf{J} + \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} \quad (\text{I.10})$$

înlocuim relațiile constitutive

$$\mathbf{D} = \epsilon \mathbf{E} \quad (\text{I.11})$$

$$\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E} \quad (\text{I.12})$$

și aplicând operatorul  $\nabla$ , rezultă ecuația potențialului electric scalar:

$$\nabla \sigma \nabla V + \frac{\partial (\nabla \epsilon \nabla V)}{\partial t} = 0 \quad (\text{I.13})$$

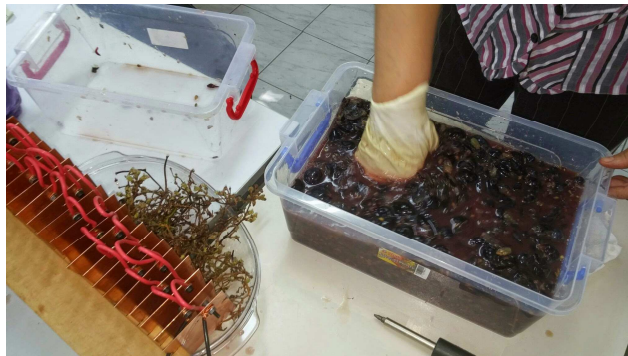
În următoarele faze ale contractului se va urmări realizarea unui sistem de:

- extragere a lichidului intracelular prin tehnica **compresie-PEF-compresie** sugerată în. Pelițele din boască sunt separate de lichid și, trecute prin valțuri, sunt supuse la prima compresie. Rezultatul este un “concentrat” de celule care, cu consum minim de energie, pot fi tratate PEF;

- tratarea PEF, care, pe lângă consumul redus de energie, folosește tensiuni reduse, benefice pentru securitatea instalației și a personalului. În urma tratării, apar electroporii. Acest pas din lanțul tehnologic urmează să fie studiat cu prioritate în cadrul contractului: se determină caracteristicile de material pentru pelițele rezultate la prima compresie, se determină tensiunile aplicate pe membrane, durata impulsurilor de tensiune și numărul impulsurilor, astfel încât să apară electroporii, fără a exista risul refacerii membranei. Pentru analiza numerică se va utiliza modelul matematic elaborat în această fază, bazat pe soluționarea numerică a regimului cvasistationar anamagnetic. Se va analiza și posibilitatea tratării în radiofrecvență [13] sau microunde. Lichidul intracelular este eliminat prin încă o compresie.

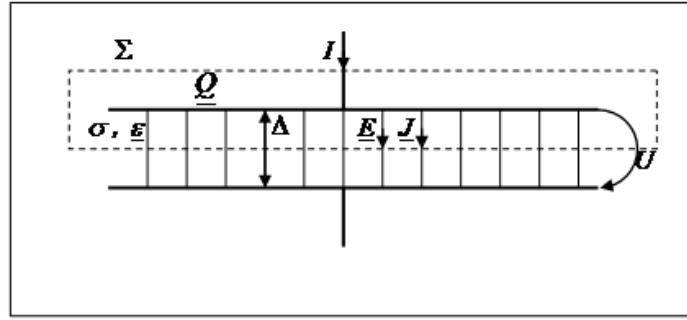
### I.2.2. Măsurători ai parametrilor electrici pentru mustuială

Pentru determinarea conductivității electrice și a permitivității complexe, a fost preparată, prin zdrobire manuală, o cantitate de mustuială dintr-un strugure negru. A fost introdusă într-un vas paralelipipedic și a fost imersat un sistem de 20 electrozi plani, conectați în paralel, echivalentul a doi electrozi plani cu suprafața activă de  $S=0.2394 \text{ m}^2$  distanțați la  $\Delta=0.015 \text{ m}$ . (Figura I.6).



**Figura I.6.** Vasul cu mustuială și electrozi

A fost adoptat modelul regimului cvasistationar anamagnetic și, în ipoteza unui câmp electric uniform, legea conservării sarcinii electrice este (Figura I.7):



**Figura I.7.** Modelul pentru determinarea  $\sigma$  si  $\epsilon$

unde  $\underline{Q}$  este sarcina electrică adunată pe armatura din interiorul suprafeței închise  $\Sigma$ . In afara

armăturilor  $\int_S \underline{J} \cdot n dS = -\underline{I}$ , iar între armături:

$$\underline{J} = \sigma \underline{E} = \sigma \frac{U}{\Delta} \quad (\text{I.14})$$

Pe armătură, sarcina electrică este distribuită uniform și avem:

$$\underline{Q} = S \underline{D} = S \epsilon \underline{E} = S \epsilon \frac{U}{\Delta} \quad (\text{I.15})$$

Rezultă:

$$-\underline{I} + S \sigma \frac{U}{\Delta} = -j \omega S \epsilon \frac{U}{\Delta} \quad (\text{I.16})$$

Deci:

$$\underline{Y} = \frac{\underline{I}}{\underline{U}} = \frac{S}{\Delta} [(\sigma + \omega \epsilon_r \text{tg } \delta) + j \omega \epsilon_r] \quad (\text{I.17})$$

Din puterea activă  $P$  absorbită de electrozi rezultă:

$$P = \frac{1}{T} \int_0^T u i dt = U^2 \text{Re}(\underline{Y}) = U^2 \frac{S}{\Delta} (\sigma + \omega \epsilon_r \text{tg } \delta) \quad (\text{I.18})$$

si apoi, din (43) avem:

$$\omega \epsilon_r = \sqrt{Y^2 - \frac{P^2}{U^4}} \quad (\text{I.19})$$

Relațiile (I.17) permite determinarea permitivitatii  $\epsilon_r$ . Relația (I.18), scrisă pentru mai multe frecvențe, permite determinarea conductivității  $\sigma$  și a tangentei de pierderi  $\text{tg } \delta$ .

S-a folosit o sursă de tensiune sinusoidală cu frecvențe între 50 Hz și 22MHz, tensiunea fiind măsurată pe unul din canalele unui osciloscop. Curentul a fost măsurat cu ajutorul unui șunt coaxial de rezistență  $R_s = 0.034 \Omega$ , tensiunea de la bornele șuntului  $U_s$  fiind măsurată pe al 2-lea canal al osciloscopului. Integrala (I.16) este făcută de osciloscop. Dependențele admitanței  $Y$ , a părților ei reale  $G$  și imaginare  $-B$  sunt prezentate în **Figurile I.9, I.10, I.11.**



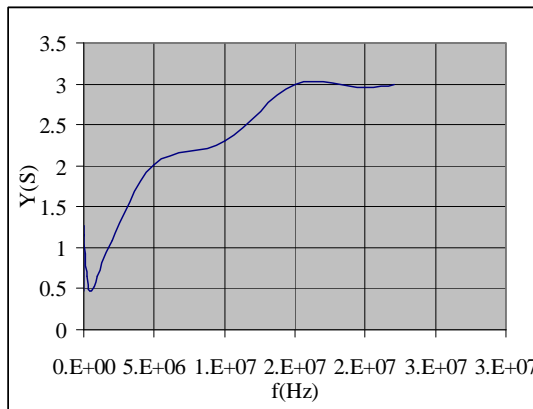


Fig. I.9. Dependenta de frecvență a admitanței

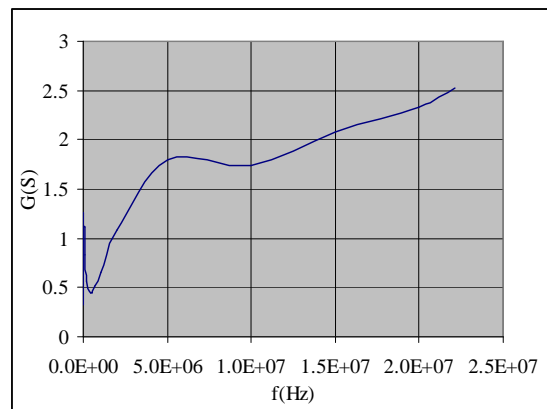


Fig. I.10. Dependenta de frecvența a părții reale a admitanței

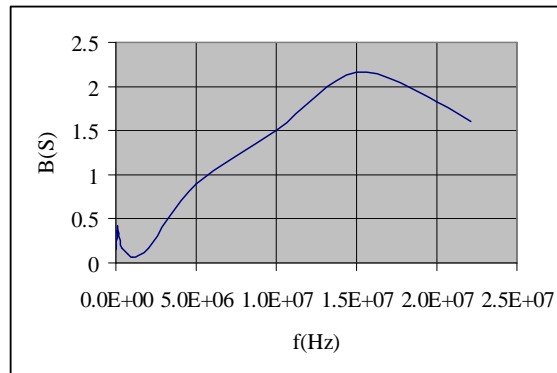


Fig. I.11. Dependenta de frecvență a părții imaginare a admitanței

Se observă imediat că partea imaginară a admitanței nu este funcție liniară de frecvență și nici partea reală nu este funcție afină de frecvență. De aici rezulta ca parametrii de material  $\sigma$  și  $\underline{\epsilon}$  depend de frecvența. Este necesar sa adaugam masuratorile asemănătoare pentru pielitele din boasca, care vor fi direct tratate in camp electric. Procedura nu este infirmate de neliniaritatea dependentei de frecvența a parametrilor de material, deoarece aparitia electroporilor este insotita de cresterea semnificativa a curentului.

Tot în cadrul măsurătorilor a fost verificată dependența de tensiune a parametrilor de material. In **Tabelul I.5.** sunt prezentate dependentele de tensiune ale admitanței Y, a partilor ei reale G si imaginare –B, la diferite frecvente.

**Tabelul I.5**

Dependenta de tensiune a admitanței

f (Hz)	U	Y	G	B'
	(V)	(S)	(S)	(S)
50	0.242	0.467914	0.331462	0.330267
	0.1293	0.443565	0.281478	0.342812
	0.0653	0.45041	0.272453	0.358662
500	0.0311	0.945716	0.851448	0.4116
	0.0594	0.94078	0.8936	0.294189
	0.1184	0.98122	0.905522	0.377919
5000	0.1015	1.263402	1.253296	0.159482
	0.0523	1.225959	1.204303	0.229411
	0.024	1.22549	1.143791	0.439964
10000	0.0256	1.148897	1.050164	0.465962
	0.0524	1.122586	1.101163	0.218267
	0.0988	1.166945	1.150385	0.195894

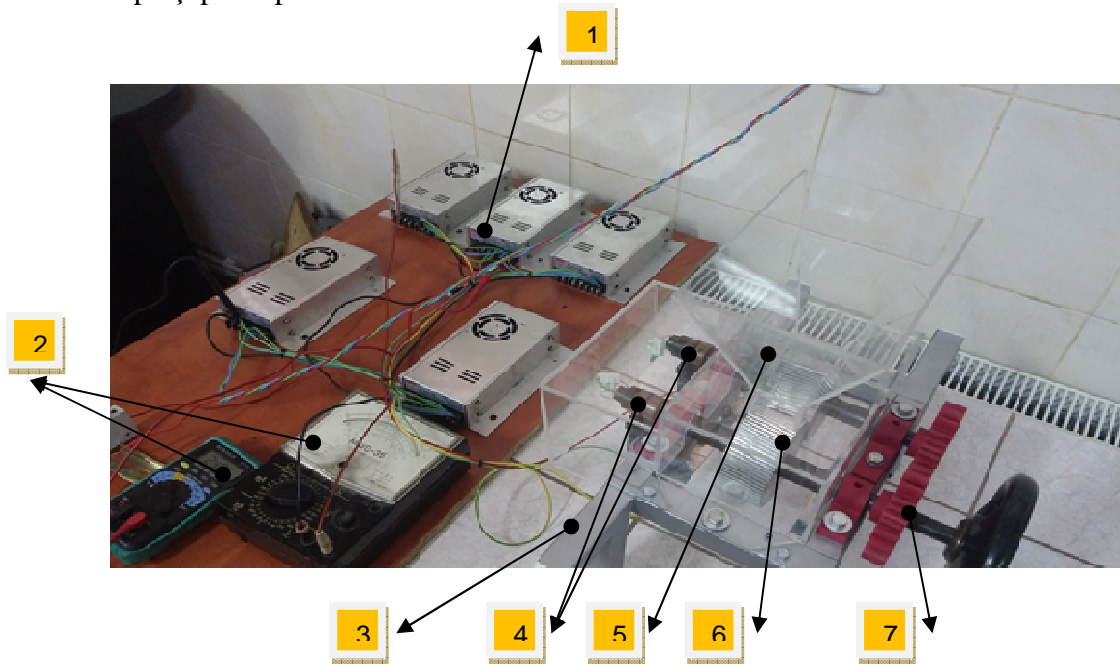
**Bibliografie**

- [1] Hazem Bouzrara, Eugene Vorobiev - *Solid/liquid expression of cellular materials enhanced by pulsed electric field*. Chemical Engineering and Processing 42 (2003) pp. 249-257,
- [2] S. Nagy, C.S. Chen, P.E. Shaw - *Fruit Juice Processing Technology*. Agscience Inc, 1992.
- [3] M. Corrales, S. Toepfl, P. Butz, D. Knorr, B. Tauscher - *Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison*. Innovative Food Science and Emerging Technologies 9 (2008) pp. 85–91.
- [4] V. Orsat, G.S. Raghavan, E.R. Norris - *Food processing waste dewatering by electro-osmosis*. Can. Agric. Eng. 38 (1996) pp. 63.
- [5] H. Yoshida, M. Iwata, H. Igami, T. Murase - *Combined operation of electroosmotic dewatering and mechanical compression*. J.Chem. Eng. Jpn. 3 (1991) pp. 399.
- [6] D. Knorr, M. Geulen, T. Grahl, W. Sitzmann - *Food application of high electric field pulses*. Trends Food Sci. Technol. 5 (1994) pp. 71.
- [7] M. Bazhal, E. Vorobiev - *Electrical treatment of apple cossettes for intensifying juice pressing*. J. Sci. Food Agric. 80 (2000) pp. 1668.
- [8] M.R. McLellan, R.L. Kime, L.R. Lind - *Electroplasmolysis and other treatments to improve apple juice yield*. J. Sci. Food Agric.
- [9] H. Bouzrara, E. Vorobiev - *Beet juice extraction by pressing and pulsed electric fields*. Int. Sugar J., CII 1216 (2000) 194. 57 (1991) pp. 303.
- [10] Alexander AngersbachU, Volker Heinz, Dietrich Knorr - *Effects of pulsed electric fields on cell membranes in real food systems*. Innovative Food Science & Emerging Technologies 1(2000) pp. 135-149.
- [11] N.I. Lebovka, M.I. Bazhal, E. Vorobiev - *Pulsed electric field breakage of cellular tissues: visualisation of percolative properties*. Innovative Food Science & Emerging Technologies 2(2001) pp. 113-125.
- [12] F.Hanțilă, M.Vasilu - *Câmpul electromagnetic variabil în timp*. Editura Electra București, 2005.
- [13] David J. Geveke , Christopher Brunkhorst, Xuotong Fan - *Radio frequency electric fields processing of orange juice*. Innovative Food Science and Emerging Technologies 8 (2007), pp. 549–554.

**Etapa II. Realizare echipament de laborator pentru tratarea mustuielii/boștină. Experimentări și măsurători de parametri. Programe de soluționare și proiectare a instalațiilor cu efect PEF.**

### II.1. Realizare echipament de laborator WINETECH

Echipamentul de laborator (**Figura II.1**) realizat în cadrul acestei etape se compune din următoarele părți principale:



**Figura II.1.** Echipamentul de laborator:

- 1 - Sursa de alimentare;
- 2 - Aparate de masura (tensiune, curent);
- 3 - Cadru susținere
- 4 - Colector (ansamblu perie –inel colector);
- 5 – Carcasa;
- 6 - Role de strivire (Tamburi);
- 7 - Mecanismul de acționare tamburi (axe, lagare, roți dintate, manivela)

**Sursa de alimentare.** Asigurarea condițiilor pentru electroplasmoliza strugurilor definite în etapa 1 (tensiune continuă de 240V și un curent maxim de 5A) a fost efectuată prin realizarea unei surse de alimentare formata prin inserierea a 5 surse de tensiune continua de tip SP-240-48.

Sursa de alimentare astfel realizată permite reglajul tensiunii în intervalul 0 ... 240 Vcc. Pentru a evita apariția arderilor (degradări ale materiei prime – boștina), curentul stabilit între cei 2 tamburi aflați la o distanță de 2 mm unul față de altul nu trebuie să depășească valoarea de 2A. Pentru aceasta, sursa permite reglajul tensiunii în intervalul 0-240 V, curentul fiind monitorizat cu un ampermetru înseriat în circuitul electric.

**Colector (ansamblu perie - inel)** asigură conectarea la circuitul electric a rolelor de strivire (tamburi) aflate în mișcare de rotație. Inelul colector se fixează pe ax prin lipire în dreptul periei colectoare. Ansamblul perie-inel colector montate pe suport permite rotația celor două axe angrenate de roți dințate în sensuri diferite de rotație.

**Carcasa** este fixată pe cadrul de susținere și permite conducerea și ghidarea materiei prime (bostina) între rolele de strivire (tamburi) alimentate la sursa de curent continuu pentru declanșarea procesului de electroplasmoliză. Prin rotația manuală a manivelei, cele două axe sunt puse în mișcare, tamburii se rotesc în sens contrar și boștina trece printre cei 2 tamburi alimentați la sursa de alimentare și astfel are loc procesul de electroplasmoliză. Pentru vizualizarea procesului carcasa este realizata din plexiglas transparent și are o formă specială pentru ușurarea procesului tehnologic (respectiv aducerea boștinei în contact cu cei doi tamburi).

**Rolele de strivire** realizate dintr-un aliaj de Aluminiu au o construcție specială: diametru de 95 mm și 72 de canale pe generatoare decalate la 5 grade și înclinate la 5 grade față de orizontală. Adâncimea canalelor este de 5 mm. Forma dinților astfel obținută este ascuțită la capăt.

**Mecanismul de acționare tamburi (axe, lagare, roți dințate, manivelă)**, fiecare tambur este montat pe un ax, fixat pe cadru prin intermediul lagarelor. Lagarele sunt executate dintr-un material nemetalic (poliamida), pentru a asigura izolația față de sursa de alimentare. Pe ax este fixat deasemenea și colectorul. Cele două axe sunt puse în mișcare de rotație cu ajutorul unui sistem de angrenare cu roți dințate (diametru exterior 104 mm, număr de dinți 19).

## **II.2. Tratarea mustuielii/ boștinei la diferite forme de undă ale curentului electric**

În cadrul studiului nostru am considerat 3 soiuri de struguri: Muscat Ottonel, Merlot, Pinot Noir, aplicând 2 metode neconvenționale, câmp electric pulsatoriu (PEF)  $I-I^*$  și respectiv câmp de înaltă frecvență (MW), în prima etapă din fluxul tehnologic de producere a vinului.

Pentru obținerea vinului pornind de la cele trei soiuri de struguri au fost parcurse următoarele etape:

1. Boabele de struguri au fost dezciorchinate și zdrobite cu ajutorul unui dezbrobonitor-zdrobitor, rezultând mustuiala, care a fost împărțită în trei părți. O parte a fost tratată în câmp electric pulsatoriu (PEF)  $I$ , centrifugare urmată de tratatrea în câmp electric pulsatoriu (PEF)  $I^*$ , o altă parte a fost tratată în câmp de înaltă frecvență iar a treia parte a rămas netratată. Din această etapă s-au colectat probe pentru analize fizico chimice (pH, aciditate titrabilă, indice de refracție Brix) și analize biochimice (determinarea polifenolilor totali, determinarea flavonoidelor totale, determinarea antocianilor totali și capacitatea antioxidantă determinată prin 3 metode diferite, DPPH, ABTS și FRAP).

2. Mustuiala provenită de la boabele de struguri atât tratați cât și netratați în câmp electric pulsatoriu (PEF)/în câmp de înaltă frecvență a fost apoi presată cu ajutorul unei prese manuale cu șurub, după care mustul a fost însămânțat cu drojzii selecționate [2].

3. Drojdiile utilizate au fost Lallemand cu putere mare alcooligenă și rezistență la temperaturi scăzute. Fermentarea a fost protejată fără temperatură controlată. Durata fermentației a fost între 11 și 14 zile. După fermentare am procedat la pritor deschis, separând drojdia. După fermentare am procedat la protejarea cu metabisulfid de potasiu 150 mg/l și tratament cu bentonită de un g/l. După 12 zile de limpezire vinurile aproape toate au reacționat pozitiv, în final fiind limpezi și stabile.

Pentru cele trei soiuri de struguri (Muscat Ottonel, Merlot, Pinot Noir) am efectuat analize fizico-chimice și biochimice în diferite etape ale procesului de producere ale vinului. Analizele fizico-chimice realizate atât în cazul mustuielii tratate/netratate cât și a vinului obținut au fost: **determinarea pH-ului, determinarea acidității titrabile, determinarea indicelui de refracție/ grade Brix (%)**.

### **II.2.1. Determinarea pH-ului**

Cunoașterea pH-ului în tehnologia vinului, prezintă o importanță deosebită, deoarece influențează direct proprietățile gustative ale vinului, limpiditatea, culoarea vinurilor roșii și condițiile de dezvoltare a microorganismelor utile dar și patogene ale vinului. Rezultatele cu privire la pH-ul obținut din cele patru probe netratate/ tratate în câmp de înaltă frecvență, respectiv în câmp electric pulsatoriu (PEF)/ sunt prezentate în **Tabelul II.1**.

Tabelul II.1.

Determinarea pH-ului probelor de mustuală și vin netratate sau tratate în câmp de înaltă frecvență (MW)/câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*)

<b>MUST</b>		media pH	sd
<i>MUSCAT OTTONEL</i>	Netratat	3.48	0.04
	MW	3.58	0.02
	I	3.76	0.02
	I* (centrifuga)	3.67	0.03
<i>PINOT NOIR</i>	Netratat	3.50	0.08
	MW	3.30	0.03
	I	3.36	0.05
	I* (centrifuga)	3.38	0.02
<i>MERLOT</i>	Netratat	3.47	0.04
	MW	3.36	0.04
	I	3.41	0.07
<b>VIN</b>		media pH	sd
<i>MUSCAT OTTONEL</i>	Netratat	2.90	0.07
	MW	3.37	0.03
	I	2.96	0.03
	I* (centrifuga)	3.43	0.02
<i>PINOT NOIR</i>	Netratat	2.95	0.07
	MW	2.86	0.03
	I	2.88	0.05
	I* (centrifuga)	2.99	0.02
<i>MERLOT</i>	Netratat	2.94	0.14
	MW	2.79	0.02
	I	2.83	0.02

### II.2.2. Determinarea acidității titrabile

Determinarea acidității, este una din determinările cele mai importante, pentru că aciditatea determină calitatea mustului și mai târziu a vinului. Aciditatea din struguri și must este formată în principal din acizii tartric, malic și într-o proporție mai mică din acidul citric. În vin se regăsesc acizii prezenți în struguri la care se mai adaugă și acizii care se formează în urma sau în timpul fermentațiilor, cum ar fi acidul carbonic, acidul acetic, acidul propionic, acidul lactic, acidul succinic. Aciditatea probelor s-a realizat prin metodă titrimetrică, prin neutralizarea acidității probelor cu o soluție de hidroxid de sodiu 0,1M cu factor cunoscut ( $F= 1,0018$ ). Rezultatele obținute sunt exprimate în g/L acid tartric, conform relației (2.2.) și sunt prezentate în **Tabelul II.2.**

$$\text{Aciditate totală} = \frac{V_p \cdot F \cdot 0.0075}{10} \cdot 1000 \text{ g/l acid tartric} \quad (\text{II.1})$$

unde:  $V_p$  – reprezintă volumul de NaOH 0,1M folosit la titrarea probelor; F - factorul soluției de NaOH 0,1M (1,0018); 10 - reprezintă ml de probă folosită la titrare; 1000 – convertirea rezultatelor în litru.

**Tabelul II.2.**

Determinarea acidității titrabile a probelor de mustuială și vin netratate/ tratate în câmp de înaltă frecvență (MW)/câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*)

<b>MUST</b>		<b>g acid tartric/L</b>	<b>sd</b>
<b>MUSCAT OTTONEL</b>	Netratat	5.72	0.65
	MW	5.48	0.11
	I	5.03	0.11
	I* (centrifuga)	5.26	1.06
<b>PINOT NOIR</b>	Netratat	6.01	0.21
	MW	9.02	0.48
	I	7.89	2.44
	I* (centrifuga)	8.90	1.65
<b>MERLOT</b>	Netratat	5.86	0.21
	MW	6.54	0.32
	I	6.39	7.25
<b>VIN</b>		<b>g acid tartric/L</b>	<b>sd</b>
<b>MUSCAT OTTONEL</b>	Netratat	5.76	0.17
	MW	4.66	0.00
	I	5.11	0.26
	I* (centrifuga)	4.61	0.74
<b>PINOT NOIR</b>	Netratat	3.71	0.38
	MW	3.61	1.04
	I	3.41	0.35
	I* (centrifuga)	3.16	0.26
<b>MERLOT</b>	Netratat	4.31	0.68
	MW	5.26	1.65
	I	4.31	0.57

### II.2.3. Determinarea indicelui de refracție/ grade Brix (%)

Determinarea glucidelor din probe s-a realizat cu ajutorul refractometrului de tip Abbe, prin determinarea indicelui de refracție. Citirea se face în Brix (unitatea de măsurare a glucidelor dintr-o soluție apoasă), iar conversia se face cu ajutorul unui tabel de transformare în grame glucide/L (1 Brix = 10,04g/L la 20<sup>0</sup>C). Rezultatele obținute sunt prezentate în **Tabelul II.3.a.b**

**Tabel II.3.a.**

Determinarea indicelui de refracție Brix (%) a probelor de mustuială netratate/tratate în câmp de înaltă frecvență (MW)/câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*)

<b>MUST</b>		<b>nD</b>	<b>SD</b>	<b>Bx(%)</b>	<b>SD</b>
		<b>MD</b>		<b>MD</b>	
<b>MUSCAT OTTONEL</b>	Netratat	1.364371	0.000696	20.367	0.7843
	MW	1.364542	0.000782	19.900	0.1261
	I	1.359492	0.000996	17.475	0.5311
	I* (centrifuga)	1.364708	0.000642	20.600	0.5135
<b>PINOT NOIR</b>	Netratat	1.361992	0.000536	18.183	0.3433
	MW	1.363225	0.001320	19.717	0.7849
	I	1.363063	0.000322	19.550	0.2067
	I* (centrifuga)	1.364900	0.000295	20.892	0.2843
<b>MERLOT</b>	Netratat	1.361917	0.000229	18.925	0.1485
	MW	1.361917	0.000229	18.925	0.1485
	I	1.363525	0.000241	19.800	0.1314

**Tabel II.3.b.**

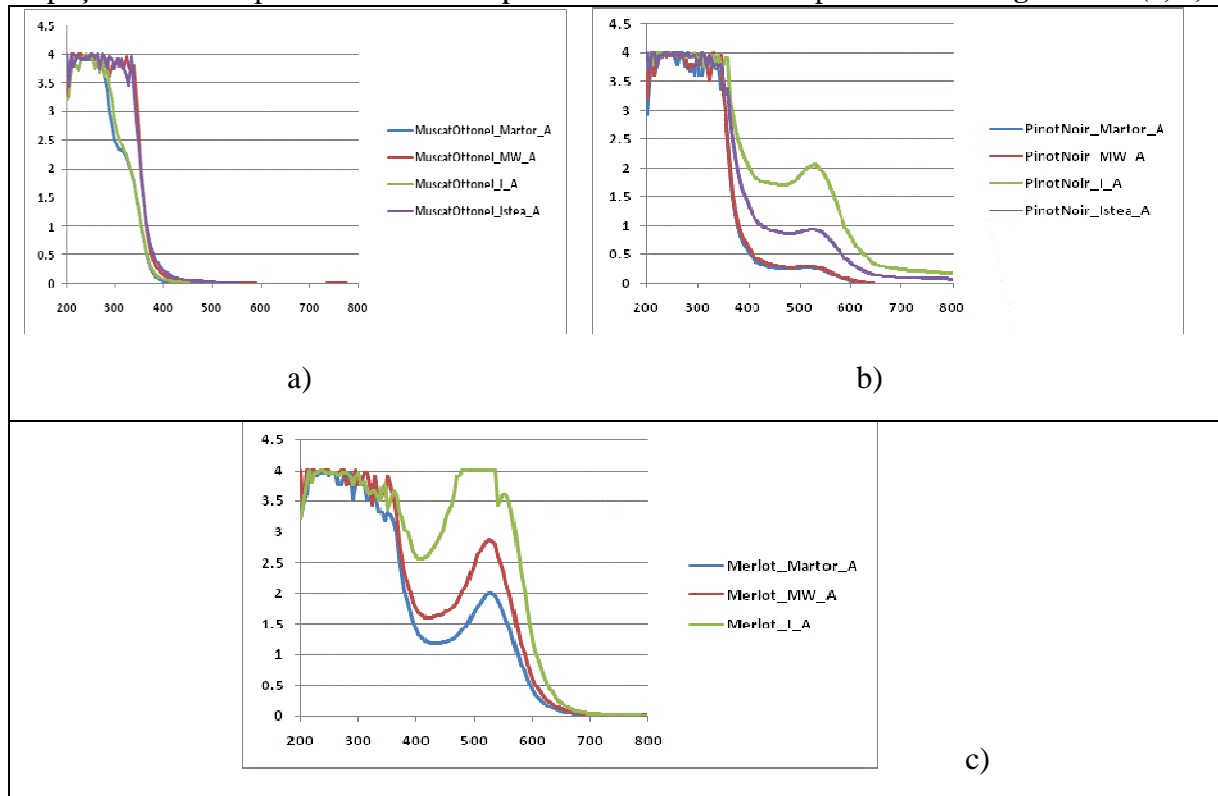
Determinarea indicelui de refracție Brix (%) a probelor vin netratate/tratate în câmp de înaltă frecvență (MW)/câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*)

IN		nD		Bx(%)	
		MD	SD	MD	SD
<b>MUSCAT OTTONEL</b>	Netratat	1.340533	0.000058	5.217	0.0289
	MW	1.341183	0.000161	5.633	0.1155
	I	1.340533	0.000058	5.217	0.0289
	I* (centrifuga)	1.340933	0.000115	5.433	0.1155
<b>PINOT NOIR</b>	Netratat	1.340633	0.000058	5.233	0.0289
	MW	1.340600	0.000173	5.333	0.0577
	I	1.341167	0.000289	5.483	0.0289
	I* (centrifuga)	1.340933	0.000115	5.483	0.0289
<b>MERLOT</b>	Netratat	1.341283	0.000104	5.673	0.0681
	MW	1.341833	0.000289	5.933	0.1155
	I	1.342217	0.000029	6.250	0.0500

Notă: colorarea celulelor s-a realizat pentru nD și Bx separat simultan pentru probele MUST și VIN – gradientul de culoare este de la verde (valori minime) la roșu (valori maxime) cu trecere prin galben (pentru mediana).

**II.2.4. Analiza amprentei UV-VIS a probelor de vin tratate/ netratate în câmp de înaltă frecvență (MW)/câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*)**

Înainte de efectuarea analizelor biochimice s-a realizat un screening UV-VIS a tuturor probelor din cele trei etape, cu scopul de a observa absorbțiile maxime specifice diferiților compuși bioactivi. Spectrele UV-VIS a problemelor de vin sunt prezentate în **Figura II.2. (a, b, c)**.



**Figura II.2.** Spectrul UV-VIS a probelor de vin netratate sau tratate în câmp în câmp de înaltă frecvență (MW)/câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*):  
 a - Muscat Ottonel; b - Pinot Noir; c - Merlot

Studiul întreprins în cadrul acestei activități își propune să ofere o imagine de ansamblu cuprinzătoare a cunoștințelor științifice actuale, a efectelor procesării în câmp electric pulsatoriu (PEF), respectiv în câmp de înaltă frecvență, asupra aspectelor microbiene, enzimatic, nutritive, senzoriale și stabilirea unui flux tehnologic pentru procesarea strugurilor.

Prin aplicarea câmpului electric pulsatoriu (PEF), se obține o inactivare microbiană în vin și o creștere a calității produsului final.

### II.3. Programe de soluționare și proiectare a instalațiilor cu efect PEF

O direcție importantă a cercetărilor din cadrul acestui contract este realizarea unui sistem format din 2 tamburi conductori, care se rotesc în sensuri contrare și care antrenează boștina. Dispozitivul cu cei doi tamburi a fost realizat de partenerul P2\_ ICPE București. Tensiunea dintre tamburi conduce la producerea tensiunii de străpungeră pe membrana celulelor cojilor boabelor de struguri.

A fost necesară soluționarea unor probleme deosebit de complicate. Prezentăm în continuare aceste probleme și modul în care au fost rezolvate.

1. În momentul în care membranele sunt străpunse, curentul crește foarte mult și boștina începe să fiarbă între tamburi. Fenomenul a fost confirmat experimental.

Soluții:

1.1. Aplicăm pe tamburi tensiune în impulsuri, având frecvența corelată cu turația tamburilor. Dezavantajul: este greu să fie realizată această corelare, deoarece proprietățile boastei pot să difere foarte mult.

1.2. Inserierea unui reostat între sursă și tamburi, care să confere o caracteristică u-î scăzătoare, de tip transformator de sudură (evident, în cazul nostru, avem tensiune continuă). Dezavantaj: randamentul instalației este redus.

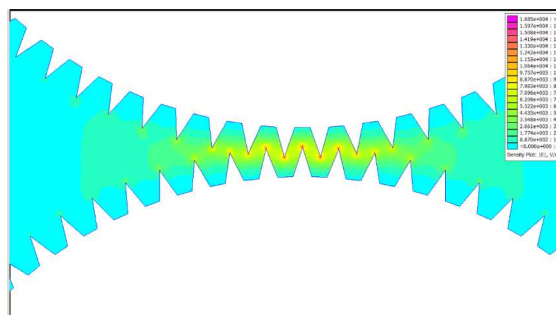
2. “Pata” descărcării rămâne fixată într-o zonă aflată la o anumită distanță pe lungimea tamburilor. Doar boasca care trece prin zona petei este tratată.

Soluții:

2.1. Suprafețele tamburilor au striații înclinate (asemănător dinților înclinați ai mașinilor electrice). Unghiul de înclinare al dinților de-a lungul axei tamburului este astfel ales încât sfârșitul unui dinte corespunde începutului dintelui următor. În echipamentul de laborator realizat, se opun dinții celor doi tamburi. Dezavantajul soluției constă în faptul că în șanțurile tamburilor se adună boștina ce nu poate fi tratată și, în plus, transportul boștinei prin rotația tamburilor se îngreunează.

2.2. Cuplarea tamburilor cu striații înclinate astfel încât dinții unui tambur să se învecineze cu șanțurile tamburului opus (asemănător roților dințate).

În **Figura II.3.** sunt prezentate, intensitățile câmpului magnetic în momentul în care vârful dintelui unei roți (cea de jos, în fig.) se află în dreptul mijlocului creștăturii celeilalte roți, iar în **Figura II.4.** sunt desenate echipotențialele. În **Figurile II.5. și II.6.** sunt prezentate aceleași mărimi, după rotirea celor două roți cu o jumătate de pas dentar (unghiular).



**Figura II.3.** Intensitatea câmpului electric la un unghi de referință inițial



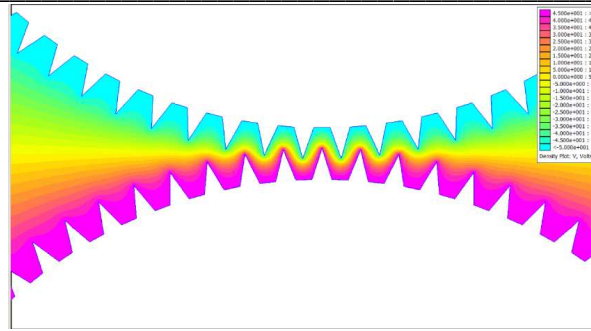


Figura II.4. Potențialul electric la un unghi de referință inițial

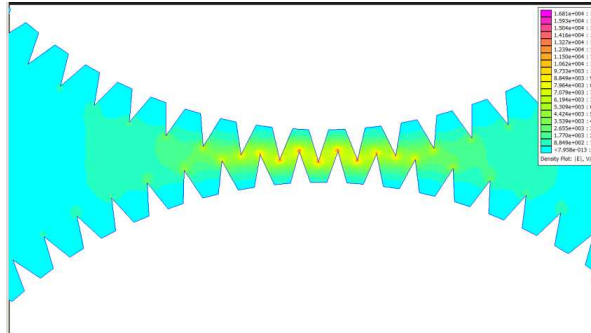


Figura II.5. Intensitatea câmpului electric după rotirea celor 2 roți cu o jumătate de pas dentar

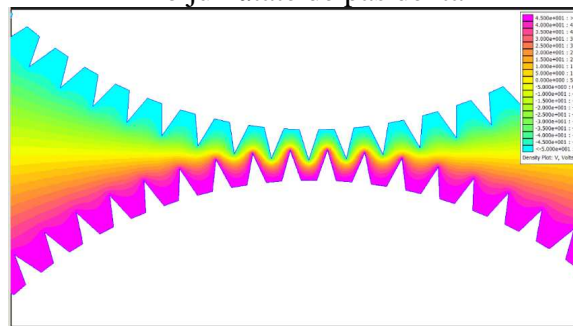


Figura II.6. Potențialul electric după rotirea celor 2 roți cu o jumătate de pas dentar

Este evident faptul că vârful dintelui produce o concentrare mare a intensității câmpului electric, favorabilă inițierii descărcării electrice.

Pentru realizarea modelului funcțional (Etapa III) este utilă analiza unei forme cât mai eficiente pentru cele 2 roți: număr de dinți, de unde rezultă înclinarea lor; adâncimea dinților; forma dinților.

În ultima etapă se va încerca realizarea soluției adaptată la dispozitivul deja realizat.

#### II.4. Analiza mustuielii/boștinei comparativ tratată-netratată. Stabilirea contribuției factorilor care concură la apariția fenomenului electroplasmotic (parțial)

##### II.4.1. Analiza comparativă a conținutului de pigmenți antocianici din amprenta spectrală VIS

Pigmenții antocianici prezintă un maxim de absorbție în domeniul vizibil (VIS) în jurul lungimii de undă de 520 nm, pot exista shift-ri ale acestei poziții datorate concentrațiilor diferite de compuși bioactivi și a pH-ului diferit al probelor de vin.

Concentrația unui component biochimic este caracterizată de aria și intensitatea maximului caracteristic. Rezultatele acestor parametrii spectrali (Aria și Intensitatea maximului) sunt prezentate în **Tabelul II.4** pentru probele de vin Pinot Noir și **Tabelul 2.5** pentru probele de vin Merlot.

*Notă: colorarea celulelor s-a realizat pentru Aria și Intensitate maximă separat simultan pentru probele de vin – gradientul de culoare este de la verde (valori minime) la roșu (valori maxime) cu trecere prin galben (pentru mediana).*

Proba de vin PinotNoir\_I, tratată în câmp electric pulsatoriu (PEF), este cea care prezintă valorile cele mai mari ale parametrilor spectrali și este urmată de proba PinotNoir\_I\* tratată tot în câmp electric pulsatoriu (PEF) (dar în varianta probelor pre-centrifugate). Probele PinotNoir\_MW, tratată în câmp de înaltă frecvență și cea Martor prezintă parametri spectrali foarte apropiați.

**Tabelul II.4**

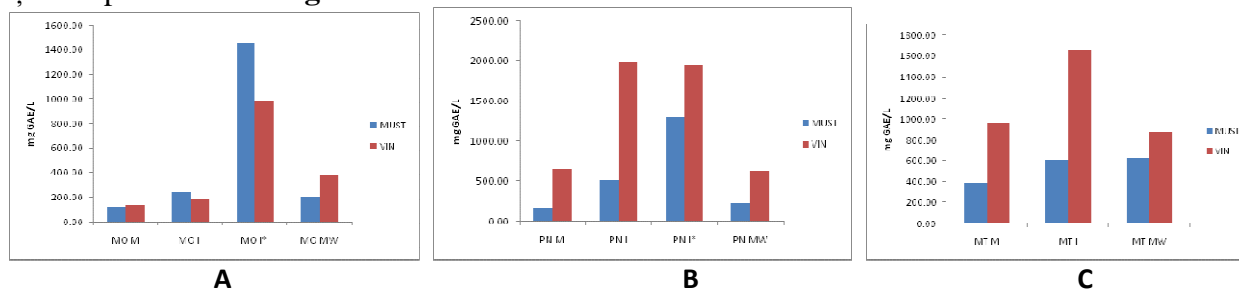
Proprietățile spectrale ale maximelor caracteristice pigmentilor polimerici antociani din probele de vin Pinot Noir\_Merlot

Probe	Start (nm)	Sfârșit (nm)	Aria	Poziție maxim (nm)	Intensitate maxim (u.a.)
Antociani_PinotNoir_MW	421	631	10.13	507	0.3
Antociani_PinotNoir_Martor	424	659	10.43	511	0.27
Antociani_PinotNoir_I*	437	637	30.54	517	0.92
Antociani_PinotNoir_I	420	640	89.56	524	1.98
Antociani_Merlot_Martor	428	621	116.78	523	1.88
Antociani_Merlot_MW	430	640	173.87	521	2.71
Antociani_Merlot_I	415	648	305.1	511	4.07

În concluzie putem spune că în cazul probelor tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) (I și I\*) conținutul de pigmenți antocianici este mult mai mare decât în probele Martor și tratată în câmp de înaltă frecvență (MW). Aceste efecte indică faptul că utilizarea impulsurilor electrice duce la eliberarea pronunțată, la nivel celular, a compușilor bioactivi (antociani), față de cazul tratamentului cu unde electromagnetice, atât în cazul probelor de vin din soiul Merlot cât și Pinot Noir.

#### Determinarea polifenolilor totali

Determinarea polifenolilor totali s-a realizat utilizând metoda Folin – Ciocâltău. Cantitatea de compuși fenolici totali a fost exprimată în mg echivalenți acid galic (GAE)/L probă și sunt prezentate în **Figura II.7**

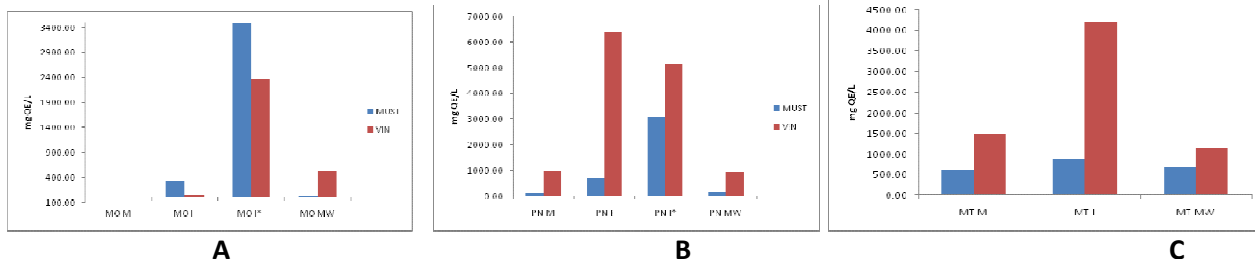


**Figura II.7.** Conținutul în compuși polifenolici totali (mg GAE/L) din mustuală și vinul obținut din strugurii: A - Muscat Ottonel, B - Pinot Noir, C – Merlot, netratate/tratate în câmp de înaltă frecvență (MW) și în câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*)

#### Determinarea flavonoidelor totale

Determinarea flavonoidelor totale s-a realizat prin metoda spectrofotometrică. Determinarea conținutului total de flavonoide s-a realizat într-un balon cotat de 10 ml în care s-a introdus 1 ml probă, 2 ml apă distilată și 3 ml NaNO<sub>2</sub> (5%). Probele au fost lăsate în repaus pentru 5 minute după care s-a adăugat 0,3 ml AlCl<sub>3</sub> (10%), și din nou s-au menținut probele în

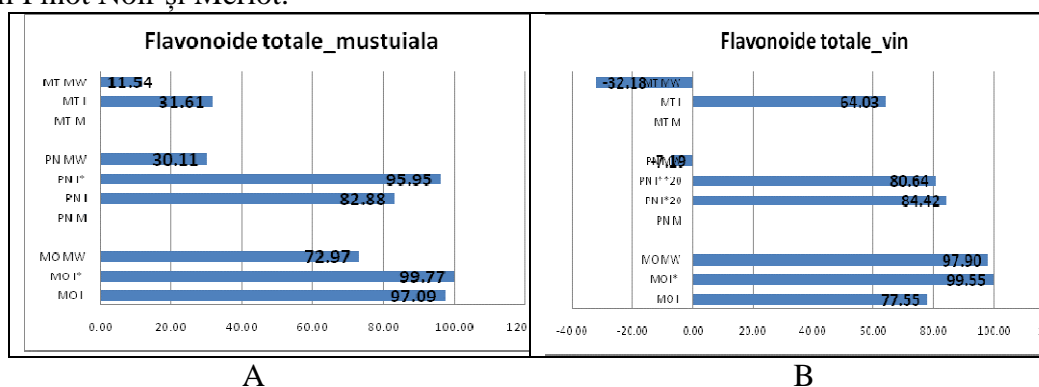
repaus de 6 minute. În final s-a adăugat 2 ml NaOH 1M, s-a completat până la semn balonul cotat iar după exact 15 minute, s-a citit absorbanta la 510 nm. Curba de calibrare s-a realizat cu quercetină, ca și standard, realizându-se diluții în intervalul de 0-500 ppm, rezultatele fiind exprimate sub formă de mg quercetin echivalent (QE)/L probă și sunt prezentate în **Figura II.8.**



**Figura II.8.** Conținutul în flavonoide totale (mg QE/L) din mustuală și vinul obținut din strugurii: A - Muscat Ottonel, B - Pinot Noir, C – Merlot, netratate/tratate în câmp de înaltă frecvență (MW) și în câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*)

În cadrul probelor de mustuală și vin provenite de la toate soiurile de struguri luate în studiu (Muscat Ottonel, Pinot Noir și Merlot), în urma realizării raportului relativ, conținutul în flavonoide totale, în funcție de tratamentul folosit au prezentat o dinamică variată (**Figura II.9**). În cazul mustuielii, la toate probele de struguri cantitatea în compuși polifenolici totali a crescut semnificativ, comparativ cu probele netratate.

Cea mai mare difuzie de flavonoide din matricea vegetală în mustuală s-a înregistrat în cazul tratamentului în câmp electric pulsatoriu și centrifugare (PEF)\_I\* (95,95 în cazul strugurilor Pinot Noir și 99,77 la strugurii Merlot). Și aplicarea tratamentului (PEF)\_I fără centrifugare a avut un rezultat foarte bun în ceea ce privește transferul flavonoidelor din matrice în fluid (de 82,88 și 97,09 în cazul strugurilor Pinot Noir, respectiv Merlot). Și în cazul tratamentului în câmp de înaltă frecvență s-au înregistrat (MW) difuzii bune ale flavonoidelor comparativ cu matorul, 11,54 Pinot Noir; 30,11 Merlot și respectiv 72,97 la Muscat Ottonel. În schimb în cazul vinului (**Figura II.9**) tratat în câmp de înaltă frecvență, se observă o scădere în conținutul de flavonoide totale comparativ cu matorul. Tratamentul în câmp electric pulsatoriu (PEF)\_I, I\*, a avut ca rezultat o creștere semnificativă de flavonoide totale în probele de vin provenite de la strugurii Pinot Noir și Merlot.



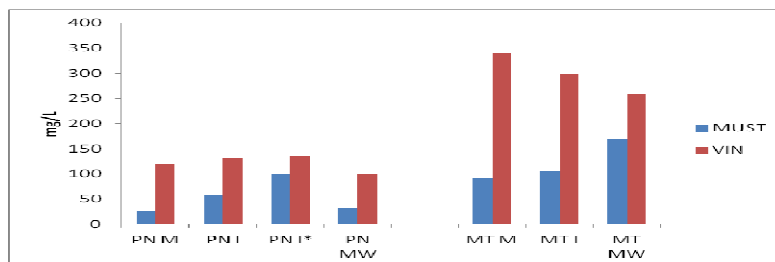
**Figura II.9.** Raportul relativ ((cantitate flavonoide totale probe tratate – cantitate flavonoide totale netratate/ cantitatea de flavonoide totale netratate)\*100); A – mustuală; B - vin

### Determinarea conținutului în pigment antocianic monomeric total

Pe baza spectrelor UV-VIS se poate observa că doar vinurile provenite de la strugurii Pinot Noir și Merlot conțin antociani. Această metodă se bazează pe proprietatea antocianilor de a-și schimba culoarea în funcție de pH. Conținutul total de antociani monomerici (echivalenți ciani din 3-glucozida/L probă) a fost calculat conform relației (II.2), și sunt prezentate în **Figura II.10.**

$$\text{Conținutul de antociani (mg/L)} = (A \times MM \times DF \times 1000) / \epsilon \times L \quad (\text{II.2})$$

unde: A - (A520 nm pH 1.0-A700 nm pH 1,0) - (A520 pH 4.5 nm - A700 nm pH 4,5); MM - Masa moleculară a cianidin 3-glucozida (449.2); DF - factorul de diluție;  $\epsilon$  - absorbivitatea molară a ciani din 3-glucozida în soluție apoasă acidă (26,900 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>); L - drumul optic (1 cm).



**Figura II.10.** Conținutul în pigment antocianic monomeric total din mustuiala și vinul obținut din strugurii Pinot Noir și Merlot netratate/tratate în câmp de înaltă frecvență (MW) și în câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*)

Aplicarea câmpului electric induce electroporarea membranei celulare și astfel mărește difuzia soluțiilor și inactivarea microbiană. Unii autori (López *et al.*, 2008a, 2008b; Puértolas *et al.*, 2000a, 2010b, 2010c) susțin că aplicarea câmpului electric (PEF) în industria oenologică îmbunătățește randamentul de extracția a polifenolilor, având ca rezultat producerea de vinuri roși de înaltă calitate.

În cadrul proiectului am luat spre studiu trei soiuri de struguri, care după etapa de deziorchinare și zdrobire (mustuiala) au fost tratate fie în câmp electric pulsatoriu (PEF) I, I\*, fie în câmp de înaltă frecvență (MW). În paralel s-a constituit și o probă martor care nu a fost supusă tratamentului PEF sau MW. Toate probele au urmat apoi fluxul tehnologic de obținere a vinului, și s-a determinat conținutul în compuși bioactivi totali de tipul polifenolilor, flavonoidelor și antocianinelor.

În cadrul probelor (mustuială și vin) provenite de la strugurii *Muscat Ottonel*, în urma realizării raportului relativ, conținutul în compuși polifenolici, în funcție de tratamentul folosit prezintă o dinamică variată (**Figura II.11.**):

- în cazul *mustuiei*, tratamentul în câmp electric pulsatoriu și centrifugare (PEF)\_I\*, a avut ca rezultat o extragere a polifenolilor din mustuială în cantitatea cea mai mare (raport relativ de 92,31). Aplicarea doar a câmpului electric pulsatoriu (PEF)\_I a avut ca rezultat un raport relativ de 53,64, iar în cazul câmpului de înaltă frecvență (MW), s-a obținut un raport relativ de 45,64;

- în cazul *vinului*, tratamentul în câmp electric pulsatoriu și centrifugare (PEF)\_I\*, a avut ca rezultat o extragere a polifenolilor din mustuială în cantitatea cea mai mare (raport relativ de 86,81). În schimb o cantitate mai mare de polifenoli s-a obținut în vinul în care strugurii au fost tratați tratat câmp de înaltă frecvență (MW) (64,81), comparativ cu cei tratați în câmpului electric pulsatoriu (PEF)\_I (28,20). De la etapa de mustuială până la etapa finală de obținere a vinului, au loc diferite procese biochimice, care depind și de procesul de fermentare și clarificare a vinului, procese care influențează conținutul în compuși polifenolici.

În cazul probelor (mustuială și vin) provenite de la strugurii *Pinot Noir*, în urma realizării raportului relativ, conținutul în compuși polifenolici, în funcție de tratamentul folosit prezintă o dinamică variată (**Figura II.11.**):

- în cazul *mustuiei*, tratamentul în câmp electric pulsatoriu și centrifugare (PEF)\_I\*, a avut ca rezultat o extragere a polifenolilor din mustuială în cantitatea cea mai mare (raport relativ de 87,61). Aplicarea doar a câmpului electric pulsatoriu (PEF)\_I a avut ca rezultat un raport relativ de 68,52, iar în cazul câmpului de înaltă frecvență (MW), s-a obținut un raport relativ de 30,71;

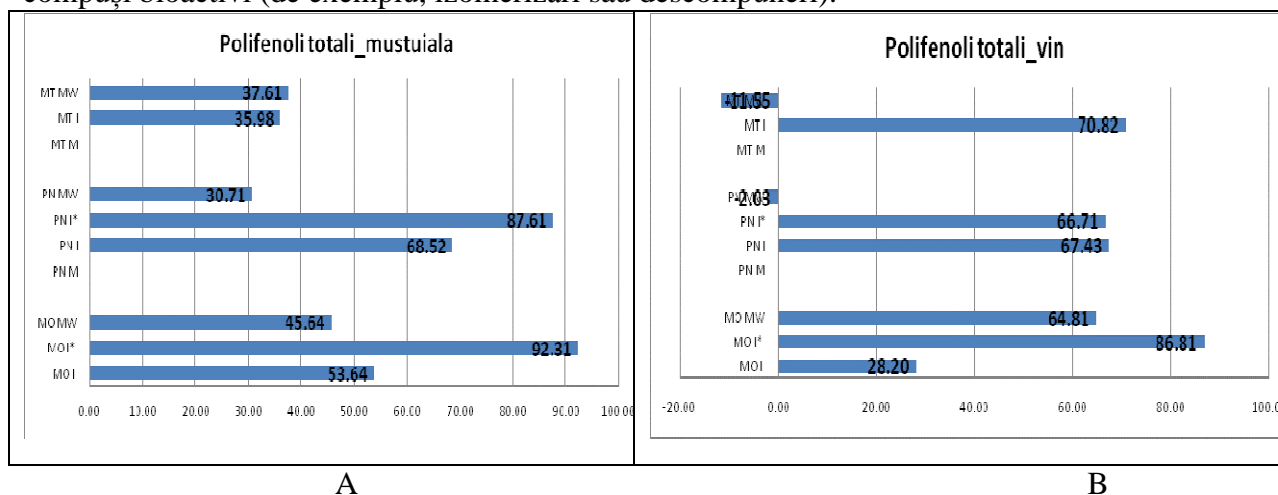
- în cazul *vinului*, tratamentul în câmp electric pulsatoriu și centrifugare (PEF)\_I\* și a tratamentului în câmp electric pulsatoriu (PEF)\_I, rapoartele relative sunt aproximativ egale

(66,71 respectiv 67,43). În schimb, tratamentul în câmp de înaltă frecvență (MW), a avut ca rezultat o cantitate mai mică de polifenoli totali comparativ cu martorul.

În cazul probelor (mustuală și vin) provenite de la strugurii *Merlot*, în urma realizării raportului relativ, conținutul în compuși polifenolici, în funcție de tratamentul folosit prezintă o dinamică variată (**Figura II.11.**):

- în cazul mustuiei, atât tratamentul în câmp electric pulsatoriu (PEF)\_I cât și cel în câmp de înaltă frecvență (MW) a avut ca rezultat o extragere a compușilor polifenolici aproximativ egală (38,98 respectiv 37,61), în timp ce în cazul vinului, cea mai mare cantitate de compuși polifenolici totali raportată la martor s-a obținut doar în cazul probelor tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF)\_I.

Având în vedere acest comportament diferit, se poate concluziona că matricea vegetală și conținutul în compuși bioactivi (de exemplu, prezența sau absența antocianilor) influențează capacitatea de extragere a acestora, dar pot surveni în urma tratamentelor diferite modificări ale compuși bioactivi (de exemplu, izomerizări sau descompuneri).



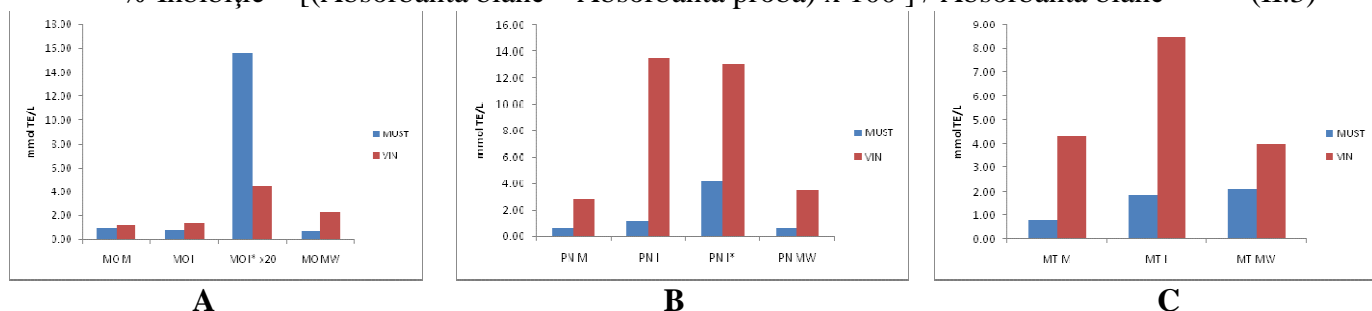
**Figura II.11** Raportul relativ ((cantitate polifenoli totali tratați - cantitate polifenoli netratați/ cantitate polifenoli netratați)\*100); A – mustuală; B - vin

### Determinarea capacității antioxidante

Determinarea capacității antioxidante a probelor, a fost realizată folosind următoarele metode:

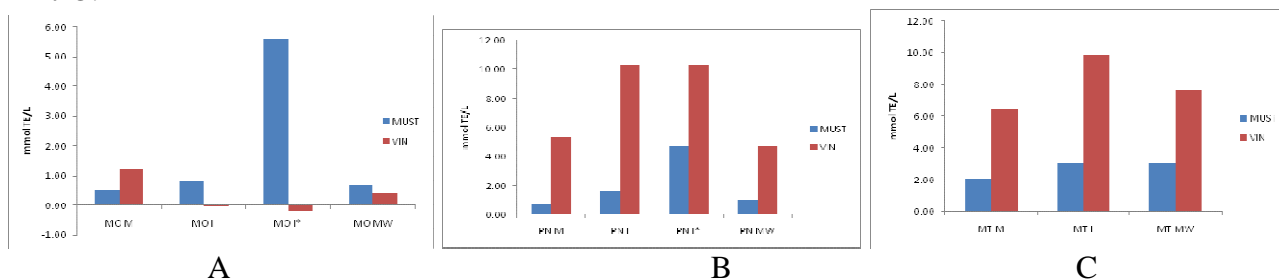
✓ **Metoda DPPH** (*2,2 Diphenylpicrylhydrazil Radical Scavenging Capacity*) este o metodă spectrofotometrică, larg utilizată pentru a testa abilitatea compușilor de a îndepărta radicalii liberi sau capacitatea lor de a dona hidrogen. Este utilizată pentru cuantificarea antioxidanților în sisteme biologice complexe. Protocolul de lucru folosit a fost conform metodei descrise de Brand-Williams și colab., (1995). Procentul de inhibiție a DPPH-ului a fost calculat conform relației (2.4), iar rezultatele au fost exprimate ca mmol TE/L. Rezultatele obținute sunt prezentate în **Figura II.12.**

$$\% \text{ Inhibiție} = [(\text{Absorbanta blanc} - \text{Absorbanta proba}) \times 100] / \text{Absorbanta blanc} \quad (\text{II.3})$$



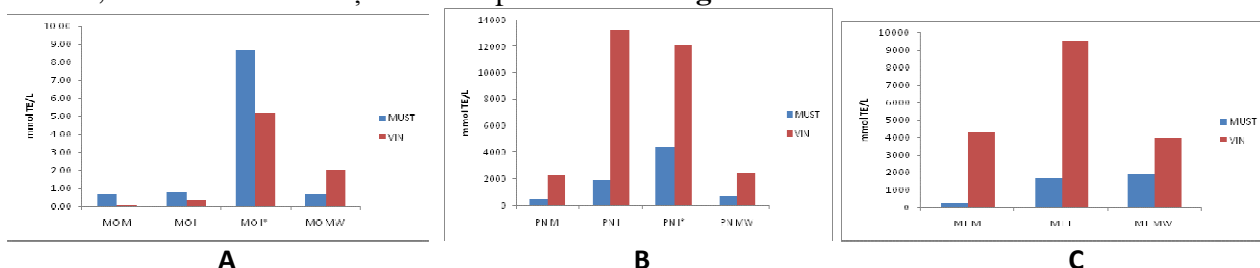
**Figura II.12.** Capacitatea antioxidantă determinată prin metoda DPPH a probelor de mustuală și vin provenite de la strugurii: A - Muscat Ottonel, B - Pinot Noir, C – Merlot, netratate/tratate în câmp de înaltă frecvență (MW) și în câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*)

✓ **Metoda FRAP** (*Ferric Reducin Antioxidant Power*), metoda simplă spectrofotometrică care testează puterea antioxidantă a probelor luate în studiu, și se bazează pe reducerea complexului tripiridiltriazina ferică (Fe(III)-TPTZ) la complexul tripiridiltriazina feroasă ((Fe(III)-TPTZ) de către un reductant la pH acid. Soluția FRAP de lucru se prepară proaspătă prin amestecarea a 50 ml tampon acetat 300 mM cu 5 ml soluție  $Fe_2(SO_4)_3 \cdot H_2O$  și 5 ml TPTZ. Probele (100  $\mu$ l) au constat din mustuală și vin (au fost lăsate să reacționeze cu 500  $\mu$ l soluție FRAP și 2 ml apă distilată pentru o oră, la întuneric, după care citirile la spectrofotometru s-au realizat la 595 nm. Ca și standard s-a folosit Trolox, curba standard s-a realizat între concentrații cuprinse între 0,5-0,03 și 400 mM, având un coeficient de corelație  $R^2 = 0,988$ . Rezultatele au fost exprimate în mmol echivalenți TE/L probă. Rezultatele obținute sunt prezentate în **Figura II.13**.



**Figura II.13.** Capacitatea antioxidantă determinată prin metoda FRAP a probelor de mustuală și vin provenite de la strugurii: A - Muscat Ottonel, B - Pinot Noir, C – Merlot, netratate/tratate în câmp de înaltă frecvență (MW) și în câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*)

✓ **Metoda TEAC** (Trolox Equivalents Antioxidant Capacity) se bazează pe abilitatea antioxidantilor de a diminua viața radicalului cation ( $ABTS^+$ ), un cromofor albastru verde care absoarbe la 734 nm, comparativ cu Trolox.  $ABTS^+$  se produce prin reacția dintre soluția stoc de ABTS (7mM) cu persulfatul de potasiu (2,45 mM) timp de 12-16 ore. Pentru studiul activității antioxidante, soluția  $ABTS^+$  se diluează cu apă distilată până când se obține o absorbantă de  $0,70 \pm 0,02$  la 734 nm. După adăugarea a 25  $\mu$ l probă la 2500  $\mu$ l soluție  $ABTS^+$ , amestecul se vortexează timp de 30 de secunde, iar absorbanta se citește la exact 1 minut la 734 nm. Rezultatele au fost exprimate ca % de decolorare a soluției radical-cation  $ABTS$  folosind ca și standard Trolox-ul. Curba de calibrare față de Trolox a prezentat un coeficient de corelație de  $R^2=0,998$ . Rezultatele obținute sunt prezentate în **Figura II.14**.



**Figura II.14.** Capacitatea antioxidantă determinată prin metoda TEAC a probelor de mustuală și vin provenite de la strugurii: A - Muscat Ottonel, B - Pinot Noir, C – Merlot, netratate/tratate în câmp de înaltă frecvență (MW) și în câmp electric pulsatoriu (PEF) (I, I\*)

#### II.4.2. Analiza de culoare. Analiza spectrală de culoare

Culoarea vinului se determină în mod standard prin ridicarea spectrelor VIS de reflectanță sau transmitanță cu cuve de 1mm, 2mm sau 10mm grosime – în această fază a proiectului s-a utilizat cuva QS de 10mm pentru toate probele de vin Muscat Ottonel, Pinot Noir și Merlot. Spectrele VIS (380-720 nm) pentru aceste probe de vin sunt prezentate în **Figurile II.15., II.16 și respectiv II.17**.

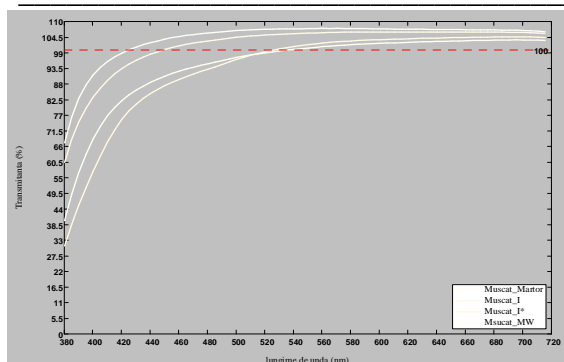


Figura II.15. Spectrele în transitanță ale probelor de vin Muscat Ottonel

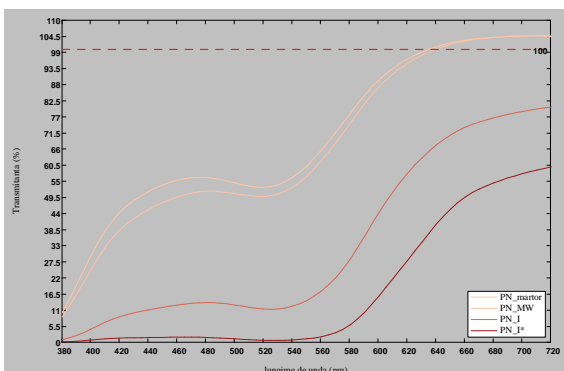


Figura II.16. Spectrele în transitanță ale probelor de vin Pinot Noir

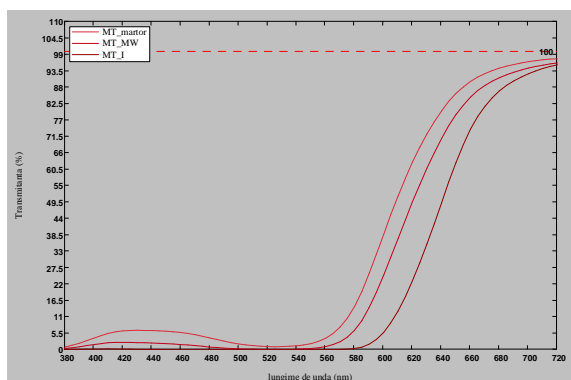


Figura II.17. Spectrele în transitanță ale probelor de vin Merlot

Din spectrele VIS ale probelor de vin au fost determinate coordonatele în spațiile tricromatice: RGB, CIE L\*a\*b\* și CIE L\*C\*h\* și prezentate în **Tabelele II.5.a, b, c**, pentru probele de vin Muscat Ottonel, **Tabelele II.6.a, b, c**, pentru probele de vin Pinot Noir și **Tabelele II.7.a, b, c**, pentru probele de vin Merlot. Cu aceste rezultate s-au calculat diferențele de culoare:  $\Delta E$  (CIE L\*a\*b\*) și  $\Delta E$  (CIE L\*C\*h\*), prezentate în **Tabelele II.5.b, c**, (pentru Muscat Ottonel), **Tabelele II.6.b, c**, (pentru Pinot Noir) și **Tabelele II.7.b, c**, (pentru Merlot) - *colorarea celulelor din aceste tabele s-a realizat simultan pentru probele de vin – gradientul de culoare este de la verde (valori minime) la roșu (valori maxime) cu trecere prin galben (pentru mediana).*

**Tabelul II.5.a**

Rezultatele conversiei datelor spectrale în spațiile de culoare RGB, CIE L\*a\*b\* și CIE L\*C\*h\* pentru probele de vin Muscat Ottonel

Proba	R	G	B	Culoare	L*	a*	b*	C*	h*
<b>1.Muscat O_Martor</b>	255	255	247		102.71	7.77	8.26	11.34	46.75
<b>2. Muscat O_I</b>	255	255	243		102.09	7.66	9.66	12.33	51.60
<b>3. Muscat O_I*</b>	255	250	226		100.32	7.21	15.63	17.21	65.24
<b>4. Muscat_O_MW</b>	255	249	231		100.08	7.74	12.58	14.77	58.42

Tabelul II.5.b

Diferențele de culoare dintre probele de vin Muscat Ottonel pe baza componentelor tricromatice CIE L\*a\*b\*

Proba	$\Delta E$ (CIE L*a*b*)	Muscat_Martor	Muscat_I	Muscat_I*	Muscat_MW
1	Muscat_Martor	0.000	1.540	7.770	5.066
2	Muscat_I	1.540	0.000	6.241	3.550
3	Muscat_I*	7.770	6.241	0.000	3.103
4	Muscat_MW	5.066	3.550	3.103	0.000

Tabelul II.5.c

Diferențele de culoare dintre probele de vin Muscat Ottonel pe baza componentelor tricromatice CIE L\*C\*h\*

Proba	$\Delta E$ (CIE L*C*h*)	Muscat_Martor	Muscat_I	Muscat_I*	Muscat_MW
1	Muscat_Martor	38.662	37.278	31.487	34.461
2	Muscat_I	43.586	42.196	36.375	39.337
3	Muscat_I*	57.814	56.424	50.613	53.507
4	Muscat_MW	50.715	49.311	43.451	46.371

Rezultatele prezentate în **Tabelele II.5.a, b, c** validează concluzia enunțată anterior prin faptul că probele Muscat Ottonel tratat în câmp electric pulsatoriu (PEF)<sub>I\*</sub>/în câmp de înaltă frecvență (MW) sunt cele care prezintă diferențele de culoare cele mai ridicate,  $\Delta E$  (CIE L\*a\*b\*) și  $\Delta E$  (CIE L\*C\*h\*), față de proba Martor.

În contrast cu proba PinotNoir\_MW, probele de vin tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) (PinotNoir\_I\* și PinotNoir\_I) prezintă valori mult mai mari ale parametrilor cromatici a\*, b\*, C\* și h\*, ceea ce duce, în combinație cu luminanța mai mică, la o culoare mult mai închisă a probelor de vin. Acest fapt indică o creștere a conținutului de antociani (pigmenți polimerici) care sunt eliminați din celule datorită tratamentului în câmp electric pulsatoriu (PEF). Acest efect este dominant celui de încălzire din proba tratată în câmp de înaltă frecvență PinotNoir\_MW.

Tabelul II.6.a

Rezultatele conversiei datelor spectrale în spațiile de culoare RGB, CIE L\*a\*b\* și CIE L\*C\*h\* pentru probele de vin Pinot Noir

Proba	R	G	B	Culoare	L*	a*	b*	C*	h*
1. PinotNoir_Martor	255	198	179		86.53	25.51	20.43	32.68	38.69
2. PinotNoir_MW	255	193	169		84.93	26.23	23.53	35.24	41.89
3. PinotNoir_I*	216	103	85		57.05	42.72	31.02	52.80	35.98
4. PinotNoir_I	154	23	27		32.95	51.45	33.55	61.43	33.11

Tabelul II.6.b.

Diferențele de culoare dintre probele de vin Pinot Noir pe baza componentelor tricromatice CIE L\*a\*b\*

Proba	$\Delta E$ (CIE L*a*b*)	PinotNoir_Martor	PinotNoir_MW	PinotNoir_I*	PinotNoir_I
1	PinotNoir_Martor	0.000	3.567	35.749	60.963
2	PinotNoir_MW	3.567	0.000	33.248	58.636
3	PinotNoir_I*	35.749	33.248	0.000	25.753
4	PinotNoir_I	60.963	58.636	25.753	0.000

Tabelul II.6.c.

Diferențele de culoare dintre probele de vin Pinot Noir pe baza componentelor tricromatice CIE L\*C\*h\*

Proba	$\Delta E$ (CIE L*C*h*)	PinotNoir_Martor	PinotNoir_MW	PinotNoir_I*	PinotNoir_I
1	PinotNoir_Martor	0.000	4.401	35.798	61.062
2	PinotNoir_MW	4.401	0.000	33.475	58.860
3	PinotNoir_I*	35.798	33.475	0.000	25.755
4	PinotNoir_I	61.062	58.860	25.755	0.000



Rezultatele din **Tabelele II.6.a,b,c**, validează concluzia enunțată anterior prin faptul că probele PinotNoir\_I\* și PinotNoir\_I sunt cele care prezintă diferențele de culoare cele mai ridicate,  $\Delta E$  (CIE L\*a\*b\*) și  $\Delta E$  (CIE L\*C\*h\*), față de proba PinotNoir\_Martor și chiar față de proba PinotNoir\_MW.

Din **Tabelul II.7.a**, se observă că proba Martor a vinului Merlot este cea care prezintă cea mai mare luminanță (L\*) și componente galbene (a\*), dar cele mai mici valori ale componente albastre (b\*) și ale nuanței (h\*). Urmează în ordine descrescătoare pentru L\* și a\*, dar crescătoare pentru componentele b\* și h\*, pentru probele MW și I. Aceste rezultate duc la concluzia că procesarea în câmp de înaltă frecvență (MW) produce cele mici creșteri ale componentelor cromatice față de proba Martor. Ca urmare proba de vin cu acest tratament prezintă o nuanță (RGB) mai deschisă de roșu, dar diferită de cea Martor.

În contrast cu proba Merlot\_MW, proba de vin Merlot tratată în câmp electric pulsatoriu (Merlot\_I) prezintă valori mai mari ale parametrilor cromatici b\* și h\*, ceea ce duce, în combinație cu luminanța (L\*) mai mică, la o culoare mult mai închisă a probelor de vin. Acest fapt indică o creștere a conținutului de antociani (pigmenți polimerici) care sunt eliminați din celule datorită tratamentului în câmp electric pulsatoriu (I). Acest efect este dominant celui tratat în câmp de înaltă frecvență din proba Merlot\_MW.

**Tabelul II.7.a**

Rezultatele conversiei datelor spectrale în spațiile de culoare RGB, CIE L\*a\*b\* și CIE L\*C\*h\* pentru probele de vin Merlot

Proba	R	G	B	Culoare	L*	a*	b*	C*	h*
1. Merlot_Martor	217	32	58		47.17	68.04	34.53	76.30	26.91
2. Merlot_MW	194	0	25		39.50	67.94	44.12	81.01	33.00
3. Merlot_I	144	0	0		26.48	60.60	44.33	75.08	36.18

**Tabelul II.7.b**

Diferențele de culoare dintre probele de vin Merlot pe baza componetelor tricromatice CIE L\*a\*b\*

Proba	$\Delta E$ (CIE L*a*b*)	Merlot_Martor	Merlot_MW	Merlot_I
1 Merlot_Martor		0.000	12.283	24.073
2 Merlot_MW		12.283	0.000	14.951
3 Merlot_I		24.073	14.951	0.000

**Tabelul II.7.c.**

Diferențele de culoare dintre probele de vin Merlot pe baza componetelor tricromatice CIE L\*C\*h\*

Proba	$\Delta E$ (CIE L*C*h*)	Merlot_Martor	Merlot_MW	Merlot_I
1 Merlot_Martor		0.000	10.868	22.708
2 Merlot_MW		10.868	0.000	14.660
3 Merlot_I		22.708	14.660	0.000

Rezultatele din **Tabelele II.7.a, b, c**, validează concluzia enunțată anterior prin faptul că proba Merlot\_I este cea care prezintă diferențele de culoare cele mai ridicate,  $\Delta E$  (CIE L\*a\*b\*) și  $\Delta E$  (CIE L\*C\*h\*), față de proba Merlot\_Martor și chiar față de proba Merlot\_MW.

**Analiza imagistică de culoare.** Metoda imagistică presupune scanarea unui microplate (o matrice de microcuve de 10mm adâncime) cu 340 de  $\mu$ L din fiecare probă de vin Muscat Ottonel, Pinot Noir și Merlot. Pentru scanare s-a utilizat scannerul Canon modelul CanoScan 9000F la o rezoluție de 600dpi, 48bit adâncimea de culoare, în varianta PositiveFilm (cu iluminare LED).

În cazul probelor tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) (I și I\*) conținutul de pigmenți antocianici este mult mai mare decât în probele Martor și tratate în câmp de înaltă frecvență (MW), deoarece utilizarea impulsurilor electrice duce la iliberarea pronunțată, la nivel celular, a compușilor bioactivi (antociani), atât în cazul probelor de vin din soiul Pinot Noir cât și Merlot.

Dintre cele două tratamente folosite la tratarea strugurilor (Muscat Ottonel, Pinot Noir și Merlot) cu scopul de a realiza o extracție cât mai eficientă a compușilor bioactivi de tipul polifenolilor și flavonoidelor totale cea eficientă a fost tratamentul în câmp electric pulsatoriu cu sau fără centrifugare.

Tratamentul în câmp de înaltă frecvență, s-a dovedit eficient la nivelul etapei de obținere a mustuielii, urmând ca în urma procesului de fermentare, în produsul final să se regăsească o cantitate mai mică în acești biocompuși comparativ cu probele fără tratament.

Rezultatele analizei de culoare prin metodele: spectrală VIS și imagistică sunt în concordanță, atât între ele, cât și cu cele din analiza conținutului de pigmenți antocianici din amprenta spectrală VIS – acest fapt a fost de așteptat datorită pigmenților antocianici care au efect direct în culoarea vinurilor.

Coroborarea rezultatelor analizelor biochimice și de culoare, pentru vinurile Pinot Noir și Merlot, prescrie efectul mai puternic de eliberare a compușilor bioactivi la nivel celular (prin distrugerea membranei celulare) prin tratamentul în câmp electric pulsatoriu (PEF) (I și I\*), față de tratamentul în câmp de înaltă frecvență (MW). Pentru vinul Muscat, efectul mai puternic de eliberare a compușilor bioactivi la nivel celular (prin distrugerea membranei celulare) este dat de tratamentul în câmp de înaltă frecvență (MW), la diferențe mici față de tratamentul în câmp electric pulsatoriu (I).

Tratamentul în câmp de înaltă frecvență (MW) produce o mică creșterea a cromaticității albastre ( $b^*$ ) adică se ajunge la o nuanță (RGB) mai închisă de ocru-galben decât în cazul probelor tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF)\_I. Acest fapt indică o creștere a conținutului de zaharuri caramelizate de temperatura ridicată generată de tratamentul în câmp de înaltă frecvență MW și în câmp electric pulsatoriu și centrifugare (PEF)\_I\*. În acest ultim tratament, temperatura mai ridicată se datorează umidității mai mici și deci a căldurii specifice mai mici a probei.

Probele PinotNoir\_I\* și PinotNoir\_I sunt cele care prezintă diferențele de culoare cele mai ridicate,  $\Delta E$  (CIE  $L^*a^*b^*$ ) și  $\Delta E$  (CIE  $L^*C^*h^*$ ), față de proba PinotNoir\_Martor și chiar față de proba PinotNoir\_MW.

Probele de vin tratat în câmp electric pulsatoriu PinotNoir\_I\* și în câmp de înaltă frecvență PinotNoir\_MW, și anume coordonatele cromatice B,  $b^*$  și  $h^*$  au variațiile cele mai pronunțate. Aceste variații au ca efect diferențele mai mari de culoare și implicit de biocomponenți față de proba PinotNoir\_Martor.

În contrast cu proba Merlot\_MW, proba de vin Merlot tratată în câmp electric pulsatoriu Merlot (PEF)\_I, prezintă valori mai mari ale parametrilor cromatici  $b^*$  și  $h^*$ , ceea ce duce, în combinație cu luminanța ( $L^*$ ) mai mică, la o culoare mult mai închisă a probelor de vin. Acest fapt indică o creștere a conținutului de antociani (pigmenți polimerici) care sunt eliminați din celule datorită tratamentului în câmp electric pulsatoriu (PEF)\_I. Acest efect este dominant celui tratat în câmp de înaltă frecvență din proba Merlot\_MW.

Având în vedere că din punct al vedere al compoziției biochimice, strugurii reprezintă o adevărată complexitate, urmează pe viitor să se urmărească dacă aceste tratamente, în câmp de înaltă frecvență și în câmp electric pulsatoriu, nu afectează structura chimică a flavonoidelor sau a antocianilor singulari (dacă nu se obțin anumiți izomeri ai compușilor bioactivi care pot avea un alt fel de potențial biologic).

#### **II.4.3. Analiza senzorială**

Analiza senzorială a probelor s-a făcut prin două metode:

a) *Metoda cu punctaj*, sistemul Uniunii Internaționale a Oenologilor cu următoarele încadrări:

- Sub 50 de puncte, defect
- Intre 51-60- cu deficiente
- Intre 61-70- acceptabil
- Intre 71-80 – bun

- Intre 81-90 – foarte bun
- Intre 91-100- excelent
- b) *Metoda descriptivă* unde a fost descrisă fiecare caracteristică.  
Ambele metode au avut în vedere evaluarea vizuală, olfactivă, gustativă și armonia caracteristicilor în ansamblu.

**1. Soiul de struguri Muscat Ottonel**

- *P0-proba martor, punctaj UIO (84 puncte)*
  - Vizual: limpiditate excelentă, culoare alb-verzui cu tente gălbui
  - Olfactiv: miros sulfitic cu tipicitate de Muscat nu foarte intens, de calitate bună
  - Gust: tipic, ușor aromat mediu persistent, sec, calitate foarte bună
  - Concentrație alcoolică: 10,4% vol.
- *P1- procesare în câmp electric pulsatoriu\_I (PEF), punctaj UIO (86 puncte)*
  - Vizual: ușor opalescent cu o tentă mai închisă
  - Olfactiv: miros de Muscat cu nuanță frolară mai prezentă și mai tipică, calitate bună
  - Gust: tipic, mai intens ca proba martor, mai persistent, mai extractiv, aciditate mai bine integrată.
  - Concentrație alcoolică: 10,5% vol.
- *P2- procesare în câmp electric pulsatoriu (PEF) și centrifugare\_I\*, punctaj UIO (78 puncte)*
  - Vizual: limpede, ușor opalescent, culoare galben-verzui cu o tentă mai închisă
  - Olfactiv: miros tipic, parfumat și intens
  - Gust: prima impresie este de aromă după care apare nuanța de tanin ușor amăru care acoperă și aciditatea, vinul fiind în final astringent amar
  - Concentrație alcoolică: 10,5% vol.
- *P3- procesare în câmp de înaltă frecvență (MW), punctaj UIO (76 puncte)*
  - Vizual: limpede, ușor opalescent, culoare gălbui-auriu deschis
  - Olfactiv: miros sulfitic, cu tipicitate de soi intensă elegantă și florală
  - Gust: tipic aromat, intensitate medie persistentă, amăru în final, ușor plat cu un corp superior datorat taninului și aciditate scăzută.
  - Concentrație alcoolică: 10,4% vol.

**2. Soiul de struguri Pinot Noir**

- *P0- proba martor, UIO (83 puncte)*
  - Vizual: limpiditate foarte bună, culoare roșu deschis transparent cu nuanțe ușor liliachi
  - Olfactiv: miros de cireșe coapte, tipic destul de intens și curat
  - Gust: tipic de Pinot Noir, intensitate medie, persistent, subțire ca și corp, armonios aciditate medie
  - Concentrație alcoolică: 11% vol.
- *P1- procesare în câmp electric pulsatoriu\_I (PEF), UIO (85 puncte)*
  - Vizual: limpede, culoare roșu vișiniu
  - Olfactiv: miros de fructe roșii, tipic de cireșe, intens curat, de calitate
  - Gust: tipic dar un pic prea astringent, persistența medie, aciditate evidentă, aromă medie amăru în final
  - Concentrație alcoolică: 11,2% vol.
- *P2 - procesare în câmp electric pulsatoriu (PEF) și centrifugare\_I\*, UIO (79 puncte)*
  - Vizual: opalescent, culoare roșu viu cu nuanțe liliachi
  - Olfactiv: miros tipic de cireșe coapte, intens și curat
  - Gust: tipic, cireșe/vișine, acid, astringent amăru remanent, consistență medie, un pic dezarmonic din cauza taninului
  - Concentrație alcoolică: 11,2% vol.

- *P3- procesare în câmp de înaltă frecvență (MW) UIO (76 puncte)*
  - Vizual: limpede, aspect oxidat, roșu deschis cu nuanțe maronii
  - Olfactiv: miros oxidat, nuanțe ușoare de fructe roșii
  - Gust: de pâine prăjită cu cireșe stafidite, destul de intens, acid, calitate medie în final ușor amarui
  - Concentrație alcoolică: 11% vol.

### 3. *Soiul de struguri Merlot*

- *P0 – proba martor UIO (80 puncte)*
  - Vizual: limpede, culoare roșu liliachiu deschis
  - Olfactiv: miros tipic, intens de fructe roșii cu tentă de zmeură
  - Gust: de fructe roșii cu corp mediu, sec, acid, astringență ușoară ce trece în fructuozitate finală
  - Concentrație alcoolică: 11,4% vol.
- *P1- procesare în câmp electric pulsatoriu\_I (PEF) UIO (88 puncte)*
  - Vizual: limpede, ușor opalescent, culoare mult mai intensă decât probele anterioare
  - Olfactiv: miros tipic de fructe roșii, intens cu nuanțe evidente de zmeură
  - Gust: de fructe roșii proaspete intens, tanin mai evident, gust tactil mai corpolent, persistent armonios, savuros.
  - Concentrație alcoolică: 11,2% vol.
- *P2 procesare în câmp de înaltă frecvență (MW) UIO (83 puncte)*
  - Vizual: limpede ușor opalescent, culoare roșu liliachiu intens
  - Olfactiv: tipic, elegant, intens cu nuanțe de zmeură
  - Gust: tipic, echilibrat, intens cu aciditate bine integrată, taninul prezent dar nu deranjează se închide armonios cu o fructuozitate în final.
  - Concentrație alcoolică: 11,4% vol.

La proba de struguri albi **Muscat Ottonel**, față de proba martor, proba procesată în câmp electric pulsatoriu\_I (PEF) are un miros floral mai evident mai tipic, gustativ mai persistent mai extractiv aciditatea mai bine integrată, datorate unei mai bune extracții motivată de acest utilizarea tratamentului aplicat. Varianta centrifugată și câmp electric pulsatoriu (PEF) \_I\* aduce multă astringență din semințe care nu este benefică în acest caz. Procesarea în câmp de înaltă frecvență (MW) afectează culoarea favorizând oxidarea prin încălzirea probei.

În concluzie utilizarea procesării în câmp electric pulsatoriu\_I (PEF) este cea mai bună opțiune.

La proba de struguri **Pinot Noir**, comparativ cu proba martor, proba procesată în câmp electric pulsatoriu (PEF)\_I are un miros mai consistent mai tipic, gustativ mai consistent cu un corp suplimentar. Varianta centrifugată și câmp electric pulsatoriu (PEF) \_I\* aduce mai mult tanin din semințe motivând gustul astringent și amarui. Procesarea în câmp de înaltă frecvență (MW) aduce o ușoară oxidare, în final gust ușor amarui. În concluzie utilizarea procesării în câmp electric pulsatoriu (PEF)\_I este cea mai bună opțiune.

La proba de struguri **Merlot**, față de proba martor, proba tratată în câmp de înaltă frecvență (MW), este mai extractivă, mai colorată, aroma mai expresivă, cu mult echilibru în gust. Proba procesată în câmp electric pulsatoriu (PEF)\_I are culoarea mai intensă miros tipic și intens, corpolent persistent armonios. În concluzie varianta cu impuls asigură o mai bună extracție.

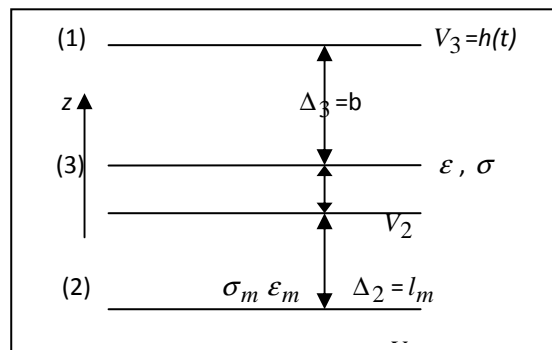
Tratarea mustuielii, este favorabilă atât în cazul procesării în câmp electric pulsatoriu (PEF)\_I cât și în cazul procesării în câmp de înaltă frecvență în cazul soiului de struguri **Merlot**, mai puțin favorabilă procesarea în câmp de înaltă frecvență în cazul mustuielii albe (**Muscat Ottonel**). Varianta în câmp electric pulsatoriu și cu centrifugare (PEF)\_I\* aduce suplimentar tanin din semințe care nu este foarte favorabil. În concluzie macerarea pe boștină este foarte favorabilă în cazul procesării în câmp electric pulsatoriu (PEF)\_I (fără centrifugare).

**Activitatea II.5: Algoritmi eficienți de soluționare a problemei de câmp electromagnetic în mustuială/boștină cuplate cu problema de difuzie termică (parțial)**

În raportul științific din anul 2014, Activitatea I.3, a fost propus modelul de câmp electromagnetic cvasistationar anamagnetic din boască. În acest model se poate defini potențialul electric scalar  $V$ , care verifică ecuația:

$$\nabla \sigma \nabla V + \frac{\partial(\nabla \epsilon \nabla V)}{\partial t} = 0 \quad (\text{II.3})$$

Cea mai importantă dificultate ce apare la soluționarea problemei de câmp electromagnetic este datorată grosimii foarte mici a membranei celulei, în comparație cu celelalte dimensiuni ale celulei. Din acest motiv, s-a urmărit stabilirea unor rezultate cu importanță calitativă, motiv pentru care a fost ales domeniul de calcul într-o mică zonă din vecinătatea membranei celulei (**Figura II.18**). În cele 3 zone avem: (1) lichidul din exteriorul celulei, (2) membrana, (3) lichidul din interiorul celulei.



**Figura II.18.** Zona de calcul din vecinătatea celulei

În cele 3 zone, ecuația (II.3) se simplifică mult:

$$\frac{\sigma_k}{\epsilon_k} \frac{\partial^2 V^{(k)}}{dz_k^2} + \frac{\partial}{\partial t} \frac{\partial^2 V^{(k)}}{dz_k^2} = 0, k=1,2,3 \quad (\text{II.4})$$

unde  $V^{(k)}$  este potențialul electric din zona  $k$ , iar  $z_k$  este coordonata  $z$  cu originea la începutul zonei  $k$ . În acest caz, se poate obține o soluție analitică a problemei de câmp și valoarea intensității câmpului electric din membrana celulei, răspunzător de apariția descărcării electrice.

**Element finit 2D.** În cadrul Activității II.5 a acestei etape, a fost propusă soluționarea numerică FEM a problemei de câmp, în cele 2 situații limită: la  $t = 0$  și la  $t \rightarrow \infty$ , în ipoteza aplicării tensiunii treaptă pe frontieră. Integrând relația (II.4) pe un interval de timp arbitrar de mic și ținând cont de faptul că valoarea inițială a potențialului este nulă, rezultă că pentru  $t = 0$ , avem regimul electrostatic, descris de ecuația:

$$\nabla \epsilon \nabla V = 0 \quad (\text{II.5})$$

Valoarea asimptotică a potențialului este constantă în timp și în ecuația (II.3) rămâne doar primul termen:

$$\nabla \sigma \nabla V = 0 \quad (\text{II.6})$$

Deci  $t \rightarrow \infty$  avem regimul electrocinetic.

A fost ales domeniul 2D al unei celule sferice (**Figura II.19**), unde  $V_b$  este tensiunea pe o celulă.

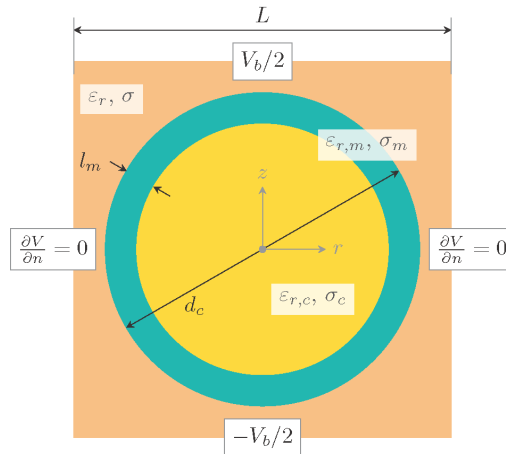


Figura II.19. Domeniul sferic

Am ales dimensiunile  $d_c = 70 \text{ }\mu\text{m}$  pentru diametrul unei celule,  $L = 84 \text{ }\mu\text{m}$  pentru dimensiunea domeniului de calcul și  $l_m = 5 \text{ nm}$ , grosimea membranei. Proprietățile fizice ale celor 3 medii de calcul sunt date în **Tabelul II.8**

Tabelul II.8.

Proprietăți fizice

	Extra celular	MEMBRANĂ	Intra celular
Permitivitate relativă	$\epsilon_r = 78$	$E_{r,m} = f \times 2 = 40$	$E_{r,c} = 78$
Conductivitate electrică	$\sigma = 1.2 \text{ mS/cm}$	$\sigma_m = f \times 3 \cdot 10^{-6} = 6 \times 10^{-5} \text{ mS/cm}$	$\sigma_c = 1.2 \text{ mS/cm}$

Deoarece grosimea membranei este foarte mică, generarea rețele FEM este deosebit de dificilă. Am ales o grosime mai mare de  $f$  ori decât grosimea reală ( $f = 20$ ), dar au fost modificate și proprietățile fizice ale membranei (vezi coloana 2 din Tabelul II.8.) Problema are simetrie axisimetrică și, în coordonate plare a fost soluționată problema de câmp electric și, respectiv electrocinetic, doar în jumătate din domeniu. Echipotențialele sunt desenate în **Figura II.20**.

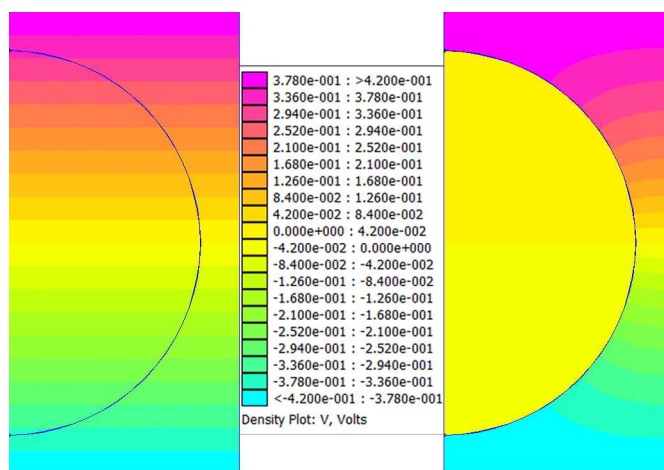


Figura II.20. Echipotențiale în problema de electrostatică  $t = 0$  și electrocinetică  $t \rightarrow \infty$

**Etapa III /2016. Algoritmi și programe de soluționare a problemelor de electroplasmoliză. Elaborare documentație de execuție a modelului funcțional pentru tratarea mustuielii/boștină prin electroplasmoliză. Realizare și experimentare model funcțional pentru tratarea mustuielii/boștinei prin electroplasmoliză. Pachet de programe WINETECH**

**III.1. Analiza mustuielii/boștinei comparativ tratată-netratată pentru diferite soiuri de struguri. Stabilirea contribuției factorilor care concură la apariția fenomenului electroplasmotic pentru soiurile de struguri reprezentative**

Obiectivul nostru a fost de a evalua conținutul în compuși bioactivi cu capacitate antioxidantă, evoluția culorii și a proprietăților organoleptice a musturilor și vinurilor obținute de la 2 varietăți de struguri (**Pinot-Noir, Merlot**) recoltați din podgoria Crișana-Sântimreu, din producția anului 2016, în timpul etapei de coacere optimă având indicele Brix 23 și aciditatea totală: 5,8 g/l. După desciorchinare și concasarea strugurilor, probele au fost tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) și apoi comparate cu probele netratate.

Am procesat o cantitate de 55 kg din fiecare soi de struguri, această cantitate a fost împărțită astfel:

**Soiul de struguri Pinot-Noir:**

- 5 kg proba martor **PN\_M**;
- 10 kg, proba 1\_Tratament PEF, distanța între vârfulurile tamburilor **7 mm**, U = 7 kV, frecvență f= 178 Hz, **PN\_PEF\_11**;
- 10 kg, proba 2\_Tratament PEF, distanța între vârfulurile tamburilor **7 mm**, U = 8 kV, frecvență f= 344 Hz, **PN\_PEF\_12**;
- 10 kg, proba 3\_Tratament PEF, distanța între vârfulurile tamburilor și goluri **2,5 mm**, U = 7 kV, frecvență f= 178 Hz, **PN\_PEF\_13**;
- 10 kg, proba 4\_Tratament PEF, distanța între vârfulurile tamburilor și goluri **2,5 mm**, U = 8 kV, frecvență f= 344 Hz, **PN\_PEF\_14**;
- 10 kg, proba 5\_Mustuiala centrifugată\_Tratament PEF, distanța între vârfulurile tamburilor și goluri **2,5 mm**, U = 8 kV, frecvență f= 344 Hz, **PN\_PEF\_15**;

**Soiul de struguri Merlot:**

- 5 kg proba martor **MT\_M**
- 10 kg, proba 1\_Tratament PEF, distanța între vârfulurile tamburilor **7 mm**, U = 7 kV, frecvență f= 178 Hz, **MT\_PEF\_21**;
- 10 kg, proba 2\_Tratament PEF, distanța între vârfulurile tamburilor **7 mm**, U = 8 kV, frecvență f= 344 Hz, **MT\_PEF\_22**;
- 10 kg, proba 3\_Tratament PEF, distanța între vârfulurile tamburilor și goluri **2,5 mm**, U = 7 kV, frecvență f= 178 Hz, **MT\_PEF\_23**;
- 10 kg, proba 4\_Tratament PEF, distanța între vârfulurile tamburilor și goluri **2,5 mm**, U = 8 kV, frecvență f= 344 Hz, **MT\_PEF\_24**;
- 10 kg, proba 5\_Mustuiala centrifugată\_Tratament PEF, distanța între vârfulurile tamburilor și goluri **2,5 mm**, U = 8 kV, frecvență f= 344 Hz, **MT\_PEF\_25**;

După tratamentul PEF probele de struguri au fost depuse pentru fermentare în vase de sticlă. Fermentațiile au fost efectuate de drojzii selectate de Lallemand. Durata procesului de fermentare a fost 11 zile pentru probele tratate și 14 zile pentru probele netratate. Durata de fermentare a fost decisă în funcție de concentrația de polifenoli extrasă în timpul procesului de vinificare, fiind monitorizată zilnic. Temperatura de fermentație a fost menținută la 18...20 °C.

**III.1.1. Analize biochimice**

Compușii fenolici au un rol foarte important în calitatea vinurilor roșii, datorită contribuției lor senzoriale în principal, de culoare, astringență și amărăciune [10], [11]. Structura

chimică a polifenolilor le permite acestora să acționeze ca antioxidanți, neutralizanți ca și radicali liberi. Ca o consecință, polifenolii din vin au fost studiați extensiv în ceea ce privește rolul pozitiv al acestora în sănătatea omului, din cauza substanțelor antioxidante și anti-inflamatorii [12].

*Polifenolii* din struguri sunt metaboliți secundari, care din punct de vedere chimic prezintă o mare diversitate, fiind reprezentați fie de molecule simple (cu un singur inel aromatic), fie complexe de tipul oligomerilor și polimerilor. Compușii fenolici sunt clasificați în 2 grupuri: un grup reprezentat de flavonoide, care conțin un schelet pe bază de C6-C3-C6 și un grup, numit non flavonoide [13].

Flavonoidele sunt polifenolii mai abundenți, care conțin două sau mai multe inele aromatice conectate la cel puțin o grupă hidroxil aromatică și o punte de carbon. Recent, acești compuși au făcut obiectul multor studii deoarece acestea sunt identificate cu beneficii pentru sănătate, variind de la prevenirea cariilor la cancer. O mare parte au spus despre funcționalitatea acestor compuși care au proprietăți anti-cancerigene, anti-aterogenă, anti-trombotice, anti-microbiene și efecte analgezice vas dilatator [14], [15]. Unele studii cu privire la funcționalitatea acestor compuși se referă la prezența lor în vinurile care dețin cantități mari de substanțe antioxidante, flavanoizi ca radicalii liberi [16]. Cei mai mulți fenolii sunt sub formă de taninuri (molecule care permit conservarea vinului prin absorbția oxigenului) sau derivați flavanoizi precum flavan-3-oli și flavan-3,4-diolii care pot polimeriza taninuri [17], [18].

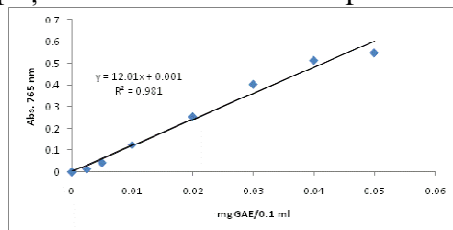
*Antocianii* sunt cei mai importanți pigmenți ai plantelor vasculare, sunt specifici varietăților de struguri roșii, fiind localizați în pielea strugurilor.

Aplicarea câmpului electric pulsatoriu (PEF) diferitelor matrici vegetale are la bază, mecanismul de electroporare, care determină ruperea membranelor celulare, facilitând astfel eliberarea conținutului intracelular. Cercetările întreprinse în acest sens au demonstrat că PEF îmbunătățește transferul de masă în cazul extracției diferiților compuși, din diferite matrici vegetale ca de exemplu, sfeclă [19].

Extractibilitatea pigmentului de culoare roșie a fost investigată și la sfecla roșie, folosind tratamentul cu impulsuri de câmp electric (PEF), asupra țesutului într-un proces de extracție solid-lichid. S-a constatat că produsul obținut în urma tratării cu PEF are cel mai mare grad de extracție [20].

### III.1.1.1. Determinarea spectrofotometrică a conținutului în compuși polifenolici totali din must și vin

Determinarea conținutului în polifenoli totali (TPh) s-a realizat utilizând metoda Folin – Ciocâltău. Curba de calibrare s-a realizat cu ajutorul acidului galic (0-0,5 mg/ml), coeficientul de corelație fiind  $R^2 = 0,981$ , iar ecuația de regresie,  $y=12,01x+0,001$  (**Figura III.1.2.**). Cantitatea de compuși fenolici totali a fost exprimată în mg echivalenți acid galic (GAE)/L probă.

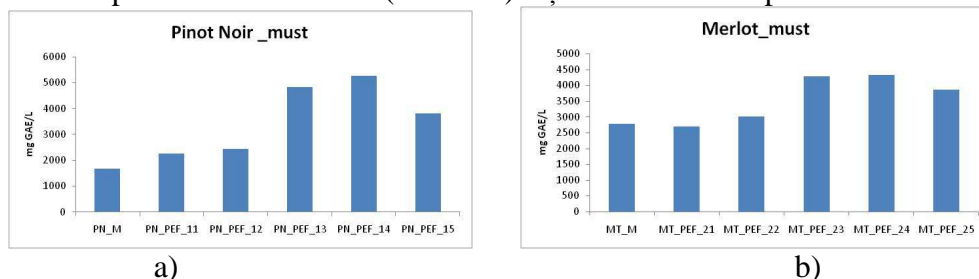


**Figura III.1.2.** Curba de calibrare cu acid galic pentru determinarea compușilor polifenolici totali prin metoda Folin-Ciocalteu

Au fost investigați în urma tratamentului cu PEF două varietăți de struguri, Pinot Noir și Merlot din punct de vedere al conținutului în TPh. În funcție de condițiile experimentale utilizate la aplicarea câmpului electric pulsatoriu a rezultat câte 5 variante experimentale pentru fiecare varietate de struguri. După tratamentul cu PEF, probele au fost lăsate la macerat în scopul extragerii compușilor bioactivi care sunt prezenți predominant în pielea strugurilor. O etapă în fluxul tehnologic de obținere a vinurilor este formarea mustului. Rezultatele cu privire la conținutul în compuși polifenolici totali din mustul provenit de la strugurii tratați cu PEF sunt prezentați în **Figura III.1.3 (Figura III.1.3.a\_mustul Pinot Noir; Figura III.1.3.b\_mustul**



**Merlot**). Pentru fiecare varietate de struguri s-a folosit un lot care nu a fost supus tratamentului cu PEF, acest lot reprezentând controlul (martorul) față de care s-au raportat rezultatele obținute.

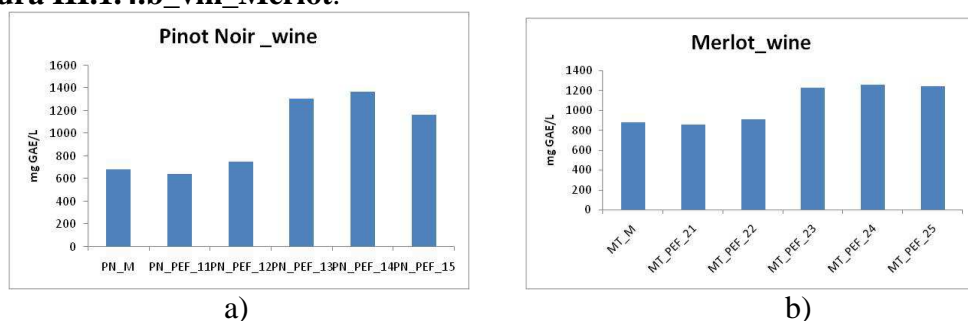


**Figura III.1.3.** Conținutul în compuși polifenolici totali din mustul provenit de la strugurii Pinot Noir (a) și Merlot (b) netratate (PN\_M și MT\_M) și tratate cu PEF

Dintre cele 2 varietăți de struguri luați în studiu, cea mai mare cantitate în compuși de polifenoli totali s-a obținut în cazul mustului Merlot (2784, 35 mg GAE/L). Mustul provenit de la strugurii Pinot Noir a înregistrat o valoare de 1674,022 mg GAE/L. Tratamentul cu PEF a mustuielii de struguri (format din pielețe, sâmburi și pulpă) a avut ca rezultat o extracție mai bună a compușilor polifenolici, cel mai bine fiind extrași polifenolii din strugurii Pinot Noir. Astfel, în cazul probelor PN\_PEF\_11 și PN\_PEF\_12 s-a obținut o creștere a TPh de 34,67%, respectiv 46,21% comparativ cu martorul. În schimb, micșorarea distanțelor dintre tamburi (2,5 mm) a avut ca rezultat o extracție mult mai mare a acestor compuși bioactivi. Astfel, în cazul probelor PN\_PEF\_13 și PN\_PEF\_14, creșterea compușilor bioactivi a fost de 188,39%, respectiv 213,73%. Introducerea unei etape de centrifugare înainte de tratamentul cu PEF a avut ca rezultat o creștere de 128,45% (PN\_PEF\_15) comparativ cu martorul.

Tratamentul cu PEF în cazul strugurilor Merlot a avut ca rezultat creșterea concentrației în compuși polifenolici totali, cu excepția probei MT\_PEF\_21 unde s-a înregistrat o scădere de 3,44% față de martor. Modificarea parametrilor la  $U = 8$  kV, frecvență  $f = 344$  Hz (MT\_PEF\_22), a avut ca rezultat o creștere de 8,19% de compuși polifenolici față de martor. Micșorarea distanțelor dintre tamburi, a avut ca rezultat o extracție mai bună în compuși bioactivi, de 53,75% și 55,05% în cazul probelor MT\_PEF\_23 respectiv MT\_PEF\_24. Introducerea etapei de centrifugare, a dus la o creștere de 38,562% de TPh (MT\_PEF\_24).

Rezultatele cu privire la conținutul în compuși polifenolici totali din cele 5 probe de vin obținute de la fiecare varietate de struguri utilizată sunt prezentate în **Figura III.1.4.a vin Pinot Noir**; **Figura III.1.4.b vin Merlot**.

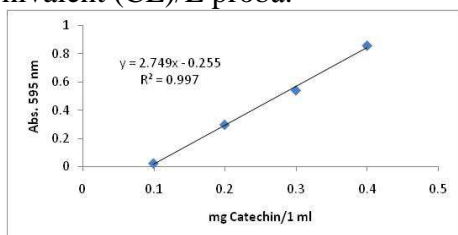


**Figura III.1.4.** Conținutul în compuși polifenolici totali din vinul provenit de la strugurii Pinot Noir (a) și Merlot (b), netratate (PN\_M și MT\_M) și tratate cu PEF

În urma procesului de fermentare, compuși polifenolici se regăsesc în vinuri în cantitate mai mică comparativ cu mustul, de aproximativ 3 ori mai puțin. În schimb, în cazul probelor de vin se respectă aceeași ordine cu privire la cantitatea în compuși polifenolici care s-au determinat ca și în cazul mustului. În ordine descrescătoare în cazul vinului Pinot Noir se găsesc probele: PN\_PEF\_14 > PN\_PEF\_13 > PN\_PEF\_15 > PN\_PEF\_12 > PN\_M > PN\_PEF\_11. În cazul vinului Merlot, în ordine descrescătoare sunt următoarele probe: MT\_PEF\_24 > MT\_PEF\_25 > MT\_PEF\_23 > MT\_PEF\_22 > MT\_M > MT\_PEF\_21.

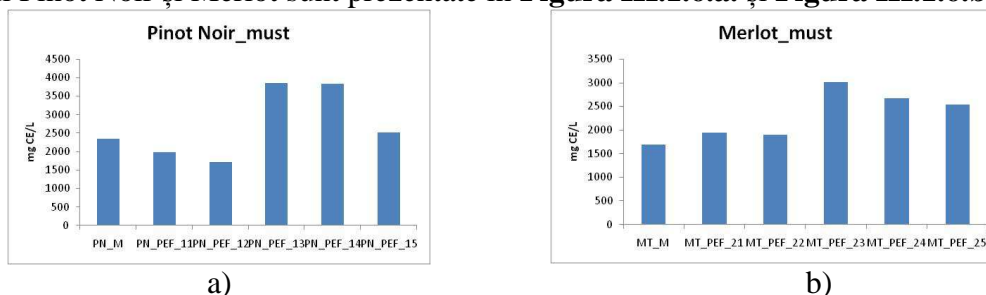
### III.1.1.2. Determinarea spectrofotometrică a conținutului în flavonoide totale din must și vin

Determinarea flavonoidelor totale s-a realizat prin metoda colorimetrică utilizând  $\text{AlCl}_3$ . Etapele parcurse pentru determinarea conținutului total de flavonoide au fost următoarele: într-un balon cotat de 10 ml s-a introdus 1 ml probă, 2 ml apă distilată și 3 ml  $\text{NaNO}_2$  (5%). Probele au fost lăsate în repaus pentru 5 minute după care s-a adăugat 0,3 ml  $\text{AlCl}_3$  (10%), și din nou s-au menținut probele în repaus de 6 minute. În final s-a adăugat 2 ml  $\text{NaOH}$  1M, s-a completat până la semn balonul cotat iar după exact 15 minute, s-a citit absorbanta la 595 nm. Curba de calibrare (**Figura III.1.5.**) s-a realizat cu catechină, ca și standard, realizându-se diluții în intervalul de 0-500 ppm, rezultatele fiind exprimate sub formă de mg catechin echivalent (CE)/L probă.



**Figura III.1.5.** Curba de calibrare cu catechină pentru determinarea flavonoidelor totale

Rezultatele cu privire la conținutul în flavonoide totale din mustul provenit de la strugurii Pinot Noir și Merlot sunt prezentate în **Figura III.1.6.a.** și **Figura III.1.6.b.**

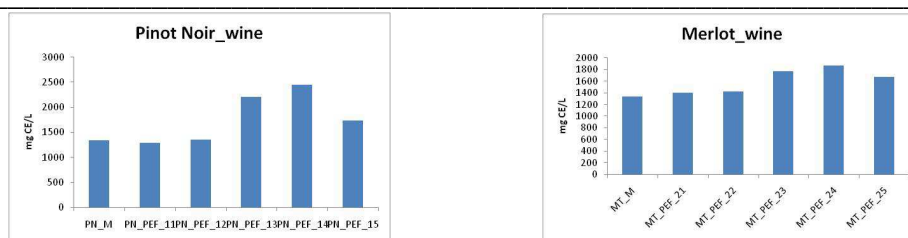


**Figura III.1.6.** Conținutul în flavonoide totale (mg CE/L) din mustul provenit de la strugurii Pinot Noir (a) și Merlot (b), netratate (PN\_M și MT\_M) și tratate cu PEF

Mustul provenit de la strugurii Pinot Noir a prezentat cea mai mare cantitate în flavonoide totale (2339.032 mg CE/L) comparativ cu mustul Merlot (1690.251 mg CE/L). În cazul mustului Pinot Noir, tratamentul cu PEF a avut ca rezultat o scădere a acestor compuși cu 15,19%, respectiv 26,63% pentru probele PN\_PEF\_11, respectiv PN\_PEF\_12. Micșorarea distanțelor dintre tamburi de la 7 mm la 2,5 mm, a avut ca rezultat o extracție mult mai eficientă a flavonoidelor, conținutul în acești compuși fiind crescut cu 64,53% și 63,86% în probele PN\_PEF\_13, respectiv PN\_PEF\_14, comparativ cu martorul (PN\_M). Introducerea etapei de centrifugare, înainte de tratamentul cu PEF a avut ca rezultat o creștere de 7,29% (PN\_PEF\_15) comparativ cu martorul.

În schimb, tratamentul cu PEF a mustuielii provenite de la strugurii Merlot a avut ca rezultat o creștere în compuși flavonoidici în cazul tuturor probelor. Astfel, la probele în care distanța dintre tamburi a fost de 7 mm, s-a obținut o creștere de 14,79% și 12,15% pentru MT\_PEF\_21, respectiv MT\_PEF\_22. Micșorarea distanței dintre tamburi a avut ca rezultat o extragere în flavonoide mult mai bună, de 78,24% și 57,66% (MT\_PEF\_23, respectiv MT\_PEF\_24). Introducerea etapei de centrifugare, înainte de tratamentul PEF a avut ca rezultat o creștere a concentrației de flavonoide de 50,44% (MT\_PEF\_25) comparativ cu martorul.

Rezultatele cu privire la concentrația de flavonoide totale din vinurile obținute sunt prezentate în **Figura III.1.7.a.** și **Figura III.1.7.b.**



**Figura III.1.7.** Conținutul în flavonoide totale (mg CE/L) din vinul provenit de la strugurii Pinot Noir (a) și Merlot (b), netratate (PN\_M și MT\_M) și tratate cu PEF

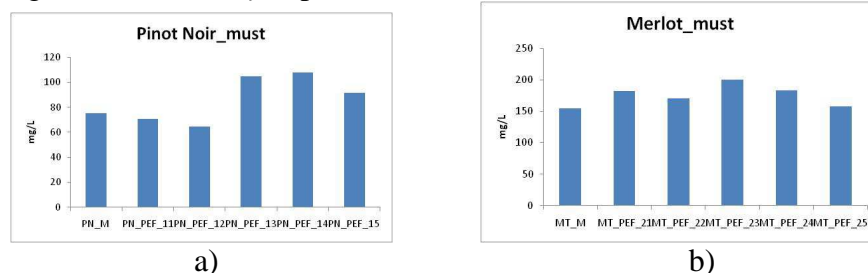
Conținutul în flavonoide totale din vinuri se regădesc în cantitate mai mică decât în must, cu aproximativ 1,5 ori mai puțin. Cantitatea cea mai mare de flavonoide, din vinurile Pinot Noir se găsește în proba PN\_PEF\_14 (2455.074573 mg CE/L) , iar dintre vinurile Merlot în proba MT\_PEF\_24 (1873.226628 mg CE/L).

### III.1.1.3. Determinarea conținutului în pigment antocianic monomeric total din must și vin

Metoda de determinare a conținutului în pigment antocianic monomeric total se bazează pe proprietatea antocianilor de a-și schimba culoarea în funcție de pH. Conținutul total de antociani monomerici (echivalenți cianidin 3-glucozida/L probă) a fost calculat conform relației (1), și sunt prezentate în **Figura III.1.8.a.** și **Figura III.1.8.b.**

$$\text{Conținutul de antociani (mg/L)} = (A \times MW \times DF \times 1000) / \varepsilon \times L \quad (3.1)$$

unde:  $A = (A_{520 \text{ nm pH } 1.0} - A_{700 \text{ nm pH } 1.0}) - (A_{520 \text{ nm pH } 4.5} - A_{700 \text{ nm pH } 4.5})$ , Masa moleculară a cianidin 3-glucozida (449.2); DF = factorul de diluție;  $\varepsilon$  = absorbtivitatea molară a cianidin 3-glucozida în soluție apoasă acidă (26,900 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>); L = drumul optic (1 cm).

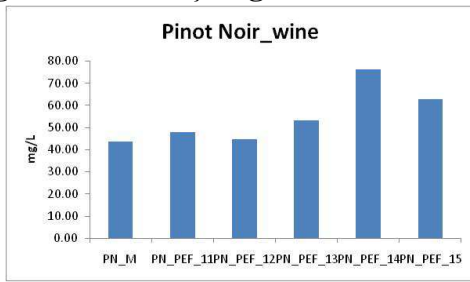


**Figura III.1.8.** Conținutul în pigment antocianic monomeric total din mustul obținut din strugurii Pinot Noir (a) și Merlot (b) netratate (PN\_M și MT\_M) și tratate cu PEF

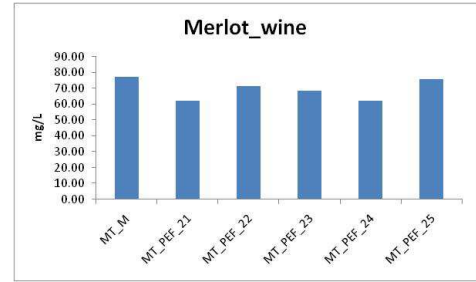
Dintre cele 2 varietăți de struguri, cea mai mare cantitate în pigmenți antocianici a prezentat-o mustul Merlot, de 155,09 mg/L, în timp ce în mustul Pinot Noir conține doar 75,35 mg/L. În cazul probelor PN\_PEF\_11 și PN\_PEF\_12, s-a observat o scădere a pigmenților antocianici în urma tratamentului PEF cu 6,32%, respectiv 14,30%. În schimb în urma tratamentului PEF, cu distanța între tamburi de 2,5 mm, se observă o creștere în pigmenți antocianici de 39,28% și 43,27% în cazul probelor PN\_PEF\_13, respectiv PN\_PEF\_14. Aplicarea centrifugării înaintea aplicării tratamentului PEF a avut ca rezultat o creștere în pigment antocianic de 21,22% comparativ cu martorul (PN\_PEF\_15).

În cazul tratamentului PEF la strugurii Merlot, s-a înregistrat la toate variantele experimentale creșteri în pigmentul antocianic. Astfel, în cazul variantelor în care distanța dintre tamburi a fost de 7 mm, s-au observat creșteri de 17,52% și 9,93% (MT\_PEF\_21, respectiv MT\_PEF\_22). Aproximarea distanței dintre tamburi (2,5 mm) a avut ca rezultat o extracție mult mai mare de pigmenți antocianici, de 29,34% și 18,36% (MT\_PEF\_23, respectiv MT\_PEF\_24) comparativ cu martorul. Varianta experimentală în care s-a introdus centrifugarea înaintea aplicării PEF, a dus la o creștere de pigmenți antocianici de 1,83% comparativ cu martorul (MT\_PEF\_25).

Rezultatele cu privire la conținutul în pigmenți antocianici din vin sunt prezentate în **Figura III.1.9.a.** și **Figura III.1.9.b.**



a)



b)

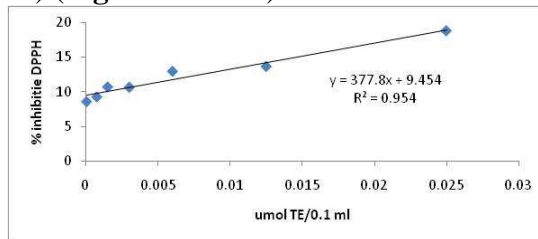
**Figura III.1.9.** Conținutului în pigment antocianic monomeric total din vinul obținut din strugurii Pinot Noir (a) și Merlot (b) netratate sau tratate în PEF

Cantitatea în pigmentul antocianic monomeric scade în vin comparativ cu cel din must, cu aproximativ de 1,6 ori în cazul vinului Pinot Noir și de 2,54 ori în cazul vinului Merlot.

### III.1.1.4. Determinarea capacității antioxidante

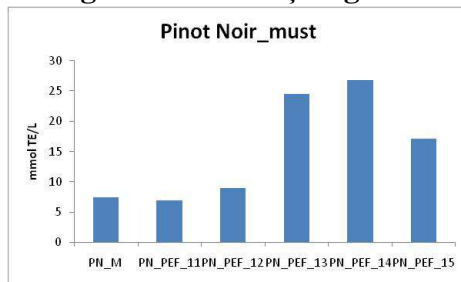
#### III.1.1.4.1. Metoda DPPH (Diphenylpicrylhydrazil Radical Scavenging Capacity)

Metoda DPPH este o metodă spectrofotometrică, larg utilizată pentru a testa abilitatea compușilor de a îndepărta radicalii liberi sau capacitatea lor de a dona hidrogen. Este utilizată pentru cuantificarea antioxidantilor în sisteme biologice complexe. Protocolul de lucru folosit a fost conform metodei descrise de Brand-Williams și colab., (1995). Rezultatele au fost exprimate în mmol TE/L, pe baza curbei de calibrare utilizând Trolox-ul ca și standard ( $R^2 = 0,954$ ;  $y = 377,8x + 9,454$ ) (**Figura III.1.10**).

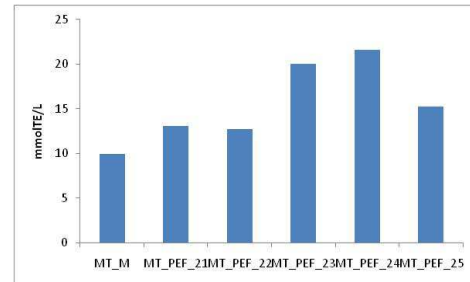


**Figura III.1.10.** Curba de calibrare față de Trolox realizată prin metoda DPPH

Capacitatea antioxidantă a mustului provenit de la cele 2 varietăți de struguri este reprezentată în **Figura III.1.11.a** și **Figura III.1.11.b**.



a)



b)

**Figura III.1.11.** Capacitatea antioxidantă a mustului provenit de la strugurii Pinot Noir (a) și Merlot (b) netratate (PN\_M și MT\_M) și tratate cu PEF

Cea mai bună capacitate antioxidantă s-a obținut în cazul mustului la care s-a utilizat tratamentul PEF cu distanța dintre tamburi de 2,5 mm. Astfel în cazul mustului Pinot Noir, s-a obținut o valoare de 24,53 mmolTE/L și 26,86 mmol TE/L (PN\_PEF\_13, respectiv PN\_PEF\_14). În cazul mustului Merlot s-au obținut valorile de 20,04 mmol TE/L și 21,60 mmol TE/L, pentru MT\_PEF\_23, respectiv MT\_PEF\_24.

În **Tabelul III.1.** se prezintă capacitatea antioxidantă a vinului provenit de la strugurii Pinot Noir (a) și Merlot (b) pentru probele netratate (PN\_M și MT\_M) și tratate cu PEF.

Tabelul III.1.1

Capacitatea antioxidantă a vinului provenit de la strugurii Pinot Noir și Merlot pentru probele netratate (PN\_M și MT\_M) și tratate cu PEF

Pinot Noir_vin	mmolTE/L	Merlot_vin	mmolTE/L
PN_M	0.027930068	MT_M	0.040685401
PN_PEF_11	0.0262765	MT_PEF_21	0.041302166
PN_PEF_12	0.028062991	MT_PEF_22	0.036995446
PN_PEF_13	0.086666277	MT_PEF_23	0.081099443
PN_PEF_14	0.104908689	MT_PEF_24	0.066265187
PN_PEF_15	0.061634135	MT_PEF_25	0.067764564

Datorită faptului că în vin se regăesc compușii bioactivi în cantitate mult mai mică decât în must, și capacitatea antioxidantă a vinului este mai scăzută decât a mustului. În literatura de specialitate s-a demonstrat o corelație directă între conținutul în polifenoli, flavonoide și capacitatea antioxidantă a probelor.

#### III.1.1.4.2. Metoda FRAP(*Ferric Reducin Antioxidant Power*)

Metoda FRAP este o metodă simplă spectrofotometrică care testează puterea antioxidantă a probelor luate în studiu și se bazează pe reducerea complexului tripiridiltriagina ferică (Fe(III)-TPTZ) la complexul tripiridiltriagina feroasă ((Fe(III)-TPTZ) de către un reductant la pH acid. Soluția FRAP de lucru se prepară proaspătă prin amestecarea a 50 ml tampon acetat 300 mM cu 5 ml soluție  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  și 5 ml TPTZ. Probele de must (100  $\mu\text{l}$ ) au fost lăsate să reacționeze cu 500  $\mu\text{l}$  soluție FRAP și 2 ml apă distilată pentru o oră, la întuneric, după care citirile la spectrofotometru s-au realizat la 595 nm. Ca și standard s-a folosit Trolox, curba standard s-a realizat între concentrații cuprinse între 15 și 250 mM, având un coeficient de corelație  $R^2 = 0,865$  (Figura III.1.12). Rezultatele au fost exprimate în mmol echivalenți Trolox (TE)/L probă. Rezultatele obținute sunt prezentate în Figura III.1.13.a. și Figura III.1.13.b.

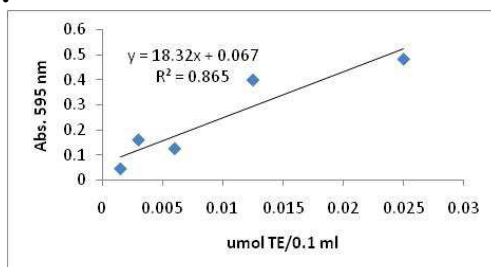


Figura III.1.12. Curba de calibrare față de Trolox determinată prin metoda FRAP

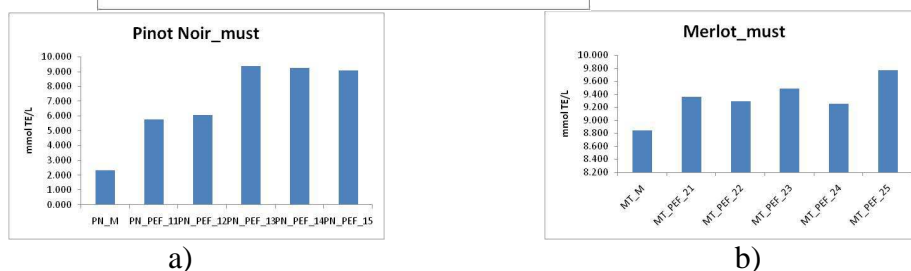


Figura III.1.13. Capacitatea antioxidantă determinată prin metoda FRAP a probelor de must Pinot Noir (a) și Merlot (b), netratate (PN\_M și MT\_M) și tratate cu PEF

Tratamentul cu PEF a strugurilor a avut ca rezultat creșterea capacității antioxidantă a mustului în cazul tuturor variantelor experimentale luate în studiu. Cele mai bune rezultate obținându-se în cazul tratamentului în care distanța dintre tamburi a fost de 2,5 mm. În cazul mustului Pinot Noir, s-au înregistrat valori de 9,382 mmol TE/L și 9,258 mmol TE/L pentru variantele experimentale PN\_PEF\_13, respectiv PN\_PEF\_14. În cazul mustului Merlot valorile înregistrate au fost de 9,487 mmol TE/L și 9,250 mmol TE/L pentru probele MT\_PEF\_23, respectiv MT\_PEF\_24. Probele de must care nu au fost tratate cu PEF au prezentat o capacitate

antioxidantă de 2,346 mmol TE/L în cazul probei PN\_M și de 8,842 mmol TE/L în cazul probei MT\_M. Rezultatele cu privire la capacitatea antioxidantă din vinuri determinată prin metoda FRAP sunt prezentate în **Tabelul III.2.**

**Tabelul III.1.2**

Capacitatea antioxidantă determinată prin metoda FRAP a probelor de vin Pinot Noir și Merlot netratate (PN\_M și MT\_M) și tratate cu PEF

<b>Pinot Noir_vin</b>	<b>mmolTE/L</b>	<b>Merlot_vin</b>	<b>mmolTE/L</b>
<b>PN_M</b>	7.238163093	<b>MT_M</b>	8.585400609
<b>PN_PEF_11</b>	7.229742859	<b>MT_PEF_21</b>	8.781656843
<b>PN_PEF_12</b>	7.581125721	<b>MT_PEF_22</b>	8.816633202
<b>PN_PEF_13</b>	8.794287195	<b>MT_PEF_23</b>	8.845132457
<b>PN_PEF_14</b>	8.762225533	<b>MT_PEF_24</b>	8.865859188
<b>PN_PEF_15</b>	9.160891249	<b>MT_PEF_25</b>	8.869421595

Capacitatea antioxidantă a probelor de vin, determinată prin metoda FRAP, a înregistrat valori aproximativ egale cu cele din must, probabil că există și alți compuși în vin care contribuie la capacitatea antioxidantă a vinului.

### **III.1.1.4.3. Determinarea acidității titrabilă și a pH-ului din must și vin**

Aciditatea titrabilă reprezintă una din determinările cele mai importante în cazul procesării strugurilor, pentru că aceasta determină calitatea mustului și mai târziu a vinului.

Aciditatea din struguri și must este formată în principal din acizii tartric, malic și într-o proporție mai mică din acidul citric. În vin se regăsesc acizii prezenți în struguri la care se mai adaugă și acizii care se formează în urma sau în timpul fermentațiilor, cum ar fi acidul carbonic, acidul acetic, acidul propionic, acidul lactic, acidul succinic. Aciditatea probelor s-a realizat prin metodă titrimetrică, prin neutralizarea acidității probelor cu o soluție de hidroxid de sodiu 0,1M cu factor cunoscut ( $F= 1,0018$ ). Rezultatele obținute pentru probele netratate/ tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) pentru must și vin sunt prezentate în **Tabelul III.1.3.**

**Tabelul III.1.3**

Soiul de struguri Pinot Noir	must	Vin	Soiul de struguri Merlot	must	Vin
	g/L	g/L		g/L	g/L
<b>PN_M</b>	5.993625	5.88465	<b>MT_M</b>	7.355813	7.355813
<b>PN_PEF_11</b>	5.721188	6.1570875	<b>MT_PEF_21</b>	5.993625	7.519275
<b>PN_PEF_12</b>	6.5385	6.0481125	<b>MT_PEF_22</b>	6.5385	6.75645
<b>PN_PEF_13</b>	5.721188	6.211575	<b>MT_PEF_23</b>	7.355813	6.484013
<b>PN_PEF_14</b>	5.993625	6.4840125	<b>MT_PEF_24</b>	6.5385	6.865425
<b>PN_PEF_15</b>	5.721188	6.5385	<b>MT_PEF_25</b>	6.5385	6.701963

Proprietățile gustative ale vinului, limpiditatea, culoarea vinurilor roșii și condițiile de dezvoltare a microorganismelor utile dar și patogene ale vinului sunt influențate în mod direct de pH. Rezultatele cu privire la pH-ul obținut pentru probele netratate/ tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) pentru must și vin sunt prezentate în **Tabelul III.1.4** și **Tabelul III.1.5.**

**Tabelul III.1.4**

<b>Pinot Noir_ must</b>	<b>sd</b>		<b>Pinot Noir_vin</b>	<b>sd</b>	
<b>PN_M</b>	5.695	0.011	<b>PN_M</b>	3.03	0.06
<b>PN_PEF_11</b>	5.783	0.012	<b>PN_PEF_11</b>	3.98	0.02
<b>PN_PEF_12</b>	5.755	0.014	<b>PN_PEF_12</b>	3.11	0.02
<b>PN_PEF_13</b>	5.745	0.005	<b>PN_PEF_13</b>	3.04	0.02
<b>PN_PEF_14</b>	5.755	0.011	<b>PN_PEF_14</b>	3.07	0.03
<b>PN_PEF_15</b>	5.645	0.011	<b>PN_PEF_15</b>	3.10	0.01

Tabelul III.1.5

Merlot_must	sd		Merlot_vin	sd	
MT_M	5.515	0.011	MT_M	3.05	0.02
MT_PEF_21	5.510	0.008	MT_PEF_21	3.14	0.02
MT_PEF_22	5.505	0.005	MT_PEF_22	3.14	0.02
MT_PEF_23	5.485	0.011	MT_PEF_23	3.11	0.02
MT_PEF_24	5.485	0.008	MT_PEF_24	3.14	0.01
MT_PEF_25	5.485	0.014	MT_PEF_25	3.13	0.02

### III.1.2. Analize fizico-chimice

#### III.1.2.1. Analiza conținutului de substanță uscată (zaharuri) a probelor de must

Cantitatea de substanță uscată, în acest caz, se restrânge la cea de zaharuri. Aceasta este direct proporțională cu indicele Brix(%), care se determină cu ajutorul unui refractometru de tip Abbe. Zaharurile sunt cele care sunt transformate de către drojdiile din must în alcool. La producerea mustului indicele Brix este de valoare ridicată, iar pe parcursul timpului drojdiile se înmulțesc foarte rapid și transformă zaharurile. Ca urmare indicele Brix al mustului descrește odată cu creșterea activității drojdiilor, ajungând la o valoare asimptotică. În acel moment se poate considera că activitatea de fermentație a drojdiilor este oprită, iar în consecință vinul rezultat trebuie trecut la procesul de îmbutelire.

Aceste considerente au dus la determinarea indicelui Brix (%) pentru toate probele de must studiate, la intervalul de 24 de ore pe o durată de 8 zile. Rezultatele experimentale au fost analizate statistic: descriptiv și modelate prin regresie liniară de tip platou urmat de descreștere exponențială, rezultatele obținute sunt prezentate în **Tabelul III.1.6**. S-a impus ca parametrul X0 ce descrie intervalul de timp al platoului să fie de valoare 2,0 zile (determinat empiric), **Figura III.1.14**.

Tabelul III.1.6.

Caracterizarea matematică a regresiei neliniare utilizate pentru analiza conținutului de substanță uscată din probele de must Pinot Noir (PN) și Merlot (MT)

Descriere	Nonlinear Curve Fit
Algoritmul iterativ de tip	Levenberg Marquardt
Model	Plateau urmat de descreștere exponențială
Număr de parametri	3
Ecuția regresiei	$if(X < X0)$
	$Y = Y0;$
	$else Y = Plateau + (Y0 - Plateau) * exp(-K *(X - X0));$

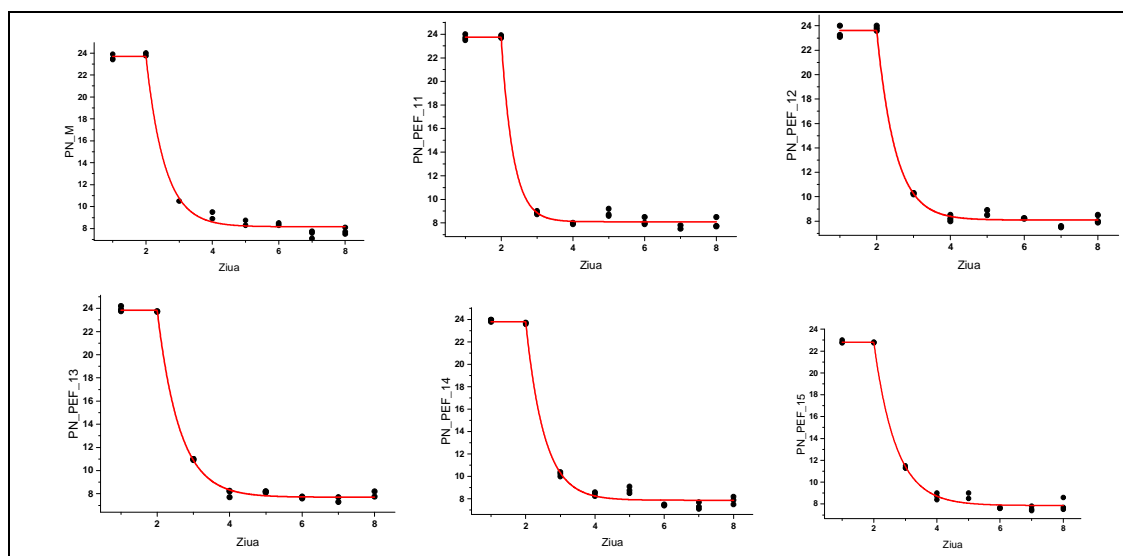


Figura III.1.14. Reprezentările grafice ale regresiilor neliniare a variabilei Brix (%), pentru probele de vin Pinot Noir netratate (PN\_M) și tratate cu PEF

În **Tabelul III.1.7.**, sunt prezentate valorile parametrilor ce definesc regresia liniară pentru probele de must Pinot Noir netratate (PN\_M) și tratate cu PEF.

**Tabelul III.1.7.**

Valorile parametrilor ce definesc regresia liniară pentru probele de must Pinot Noir netratate (PN\_M) și tratate cu PEF

Proba	Parametri			Parametri			
	Denumire	Valoare	Eroare std.	Proba	Denumire	Valoare	Eroare std.
PN_M	Y0	23.70509	0.20379	PN_PEF_13	Y0	23.84812	0.11203
PN_M	Plateau	8.16327	0.14064	PN_PEF_13	Plateau	7.70432	0.07901
PN_M	K	1.78681	0.12241	PN_PEF_13	K	1.62236	0.05465
PN_PEF_11	Y0	23.75845	0.16793	PN_PEF_14	Y0	23.80339	0.18948
PN_PEF_11	Plateau	8.09749	0.10847	PN_PEF_14	Plateau	7.87685	0.12959
PN_PEF_11	K	3.0067	0.34122	PN_PEF_14	K	1.87095	0.12106
PN_PEF_12	Y0	23.62519	0.15169	PN_PEF_15	Y0	22.81087	0.14955
PN_PEF_12	Plateau	8.09329	0.10276	PN_PEF_15	Plateau	7.86269	0.10923
PN_PEF_12	K	1.97361	0.11034	PN_PEF_15	K	1.42993	0.06435

În **Tabelul III.1.8.** sunt prezentate rezultatele testelor statistice descriptive ale parametrilor regresiiilor liniare pentru probele de must Pinot Noir netratate (PN\_M) și tratate cu PEF.

**Tabelul III.1.8.**

Rezultatele testelor statistice descriptive ale parametrilor regresiiilor liniare pentru probele de must Pinot Noir netratate (PN\_M) și tratate cu PEF

Statistica						
	PN_M	PN_PEF_11	PN_PEF_12	PN_PEF_13	PN_PEF_14	PN_PEF_15
<b>N</b>	24	24	24	24	24	24
<b>DF</b>	21	21	21	21	21	21
$\chi^2$	0.24926	0.16919	0.13808	0.07534	0.21546	0.13435
<b>R<sup>2</sup></b>	<b>0.99447</b>	<b>0.99643</b>	<b>0.99695</b>	<b>0.99843</b>	<b>0.99546</b>	<b>0.9967</b>

În **Tabelul III.1.9.** sunt prezentat rezultatele analizei de varianță (ANOVA) a regresiiilor liniare pentru probele de must Pinot Noir netratate (PN\_M) și tratate cu PEF.

Datele numerice ale parametrilor  $R^2 > 0,99$  (**Tabelul III.1.8**) și semnificația statistică de peste 95% (Prob, din **Tabelul III.1.9**) arată că regresiiile neliniare descrise în **Tabelul III.1.6** și **Tabelul III.1.7**, pentru toate probele de must Pinot Noir sunt semnificative statistic.

Rezultatele din **Tabelul III.1.7.** și **Figura III.1.14,** relevă faptul că diferențele dintre cantitatea inițială de zaharuri din toate probele de must Pinot Noir este nesemnificativ diferită, ceea ce înseamnă că se poate face o comparație directă a coeficienților ce rezultă din regresiiile neliniare.

Din punct de vedere tehnico-economic interesează doar momentul în care se atinge platoul, și care dă posibilitatea producătorilor de vin de a scurta timpul de procesare al vinului. Valorile platoului pentru probele de must PN\_PEF\_13, PN\_PEF\_14 și PN\_PEF\_15 sunt sensibil mai mici decât cele ale celorlalte probe, inclusiv cea martor (netratată). Diferența dintre valorile platourilor celor două grupări de probe este de 24 de ore.

În **Tabelul III.1.10,** sunt prezentate valorile parametrilor ce definesc regresia liniară pentru probele de must Merlot netratate (MT\_M) și tratate cu PEF.



Tabelul III.1.9.

Rezultatele analizei de varianță (ANOVA) a regresii liniare pentru probele de must Pinot Noir netratate (PN\_M) și tratate cu PEF

ANOVA						
		DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
PN_M	Regression	3	4745.15812	1581.71937	6345.757	<0.0001
PN_M	Residual	21	5.23438	0.24926		
PN_M	Uncorrected Total	24	4750.3925			
PN_M	Corrected Total	23	1036.5549			
PN_PEF_11	Regression	3	4608.42441	1536.14147	9079.13301	<0.0001
PN_PEF_11	Residual	21	3.55309	0.16919		
PN_PEF_11	Uncorrected Total	24	4611.9775			
PN_PEF_11	Corrected Total	23	1089.6624			
PN_PEF_12	Regression	3	4663.88788	1554.62929	11259.15493	<0.0001
PN_PEF_12	Residual	21	2.89962	0.13808		
PN_PEF_12	Uncorrected Total	24	4666.7875			
PN_PEF_12	Corrected Total	23	1041.9749			
PN_PEF_13	Regression	3	4696.09966	1565.36655	20777.35176	<0.0001
PN_PEF_13	Residual	21	1.58214	0.07534		
PN_PEF_13	Uncorrected Total	24	4697.6818			
PN_PEF_13	Corrected Total	23	1104.01753			
PN_PEF_14	Regression	3	4671.89526	1557.29842	7227.65969	<0.0001
PN_PEF_14	Residual	21	4.52474	0.21546		
PN_PEF_14	Uncorrected Total	24	4676.42			
PN_PEF_14	Corrected Total	23	1092.04958			
PN_PEF_15	Regression	3	4497.36373	1499.12124	11158.65571	<0.0001
PN_PEF_15	Residual	21	2.82127	0.13435		
PN_PEF_15	Uncorrected Total	24	4500.185			
PN_PEF_15	Corrected Total	23	935.34125			

Tabelul III.1.10

Valorile parametrilor ce definesc regresia liniară pentru probele de must Merlot netratate (MT\_M) și tratate cu PEF

Proba	Parametri			Parametri			
	Denumire	Valoare	Eroare std.	Proba	Denumire	Valoare	Eroare std.
MT_M	Y0	23.01386	0.32149	MT_PEF_23	Y0	23.3939	0.26805
MT_M	Plateau	8.15201	0.34883	MT_PEF_23	Plateau	7.68261	0.42515
MT_M	K	0.72897	0.065	MT_PEF_23	K	0.52283	0.04257
MT_PEF_21	Y0	22.35403	0.32964	MT_PEF_24	Y0	23.42794	0.21369
MT_PEF_21	Plateau	7.25682	0.37352	MT_PEF_24	Plateau	7.52924	0.22701
MT_PEF_21	K	0.69706	0.06352	MT_PEF_24	K	0.74575	0.04109
MT_PEF_22	Y0	22.78976	0.31609	MT_PEF_25	Y0	23.23834	0.30322
MT_PEF_22	Plateau	7.75786	0.3651	MT_PEF_25	Plateau	7.27221	0.44399
MT_PEF_22	K	0.68393	0.06038	MT_PEF_25	K	0.55596	0.04858

În Tabelul III.1.11 sunt prezentate rezultatele testelor statistice descriptive ale parametrilor regresii liniare pentru probele de must Merlot netratate (MT\_M) și tratate cu PEF

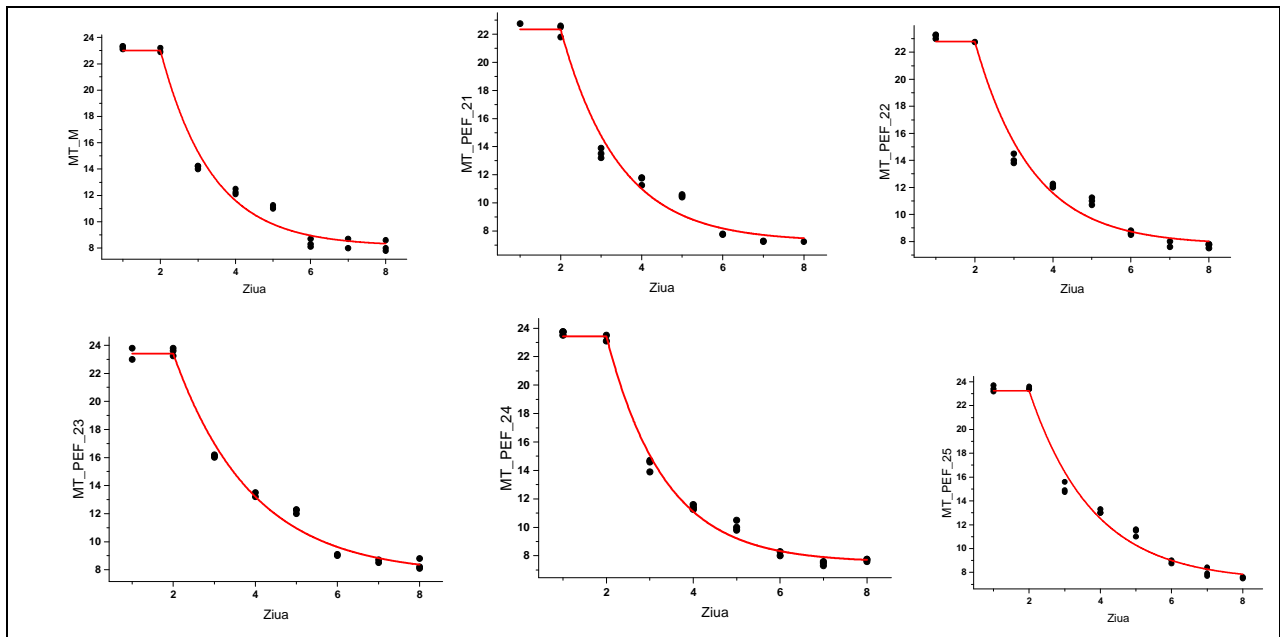
**Tabelul III.1.11**

Rezultatele testelor statistice descriptive ale parametrilor regresiiilor liniare pentru probele de must Merlot netratate (MT\_M) și tratate cu PEF

Statistica						
	MT_M	MT_PEF_21	MT_PEF_22	MT_PEF_23	MT_PEF_24	MT_PEF_25
<b>N</b>	24	24	24	24	24	24
<b>DF</b>	21	21	21	21	21	21
$\chi^2$	0.63033	0.66394	0.61098	0.44538	0.27822	0.56801
<b>R<sup>2</sup></b>	<b>0.9826</b>	<b>0.98202</b>	<b>0.9832</b>	<b>0.98759</b>	<b>0.99326</b>	<b>0.9851</b>

În **Tabelul III.1.12.**, sunt prezentate rezultatele analizei de varianță (ANOVA) a regresiiilor liniare pentru probele de must Merlot netratate (MT\_M) și tratate cu PEF. Datele numerice ale parametrilor  $R^2 > 0,98$  (**Tabelul III.1.11**) și semnificația statistică de peste 95% (Prob, din **Tabelul III.1.12**) arată că regresiiile neliniare descrise în **Tabelul III.1.6** și **Tabelul III.1.10** pentru toate probele de must Merlot sunt semnificative statistic.

Rezultatele din **Tabelul III.1.7.** și **Figura III.1.15.**, relevă faptul că diferențele dintre cantitatea inițială de zaharuri din toate probele de must Merlot este ne semnificativ diferită, ceea ce înseamnă că se poate face o comparație directă a coeficienților ce rezultă din regresiiile neliniare.



**Figura III.1.15.** Reprezentările grafice ale regresiiilor neliniare a variabilei Brix (%), pentru probele de vin Merlot netratate (MT\_M) și tratate cu PEF

Valorile platoului pentru toate probele de must tratate sunt sensibil mai mici decât cele ale celorlalte probei martor (netratată). Diferența este de 24 de ore, timp în care producătorul de vin poate să treacă la recoltarea altui soi de vin astfel încât se pot elimina situațiile în care din cauza condițiilor atmosferice (în special ploi abundente și de durată) să fie compromisă o parte de recoltă de struguri.

Tabelul III.1.12

Rezultatele analizei de varianță (ANOVA) a regresiiilor liniare pentru probele de must Merlot netratate (MT\_M) și tratate cu PEF

ANOVA						
		DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
MT_M	Regression	3	5243.92557	1747.97519	2773.11154	0
MT_M	Residual	21	13.23693	0.63033		
MT_M	Uncorrected Total	24	5257.1625			
MT_M	Corrected Total	23	833.0699			
MT_PEF_21	Regression	3	4813.90236	1604.63412	2416.85257	0
MT_PEF_21	Residual	21	13.94264	0.66394		
MT_PEF_21	Uncorrected Total	24	4827.845			
MT_PEF_21	Corrected Total	23	849.47			
MT_PEF_22	Regression	3	5132.09201	1710.69734	2799.92149	0
MT_PEF_22	Residual	21	12.83059	0.61098		
MT_PEF_22	Uncorrected Total	24	5144.9226			
MT_PEF_22	Corrected Total	23	836.55453			
MT_PEF_23	Regression	3	5755.33211	1918.44404	4307.47373	0
MT_PEF_23	Residual	21	9.35289	0.44538		
MT_PEF_23	Uncorrected Total	24	5764.685			
MT_PEF_23	Corrected Total	23	825.41458			
MT_PEF_24	Regression	3	5174.62005	1724.87335	6199.6475	0
MT_PEF_24	Residual	21	5.84265	0.27822		
MT_PEF_24	Uncorrected Total	24	5180.4627			
MT_PEF_24	Corrected Total	23	949.7201			
MT_PEF_25	Regression	3	5469.91921	1823.3064	3209.96936	0
MT_PEF_25	Residual	21	11.92829	0.56801		
MT_PEF_25	Uncorrected Total	24	5481.8475			
MT_PEF_25	Corrected Total	23	876.7224			

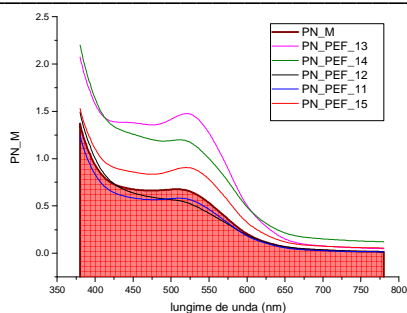
### III.1.2.2. Analiza spectrofotometrică UVVIS a probelor de vin

Probele de vin Pinot Noir (PN) și Merlot (MT) au fost analizate cu un spectrofotometru Shimadzu 1700 PharmaSpec UV-VIS pe domeniul lungimilor de undă 380-780 nm. Scopul analizei a fost de a determina abundența biocomponentelor de tip antociani și proprietățile cromatice ale probelor de vin studiate. Biocomponenții antocianici au domeniul de absorbție VIS între 450 nm și 600 nm, cu centrul în jurul valorii de 520 nm.

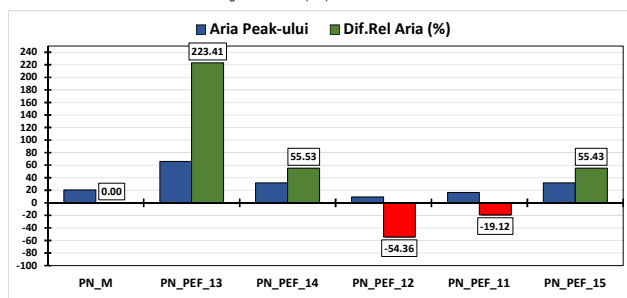
#### III.1.2.2.1. Determinarea abundenței biocomponentelor de tip antociani

Figura III.1.16, prezintă spectrele UVVIS pentru probele de vin Pinot Noir (PN). Proba martor netratată, este marcată prin hașurarea suprafeței dintre spectru și abscisă. Se poate observa că două dintre probele tratate cu în câmp electric pulsatoriu (PEF), PN\_PEF\_12 și PN\_PEF\_11, au absorbanțele spectrelor sub cele ale probei martor. Acest fapt denotă că fenomenul de electroplasmoliză a celulelor din cojile de struguri produce antociani, dar cu abundență nesemnificativ diferită de proba netratată.

Pentru probele PN\_PEF\_13, PN\_PEF\_14 și PN\_PEF\_15, electroplasmoliza (produsă în urma tratamentului în câmp electric pulsatoriu (PEF)) generează antociani cu abundență semnificativ diferită față de proba martor, netratată.

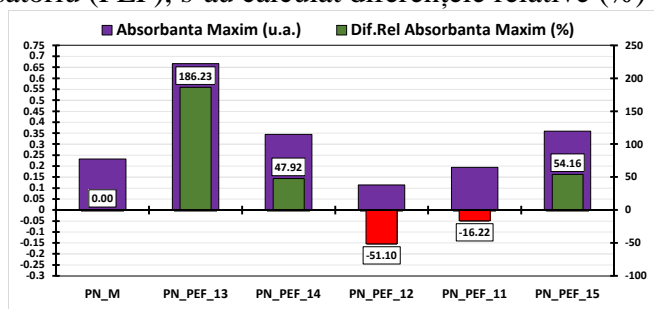


**Figura III.1.16.** Spectrele UVVIS de absorbție ale probelor de vin Pinot Noir (PN) netratate (PN\_M) și tratate cu PEF



**Figura III.1.17.** Ariile peak-urilor UVVIS ale antocianilor și diferențele relative față de proba martor, pentru probele de vin Pinot Noir (PN) netratate (PN\_M) și tratate cu PEF

Toate aceste rezultate calitative sunt descrise cantitativ în **Figurile III.1.17 și III.1.18**. Aceste rezultate au fost obținute prin eliminarea baseline-ului (de tip nelinie) a spectrelor UVVIS și apoi calcularea parametrilor: Aria peak-ului și Absorbanta Maximului peak-ului. Valori ridicate ale acestor parametrii peste cele ale probei martor, denotă o creștere a abundenței antocianilor, deci eficiența electroplasmolizei în producerea de biocompuneți este mai ridicată. Pentru compararea facilă a efectelor electroplasmolizei prin tratament în câmp electric pulsatoriu (PEF), s-au calculat diferențele relative (%) față de probele martor, netratate.

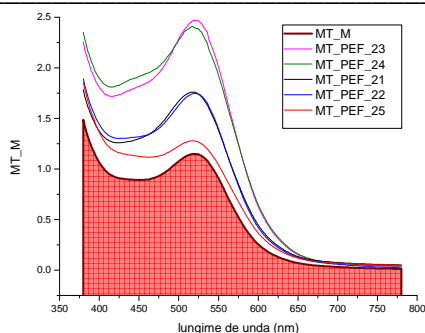


**Figura III.1.18.** Valorile maxime ale absorbanțelor peak-urilor UVVIS ale antocianilor și diferențele relative față de proba martor pentru probele de vin Pinot Noir netratate (PN\_M) și tratate cu PEF

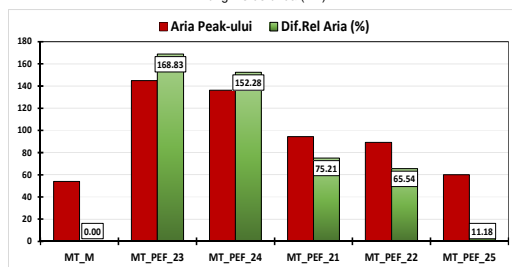
Se remarcă proba PN\_PEF\_13 (**Figurile III.1.17 și III.1.18**) care prezintă diferențe relative de peste 180% pentru cei doi parametrii cantitativi care definesc, în acest caz, eficiența de producere de antociani. Probele PN\_PEF\_14 și PN\_PEF\_15 au diferențe relative de peste 45%, ceea ce duce la prescrierea tratamentelor respective ca **fînd foarte eficiente în producerea de antociani prin electroplasmoliză**.

Probele PN\_PEF\_11 și PN\_PEF\_12 prezintă diferențe negative de -19% și respectiv de -51% ale abundenței antocianilor, ceea ce nu ar trebui să califice tratamentele respective ca fiind eficiente în producerea de antociani prin electroplasmoliză.

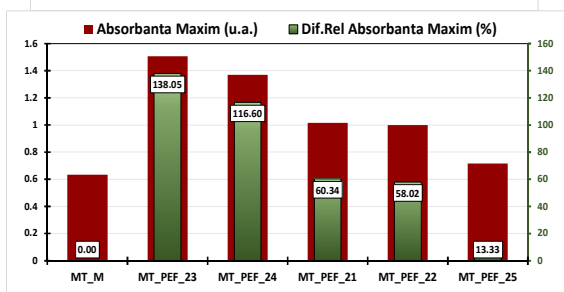
În mod similar se pot analiza și discuta probele de vin Merlot (**Figurile III.1.19, III.1.20. și III.1.21**). Din **Figura III.1.19**, se poate stabili calitativ faptul că toate probele tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) prezintă absorbante superioare față de cele ale spectrului probei martor, MT\_M. Suplimentar, se poate observa o grupare a probelor tratate, pe baza spectrelor UVVIS: primul grup este dat de proba MT\_PEF\_25; al doilea grup este format de probele MT\_PEF\_21 și MT\_PEF\_22, iar al treilea grup este format de probele MT\_PEF\_24 și MT\_PEF\_25.



**Figura III.1.19.** Spectrele UVVIS de absorbție ale probelor de vin Merlot (MT) netratate (MT\_M) și tratate cu PEF



**Figura III.1.20.** Ariile peak-urilor UVVIS ale antocianilor și diferențele relative față de proba martor, pentru probele de vin Merlot (MT) netratate (MT\_M) și tratate cu PEF



**Figura III.1.21.** Valorile maxime ale absorbanțelor peak-urilor UVVIS ale antocianilor și diferențele relative față de proba martor, pentru probele de vin Merlot (MT) netratate (MT\_M) și tratate cu PEF

Aceste observații calitative sunt validate și de parametrii cantitativi ce descriu eficiența de extragere a antocianilor prin electropasmoliză prin tratament în câmp electric pulsatoriu (PEF), (Figurile III.1.20 și III.1.21.). Aceste eficiențe, exprimate prin diferențe relative ale parametrilor față de valorile probei martor, sunt (în valori minime dintre Figura III.1.20 și Figura III.1.21.) de la 13% la 58-60% și respectiv 116-138% pentru grupele de probe amintite anterior.

### III.1.2.2.2. Determinarea proprietăților cromatice

Parametrii cromatici vizați de această analiză sunt cei ai spațiilor cromatice RGB, CIEL\*a\*b\* și CIEL\*C\*h\*. Culoarea vinului se determină în mod standard prin ridicarea spectrelor VIS de reflectanță sau transmitanță cu cuve de 1 mm, 2 mm sau 10 mm grosime – în funcție de intensitatea culorii vinului. În această fază a proiectului s-a utilizat cuva QS de 10 mm pentru toate probele de vin Pinot Noir (PN) și Merlot (MT). Spectrele VIS (380-780 nm) pentru aceste probe de vin sunt prezentate în Figura III.1.22. și Figura III.1.23.

Din spectrele VIS ale probelor de vin au fost determinate coordonatele în spațiile tricromatice: RGB, CIE L\*a\*b\* și CIE L\*C\*h\* prezentate în Tabelul III.1.14., pentru probele de vin Pinot Noir (PN) și Tabelul III.1.16., pentru probele de vin Merlot (MT). Cu aceste rezultate s-au calculat diferențele de culoare: ΔE (CIE L\*a\*b\*) prezentate în Tabelul III.1.15., pentru Pinot Noir (PN) și Tabelul III.1.17., pentru Merlot (MT)- colorarea celulelor din aceste tabele s-a realizat simultan pentru probele de vin – gradientul de culoare este de la verde (valori minime) la roșu (valori maxime) cu trecere prin galben (pentru mediană).

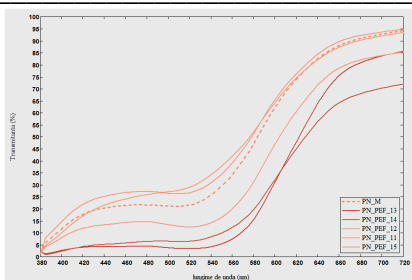


Figura III.1.22. Spectrele UVVIS de transmisie a probelor de vin Pinot Noir (PN) netratate (PN\_M) și și tratate cu PEF

Datele din **Tabelul III.1.14**, sunt în bună concordanță cu cele privitoare la abundența de antociani, fapt așteptat deoarece antocianii sunt pigmenții predominanți în vinuri. Ca urmare abundența mai ridicată de antociani din probele PN\_PEF\_13, PN\_PEF\_14 și PN\_PEF\_15 au generat luminanțe,  $L^*$ , de valori mai mici și cromaticitate  $a^*$  de valori pozitive și mai mari decât cele ale probei martor. Astfel culorile acestor probe sunt de un roșu mai intens decât proba martor. Pe de altă parte, probele PN\_PEF\_11 și PN\_PEF\_12 sunt mult mai pale decât chiar proba martor având luminanța,  $L^*$ , de valori maxime și cromaticitatea  $a^*$  de valori minime.

**Tabelul III.1.14**

Parametrii cromatici ai probelor de vin **Pinot Noir (PN)** netratate (PN\_M) și și tratate cu PEF

Proba	R	G	B	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$	Culoare
PN_M	246	139	112	68.91	37.84	32.06	49.59	40.27	
PN_PEF_13	198	59	46	45.96	54.21	39.52	67.08	36.10	
PN_PEF_14	194	81	53	49.03	43.60	38.64	58.26	41.55	
PN_PEF_12	247	155	116	72.62	30.18	34.89	46.13	49.14	
PN_PEF_11	249	151	126	72.00	34.39	28.71	44.80	39.86	
PN_PEF_15	222	108	92	59.00	43.24	29.69	52.45	34.47	

**Tabelul III.1.15.**

Diferențele de culoare,  $\Delta E$  (CIE  $L^*a^*b^*$ ), pentru probele de vin **Pinot Noir (PN)** netratate (PN\_M) și și tratate cu PEF

$\Delta E$ (CIE $L^*a^*b^*$ )	PN_M	PN_PEF_13	PN_PEF_14	PN_PEF_12	PN_PEF_11	PN_PEF_15
PN_M	0.000	29.158	21.720	8.972	5.713	11.535
PN_PEF_13	29.158	0.000	11.073	36.187	34.460	19.667
PN_PEF_14	21.720	11.073	0.000	27.402	26.665	13.401
PN_PEF_12	8.972	36.187	27.402	0.000	7.500	19.578
PN_PEF_11	5.713	34.460	26.665	7.500	0.000	15.760
PN_PEF_15	11.535	19.667	13.401	19.578	15.760	0.000

Rezultatele prezentate în **Tabelul III.1.15**, arată faptul că diferența de culoare,  $\Delta E$  (CIE  $L^*a^*b^*$ ), a probelor PN\_PEF\_13, PN\_PEF\_14 și PN\_PEF\_15 este foarte mare (chiar un ordin de mărime, în valori absolute) față de proba martor. Probele PN\_PEF\_11 și PN\_PEF\_12, produc diferențe mici de culoare, dar semnificative (! *Mai mari decât 5,000 unități se consideră semnificativ cromatic*) față de proba martor. Cu toate acestea dacă se urmăresc diferențele de culoare ale acestor probe față de celelalte trei cu tratament în câmp electric pulsatoriu (PEF), se pot observa valori foarte mari. Acest fapt întărește concluzia dată prin analiza abundenței de antociani (din spectrele de absorbție), și anume că, doar probele PN\_PEF\_13, PN\_PEF\_14 și PN\_PEF\_15 prezintă abundențele cele mai ridicate de antociani, deci tratamentele acestora au eficiențele cele mai mari de extracție de biocompunenți.

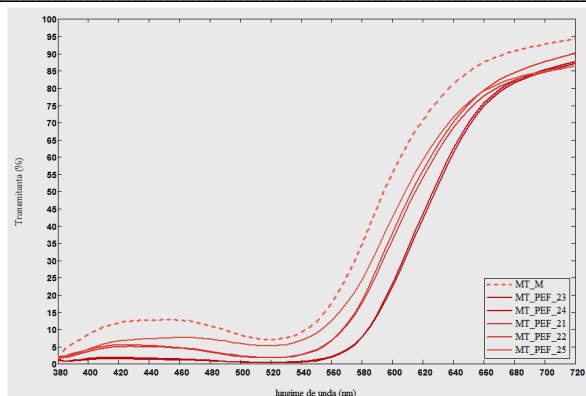


Figura III.1.23. Spectrele UVVIS de transmisie a probelor de vin Merlot (MT) netratate (MT\_M) și și tratate cu PEF

Datele din **Tabelul III.1.16.**, arată că toate probele tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) au generat luminanțe,  $L^*$ , cu valori mai mici și cromaticitate  $a^*$  de valori pozitive și mai mari decât cele ale probei martor. Astfel culorile acestor probe sunt de un roșu mult mai intens decât proba martor.

**Tabelul III.1.16.**

Parametrii cromatici ai probelor de vin Merlot (MT) netratate (MT\_M) și și tratate cu PEF

Proba	R	G	B	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$	Culoare
MT_M	239	95	87	59.12	55.11	33.44	64.47	31.25	
MT_PEF_23	186	1	17	38.65	63.19	46.66	78.55	36.44	
MT_PEF_24	183	5	9	38.29	62.06	49.18	79.18	38.40	
MT_PEF_21	208	51	51	47.05	60.31	38.43	71.51	32.51	
MT_PEF_22	212	52	48	47.77	60.97	40.72	73.32	33.74	
MT_PEF_25	218	79	64	52.88	53.55	38.09	65.72	35.42	

**Tabelul III.1.17** susține discuția anterioară prin faptul că diferența de culoare,  $\Delta E$  (CIE  $L^*a^*b^*$ ), a tuturor probelor de vin Merlot (MT) tratat este foarte mare (chiar un ordin de mărime, în valori absolute) față de proba martor. Suplimentar, prezența a trei grupări de probe de vin tratat este validată și de determinările cromatice, anume prin diferențe foarte mici (sub 5,000 unități) dintre probele din aceeași grupare. Prin urmare, se poate concluziona, la fel ca și din analiza spectrofotometrică a antocianilor, că toate probele de vin Merlot tratat în câmp electric pulsatoriu, prezintă abundențele cele mai ridicate de antociani și culorile cele mai intense ( $L^*$  cu valorile cele mai mici și  $a^*$  cu valorile cele mai mari, pozitive), deci tratamentele acestora au eficiențele cele mai mari de extracție de biocompauzi.

**Tabelul III.1.17.**

Diferențele de culoare,  $\Delta E$  (CIE  $L^*a^*b^*$ ), pentru probele de vin Merlot (MT) netratate (MT\_M) și și tratate cu PEF

$\Delta E$ (CIE $L^*a^*b^*$ )	MT_M	MT_PEF_23	MT_PEF_24	MT_PEF_21	MT_PEF_22	MT_PEF_25
MT_M	0.000	25.674	27.017	14.059	14.704	7.940
MT_PEF_23	25.674	0.000	2.790	12.106	11.107	19.204
MT_PEF_24	27.017	2.790	0.000	13.974	12.751	20.202
MT_PEF_21	14.059	12.106	13.974	0.000	2.484	8.925
MT_PEF_22	14.704	11.107	12.751	2.484	0.000	9.383
MT_PEF_25	7.940	19.204	20.202	8.925	9.383	0.000

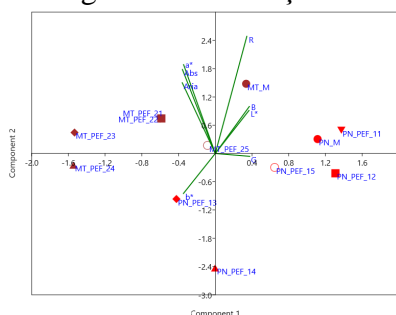
### III.1.2.2.3. Analiza multivariată

Pentru a surprinde legăturile dintre parametrii biochimici (abundența antocianilor) și cromatici, s-a recurs la analiza multivariată de tip PCA (Principal component Analysis). Caracteristicile statistice ale componentelor principale (**Tabelul III.1.18**), sugerează ca fiind suficiente primele două componente principale pentru ca analiza să fie consecventă, având în vedere că varianța totală explicată de acestea este de peste 96%.

Caracteristicile statistice ale componentelor principale din analiza multivariată

Componentele Principale	Valoarea proprie	Varianta (%)
1	7.29077	91.135
2	0.423066	5.2883
3	0.222619	2.7827
4	0.0610138	0.76267
5	0.00145949	0.018244
6	0.00082755	0.010344
7	0.00021325	0.0026656
8	2.64E-05	0.00033002

În **Figura III.1.24.**, este prezentată reprezentarea rezultatelor PCA sub formă biplot pentru soiurile de struguri Pinot Noir și Merlot, netratate (PN\_M și MT\_M) și tratate cu PEF.



**Figura III.1.24.** Reprezentarea rezultatelor PCA sub formă biplot

Analiza PCA a avut ca date de intrare matricea de corelație dintre parametrii considerați: Abs și Aria (absorbanta și aria maximului caracteristic antocianilor) care definesc abundența antocianilor; parametrii cromatici R, G, B, L\*, a\* și b\*. Ca urmare, acești parametrii se corelează puternic prin unghiurile mici dintre vectorii asociați din biplot. Suplimentar, vârful vectorilor asociați parametrilor indică direcția cu abundența/valorile cele mai mari ale acestora se regăsesc în probele de vin din aceea direcție. În mod antagonist, direcția opusă desemnează probele cu abundență/valorile cele mai mici ale acestor parametrii.

Parametrii care se corelează puternic, pozitiv între ei sunt: L\* și B; Aria, Abs și a\*. Parametrii L\* și B se corelează puternic negativ cu parametrul a\*.

Probele de vin roșu care prezintă valori mari ale parametrilor a\*, Abs și Aria, în conjuncție cu valorile mici ale parametrului L\*, sunt cele care au cea mai mare abundență de biocomponente (în acest caz antociani) și pot fi considerate alimente funcționale. Din acest punct de vedere, pe primul loc s-ar găsi probele MT\_PEF\_21, MT\_PEF\_22, MT\_PEF\_23 și MT\_PEF\_24, urmate de MT\_PEF\_25, PN\_PEF\_13 și PN\_PEF\_14. Restul probelor PN\_PEF\_11, PN\_PEF\_12 și PN\_PEF\_15 sunt apropiate mult prea mult de martorul respectiv (PN\_M) și astfel nu diferă atât de mult în proprietăți.

### III.1.3. Evaluare senzorială

Evaluarea senzorială s-a făcut pentru probe de vin vinificate prin procedeu clasic, ca proba martor și tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF). Evaluarea s-a făcut prin două metode:

a) **Metoda cu punctaj** conform sistemului Uniunii Internaționale a Oenologilor cu următoarele încadrări:

- Sub 50 de puncte, defect;
- Intre 51-60- cu deficiente;
- Intre 61-70- acceptabil;
- Intre 71-80 – bun;
- Intre 81-90 – foarte bun;
- Intre 91-100- excelent.



b) **Metoda descriptivă**, metodă prin care a fost descrisă fiecare caracteristică a produsului obținut.

Ambele metode au avut în vedere evaluarea vizuală, olfactivă, gustativă și armonia caracteristicilor în ansamblu.

#### **Soiul de struguri Pinot-Noir:**

1. **PN\_M** (proba martor)\_Evaluare prin punctaj **UIO 78 puncte**

- vizual, limpede, slab colorat, roșu de cireșe coapte;
- olfactiv, intensitate medie, miros de cireșe, fructuozitate medie, miros vegetal și fenolic;
- gustativ, cireșe proaspete, dulce acrișor și nuanță de mere stătute, tipicitate medie și de calitate medie.

2. **PN\_PEF\_11**\_Evaluare prin punctaj **UIO 81 puncte**

- vizual, limpede culoare tipică deschisă dar evoluată;
- olfactiv, miros proaspăt vegetal cu ușoare nuanțe de mirodenii și persistență aromată;
- gustativ, cireșe roșii supracoapte, fructe albe ușor dulceag echilibrat tipic dar evoluat calitate medie.

3. **PN\_PEF\_12**\_Evaluare prin punctaj **UIO 83 puncte**

- vizual, intensitate colorată slabă, limpede;
- olfactiv, proaspăt cu note florale și de mirodenii un pic fenolic;
- gustativ, cireșe un pic dulceag fără astringență, tipic de soi calitate bună;

4. **PN\_PEF\_13**\_Evaluare prin punctaj **UIO 86 puncte**

- vizual, limpede, bine colorat cu nuanță susținută de roșu de cireșe negre;
- olfactiv, miros proaspăt, mirodenii cu nuanțe vegetale, aromă persistentă;
- gustativ, gust de fructe roșii evaluate în speță cireșe negre, aciditate medie, destul de echilibrat, structurat cu tipicitate de areal și puțin fenolic.

5. **PN\_PEF\_14**\_Evaluare prin punctaj **UIO 87 puncte**

- vizual, roșu mediu colorat, limpede cu nuanță proaspătă;
- olfactiv, miros proaspăt și fructuos cu nuanțe vegetale și aromă persistentă;
- gustativ, fructe roșii, cireșe, vișine cu structură fină astringență vegetală, bine integrată și cu tipicitate de sol și areal.

6. **PN\_PEF\_15**\_Evaluare prin puncte **UIO 85 puncte**

- vizual, limpede, intensitate colorantă medie spre scăzută de roșu de cireșe;
- olfactiv proaspăt, nuanțe ușor vegetale și de mirodenii, cu persistență aromată;
- gustativ, plin corect, specific de cireșe supracoapte, aciditate medie, echilibrat cu tipicitate de soi și areal.

#### **Soiul de struguri Merlot**

1. **MT\_M** (proba martor)\_Evaluare prin punctaj **UIO 78 puncte**

- vizual, limpede, intensitate medie, nuanță deschisă de roșu proaspăt de vișină;
- olfactiv, miros mediu, cu fructuozitate slabă de cireșe, zmeură cu nuanțe vegetale;
- gustativ, fructe roșii, cu aciditate fără astringență cu structură medie și tipicitate de areal.

2. **MT\_PEF\_21**\_Evaluare prin punctaj **UIO 83 puncte**

- vizual, limpede roșu bine colorat cu nuanță deschisă;
- olfactiv, intensitate medie fără fructuozitate, miros de mirodenii, vegetal, persistent;
- gustativ, corp mediu, vegetal agresiv, plin, mure, zmeură, afine, cu caracter de soi și terroir.

3. **MT\_PEF\_22**\_Evaluare prin punctaj **UIO 85 puncte**

- vizual, limpede, destul de colorat, nuanță medie;
- olfactiv, destul de neutral cu ușoare note florale, fructuos cu aromă persistentă;

- gustativ, gust de fructe roșii de pădure, mură zmeură capșuni, evoluat, aciditate mai rotundă și mai multă astringență, tipicitate și calitate de ansamblu medie.
4. **MT\_PEF\_23**\_Evaluare prin punctaj UIO 84
- vizual, limpede cu un roșu de intensitate medie și nuanță colorată medie;
  - olfactiv, miros proaspăt fără fructuozitate cu nuanțe vegetale și mediu fenolic;
  - gustativ plin, zmeură verde, mure, capșune ardei, aciditate evidentă, astringență medie, structură și tipicitate medie.
5. **MT\_PEF\_24**\_Evaluare prin punctaj UIO 87 puncte
- vizual, intensitate colorantă medie, limpede nuanță roșu viu;
  - olfactiv, miros proaspăt intensitate medie, fructuozitate, codimentat și fenolic;
  - gustativ, fructe de pădure, cireșe zmeură mure, aciditate medie, mai plin și corpulent, tipicitate și calitate bună.
6. **MT\_PEF\_25**\_Evaluare prin punctaj UIO 83 puncte
- vizual, limpede bine colorat, nuanță roșu de cireșe coapte;
  - olfactiv, intensitate medie fără fructuozitate, miros fenolic;
  - gustativ, gust de fructe de pădure, zmeură mure căpșuni, aciditate medie, puțin mai lung, nuanță ușoară de astringență cu tipicitate și structură medie.
- 

### **Bibliografie**

[1]. Marsellés-Fontanet, A.R., Puig-Pujol, A., Olmos, P., Mínguez-Sanz, S., & Martín-Belloso, O. (2013) - *A comparison of the effects of pulsed electric field and thermal treatments on grape juice*. Food and Bioprocess Technology, 6, 978–987.

[2]. Donsì, F., Ferrari, G., & Pataro, G. (2010) - *Applications of pulsed electric field treatments for the enhancement of mass transfer from vegetable tissue*. Food Engineering Reviews, 2, 109–130.

[3]. Knorr, D., Angersbach, A., Eshtiaghi, M. N., Heinz, V., & Lee, D. U. (2001) - *Processing concepts based on high intensity electric field pulses*. Trends in Food Science & Technology, 12, 129–135.

[4]. López, N., Puértolas, E., Condón, S., Álvarez, I., & Raso, J. (2008) - *Application of pulsed electric fields for improving the maceration process during vinification of red wine: Influence of grape variety*. European Food Research and Technology, 227, 1099–1107.

[5]. López, N., Puértolas, E., Hernández-Orte, P., Álvarez, I., & Raso, J. (2009) - *Effect of a pulsed electric field treatment on the anthocyanins composition and other quality parameters of Cabernet Sauvignon freshly fermented model wines obtained after different maceration times*. LWT— Food Science and Technology, 42, 1225–1231.

[6]. Puértolas, E., López, N., Condón, S., Álvarez, I., & Raso, J. (2010) - *Potential applications of PEF to improve red wine quality*. Trends in Food Science & Technology, 21, 247–255.

[7]. Toepfl S., Heinz V., Knorr D., (2006) - *Applications of pulsed electric fields technology for the food industry*. In: Raso J, Heinz V, editors. Pulsed electric fields technology for the food industry. New York: Springer, 197–222.

[8]. Aronsson K., Rönner U., (2001) - *Influence of pH, water activity and temperature on the inactivation of Escherichia coli and Saccharomyces cerevisiae by pulsed electric fields*. Innov Food Sci Emerg Technologies, 2, 105–112.

[9]. Gásková D., Sigler K., Janderová B., Plásek J., (1996) - *Effect of high-voltage electric pulses on yeast cells: factors influencing the killing efficiency*. Bioelectrochem Bioenerget, 39, 195–202.

[10]. Boulton, R. B. (2001) - *The copigmentation of anthocyanins and its role in the colour of red wine*. A critical review. American Journal of Enology and Viticulture, 55, 67–87.

- [11]. Ribichaud, J. L., & Noble, A. C. (1990) - *Astringency and bitterness of selected phenolic in wines*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 53, 343–353.
- [12]. Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005) - *Dietary polyphenols and prevention of diseases*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45, 287–306.
- [13]. Lorrain, B., Ky, I., Pechamat, L. and Teissedre, P.L., (2013) - *Evolution of Analysis of Polyphenols from Grapes, Wines, and Extracts*. Molecules, 18, 1076-1100.
- [14]. Monagas, M., Bartolome, B. and Gomez-Cordoves, C. (2005) - *Update Knowledge about the Presence of Phenolic Compounds in Wine*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45, 85-118.
- [15]. Gusman, J., Malonne, H. and Atassi, G. (2001) - *A Reappraisal of the Potential Chemopreventive and Chemotherapeutic Properties of Resveratrol*. Carcinogenesis, 22, 1111-1117.
- [16]. Esparza, I., Santamaria, C., Calvo, M.I. and Fernández, J.M. (2009) - *Composition and Analysis of Colloidal Matter along Wine-Making, Exploitation of Its Antioxidant Activity in Final Stabilization Residues*. Microchemical Journal, 91, 32-39.
- [17] Boulton, R. (2001) - *The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role in the Color of Red Wine: A Critical Review*. American Journal of Enology and Viticulture, 52, 67-87.
- [18] Auger, C., Al-Awwadi, N., Bornet, A., Rouanet, J.M., Gasc, F., Cros, G. and Teissedre, P.L. (2004) - *Catechins and Procyanidins in Mediterranean Diets*. Food Research International, 37, 233-245.
- [19]. Fincan M., [Francesca DeVito](#), [Dejmek P.](#), (2004) - *Pulsed electric field treatment for solid-liquid extraction of red beetroot pigment*. [Journal of Food Engineering, Volume 64, Issue 3](#), 381–388.
- [20]. Kumar S., Agarwal N., Raghav P., (2016) - *Pulsed electric field processing of foods - a review*. International Journal of Engineering Research and Modern Education (IJERME). Volume I, Issue I, 2016, 111 -118.

### III.2. Algoritmi eficienți de soluționare a problemei de câmp electromagnetic în mustială/boștină cuplate cu problema de difuzie termică

Tehnologia de tratare a boștinei în câmp electromagnetic necesită evaluarea intensității câmpului electric, răspunzător de străpungerea membranei celulei, precum și a încălzirii boștinei. Depășirea unor temperaturi limită poate compromite calitatea produsului tratat, deoarece pot fi distruși fermenții necesari fermentării și deci a obținerii vinului.

În fazele anterioare ale acestei cercetări, a fost studiat câmpul electric într-un mic domeniu cubic, în care se înscrie celula sferică din coaja strugurelui. Evident, a fost ales un model ideal, dar au fost obținute câteva rezultate calitative importante.

Soluționarea problemei de câmp electric și termic în întreaga masă a boștinei este deosebit de dificilă, în primul rând datorită faptului că este necesar să se stabilească parametrii de material electrici și termici necesari scrierii ecuațiilor câmpurilor electrice și termice.

#### III.2.1. Stabilirea parametrilor fizici ai boștinei

Dacă adoptăm pentru o celulă domeniul simplu 3D din **Figura III.2.1**, atunci câmpul electrocinetic poate fi ușor calculat și se poate determina fluxul densității de curent pe capacul de sus (deci curentul  $i$ ). De aici rezultă, o rezistivitate echivalentă, folosind formula

$$R = \rho \frac{S}{L} = \rho L \frac{V_b}{i}$$
. Dimensiunile sunt:  $d_c=70 \mu\text{m}$  pentru diametrul unei celule,  $L=84 \mu\text{m}$  pentru dimensiunea domeniului de calcul și  $l_m=5 \text{ nm}$ , grosimea membranei. Proprietățile fizice ale celor 3 medii de calcul sunt date în **Tabelul III.2.1**.

Tabelul III.2.1.

Proprietăți fizice			
	Extra celular	Membrane	Intra celular
Permitivitate relativa	$\epsilon_r=78$	$\epsilon_{r,m}=f \times 2 = 40$	$\epsilon_{r,c}=78$
Conductivitate electrica	$\sigma=1.2 \text{ mS/cm}$	$\sigma_m=f \times 3 \cdot 10^{-6}=6 \times 10^{-5} \text{ mS/cm}$	$\sigma_c=1.2 \text{ mS/cm}$

Deoarece grosimea membranei este foarte mică, generarea rețele FEM este deosebit de dificilă. Am ales o grosime mai mare de  $f$  ori decât grosimea reală ( $f=200$ ), dar au fost modificate și proprietățile fizice ale membranei (vezi coloana 2 din **Tabela III.2.1.**)

În **Figura III.2.2** este prezentat câmpul electric din problema electrocinetică, luând în considerare membrana celulei. Dacă admitem că membrana celulei nu este străbătută de curent (condiție de frontieră Neumann) atunci densitatea de curent este coliniară cu câmpul electric, rezultatele sunt prezentate în **Figura III.2.3.a** și **Figura III.2.3.b**. Analizând **Figura III.2.2** și **Figura III.2.3.a**, se constată că nu este nicio diferență importantă. Această asemănare este datorată conductivității foarte mari a membranei celulei. Această asemănare rezultă și din rezultatele obținute pe un model 2D, în faza anterioară (**Figura III.2.4.**). Rezultă fluxul densității de curent  $I = 6.1511 \times 10^{-6} \text{ A}$ , de unde rezistența domeniului unei celule  $R = U/I = 0,1625 \text{ M}\Omega$  Tensiunea aplicată fiind de 1V. De aici, ținând cont de dimensiunile domeniului cubic, rezultă rezistivitatea echivalentă:  $\rho = 13.65 \Omega m$ .

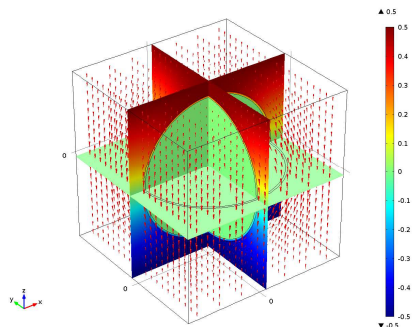


Figura III.2.2. Câmpul electric din problema electrocinetică

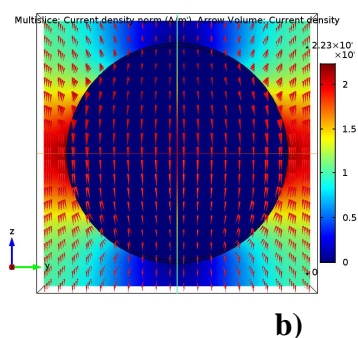
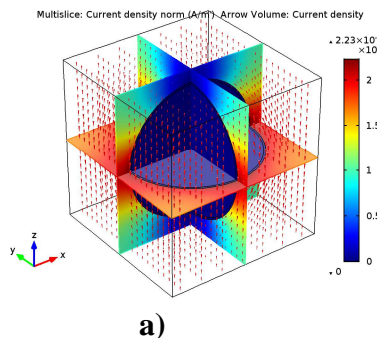


Figura III.2.3. Densitatea de curent

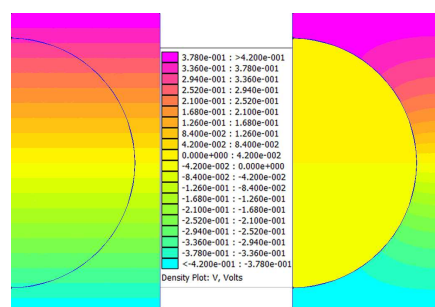


Figura III.2.3. Echipotențialele în problema de electrostatică și electrocinetică

Din **Figura III.2.3** rezultă că influența membranei este neglijabilă din punct de vedere al câmpului electrostatic.

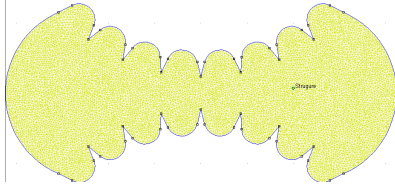
Din păcate, nu au fost găsiți parametrii termici ai boștinei. Ca urmare, au fost aleși parametrii apei: conductibilitatea termică  $\lambda = 0.59 \text{ W/m}^0\text{C}$  și capacitatea termică volumică  $c = 4.18 \cdot 10^6 \text{ W/m}^3/0\text{C}$ .

### III.2.2. Soluționarea problemei de difuzie termică

Ecuția difuziei termice este:

$$-\nabla\lambda\nabla T + c \frac{\partial T}{\partial t} = p \quad (\text{III.2.1})$$

unde:  $p$  sunt pierderile specifice ce rezultă din soluționarea problemei de câmp electric. Se adoptă metoda elementului finit (FEM). Domeniul este cel din **Figura III.2.4**, care reprezintă o parte din boștina cuprinsă între cei doi tamburi. Dată fiind structura tamburilor, modelul 2D este cel mai potrivit. In acest caz se pot importa datele problemei și rețeaua FEM din programul FEMM.



**Figura III.2.4.** Domeniul de calcul

Condițiile de frontieră sunt:

- pe dantura superioară temperatura este nulă  $D_s$ ;
  - pe dantura inferioară temperatura este nulă  $D_i$ ;
  - pe arcele de cerc laterale, presupuse ca fiind linii de câmp ale densității de flux termic,
- $$-\lambda \frac{\partial T}{\partial n} = 0$$

Se scrie temperatura ca funcție liniară de funcțiile de formă  $\Phi_k$ , pe care le alegem funcții nodale de ordinul 1, pentru toate nodurile diferite de frontierele Dirichlet  $D_s$  și  $D_i$ :

$$T = \sum_{k=1}^N \alpha_k(t) \Phi_k \quad (\text{III.2.2})$$

$$\Phi_k = \begin{cases} \dots \\ 1 + \mathbf{T}_i \cdot \mathbf{r}, \text{ in } \omega_i \\ \dots \end{cases} \quad (\text{III.2.3})$$

cu (**Figura III.2.5**):

$$\mathbf{T}_i = \frac{\mathbf{k} \times \mathbf{r}_{i,i+1}}{2S_i} \quad (\text{III.2.4})$$

unde:  $\omega_i$  este domeniul ce conține nodul  $k$  (**Figura III.2.5**),  $\mathbf{r}_{i,i+1} = \mathbf{r}_{k,i+1} - \mathbf{r}_{k,i}$  și  $\mathbf{k}$  este versorul axei  $Oz$ .

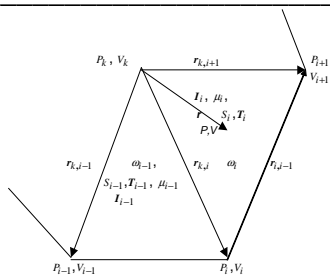


Figura III.2.5. Subdomeniile triunghiulare

Avem și

$$\nabla \varphi_k = \begin{Bmatrix} \dots \\ T_i, [n\omega_i \\ \dots \end{Bmatrix} \quad (III.2.5)$$

Scriem și pierderile specifice în funcție de  $\varphi_k$ :

$$p = \sum_{k=1}^N p_k(t) \varphi_k \quad (III.2.6)$$

Proiectând relația (III.2.1) pe funcțiile test  $\varphi_n$  alese egale cu funcțiile de formă, și integrând prin părți rezultă:

$$\int_{\Omega} \lambda \nabla \varphi_n \cdot \nabla T ds + \int_{\Omega} c \varphi_n \frac{\partial T}{\partial t} ds = \int_{\Omega} \varphi_n p ds \quad (III.2.7)$$

Sau

$$\lambda \sum_{k=1}^N \alpha_k \int_{\Omega} \nabla \varphi_n \cdot \nabla \varphi_k ds + c \sum_{k=1}^N \frac{d\alpha_k}{dt} \int_{\Omega} \varphi_n \varphi_k ds = \sum_{k=1}^N p_k \int_{\Omega} \varphi_n \varphi_k ds \quad (III.2.8)$$

unde

$$a_{n,k} = \int_{\Omega} \nabla \varphi_n \cdot \nabla \varphi_k ds; \quad b_{n,k} = \int_{\Omega} \varphi_n \varphi_k ds; \quad c_n = \sum_{k=1}^N p_k \int_{\Omega} \varphi_n \varphi_k ds \quad (III.2.9)$$

Forma numerică a ecuației difuziei (III.2.1) este:

$$\sum_{k=1}^N a_{n,k} \alpha_k + \sum_{k=1}^N b_{n,k} \frac{d\alpha_k}{dt} = c_n \quad (III.2.10)$$

Integrarea numerică în domeniul timp se face prin metoda trapezelor:

$$\left( \sum_{k=1}^N a_{n,k} \alpha_k(t_{i+1}) + \sum_{k=1}^N a_{n,k} \alpha_k(t_i) \right) \frac{1}{2} + \frac{1}{\Delta t_i} \sum_{k=1}^N b_{n,k} (\alpha_k(t_{i+1}) - \alpha_k(t_i)) = c_n \quad (III.2.11)$$

unde:  $\Delta t_i = t_{i+1} - t_i$  este pasul de timp, care se poate corecta în timpul calculului, în funcție de variația de temperatură (dacă este prea mare, se micșorează, iar dacă este prea mică se mărește). Am presupus că pierderile specifice sunt constante în timp (vezi problema de câmp electric). Este mult mai precis ca la fiecare pas de timp să se determine diferența de temperatură:

$\Delta T_i = T_{i+1} - T_i$ , deci diferențele  $\Delta \alpha_k = \alpha_k(t_{i+1}) - \alpha_k(t_i)$ , folosind sistemul de ecuații

$$\frac{1}{2} \sum_{k=1}^N a_{n,k} \Delta \alpha_k + \frac{1}{\Delta t_i} \sum_{k=1}^N b_{n,k} \Delta \alpha_k = c_n - \sum_{k=1}^N a_{n,k} \alpha_k(t_i) \quad (III.2.12)$$

Apoi:

$$\alpha_k(t_{i+1}) = \Delta \alpha_k + \alpha_k(t_i) \quad (III.2.13)$$

La  $t=0$ , se ia  $T_0=0$ .

Problema de câmp electric este dată de regimul cvasistaționar anamagnetic al câmpului electromagnetic ( $\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} = 0$ , în legea inducției electromagnetice). În fazele anterioare s-a dovedit că soluția asimptotică este obținută foarte rapid, deci, cu o bună aproximație se poate adopta regimul electrocinetic (soluția asimptotică). Domeniul de calcul este același cu cel din problema termică, cu diferența că pe dantura interioară se alege potențialul de 100 V. În acest caz, relația (III.2.2) se modifică astfel:

$$V = V_0 + \sum_{k=1}^N \alpha_k(t) \varphi_k \quad (\text{III.2.14})$$

unde  $V_0 = 100$  V pe dinte. Evident, și  $V_0$  se exprimă cu ajutorul funcțiilor de formă:

$$V_0 = 100 \sum_{f=1}^{N_f} \varphi_f \quad (\text{III.2.15})$$

unde:  $f$  este indice de nod de pe frontiera Dirichlet  $D_i$ , iar  $N_f$  este numărul acestor noduri.

Pierderile specifice sunt nule, deci membrul drept al ecuației (III.2.1) este nul. După ce se obțin potențialele nodurilor, se determină intensitatea câmpului electric din fiecare triunghi și apoi pierderile specifice, constante în fiecare triunghi.

Pentru ambele probleme se folosește aceeași rețea de discretizare, deci aceleași funcții de formă. Cum mediile sunt omogene, matricele sistemelor problemelor electrocinetice și de câmp termic diferă doar printr-un factor.

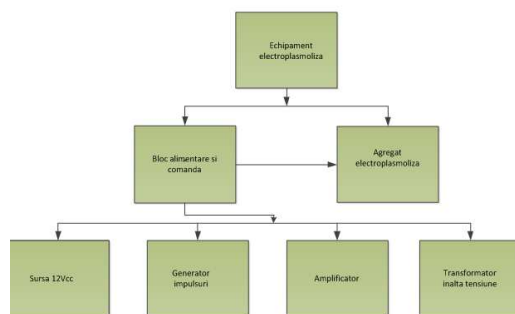
### III.3. Elaborare documentație model funcțional

Având în vedere rezultatele obținute în Etapa II/2015 s-a trecut la elaborarea documentației pentru modelul funcțional. Modelul funcțional pentru tratarea boștinei prin electroplasmoliză se compune din:

- Bloc de alimentare și comanda :
  - Sursa 12Vcc,5A
  - Generator impulsuri
  - Amplificator
  - Transformator înaltă tensiune
- Agregat electroplasmoliză

Schema bloc a instalației este prezentată în **Figura III.3.1**.

Blocul de alimentare și comandă permite alimentarea cu impulsuri de înaltă tensiune (2-8 kV) a celor două perechi de tamburi ai dispozitivului în care are loc procesul de electroplasmoliză la trecerea boștinei. Circuitul pentru generarea impulsurilor de înaltă tensiune, a fost simulat în Pspice și se bazează pe circuitul integrat NE555 [1] în configurație de astabil.



**Figura III.3.1.** Schema bloc a instalației

Semnalul de comanda acționează un tranzistor IGBT ISL9V5036P3 în conexiune emitor comun, unde sarcina este inductivă și formată din primarul bobinat pe miezul de ferită al transformatorului de linii HR7977. Primarul este alimentat la maxim 5V, deoarece sursa folosită poate furniza un curent de maxim 5A. Transformatorul de linii este modelat folosind două bobine cuplate, două rezistențe, două condensatoare și o diodă.

La ieșirea din transformatorul de linii este conectată o rezistență de 10 M $\Omega$  pentru a simula mersul în gol al transformatorului. Elementele principale ale agregatului pentru electroplasmoliză sunt:

- Suportul agregatului;
- Tamburii cu geometrie specială;
- Ansamblu colector-port, perii-perii pentru conectarea continuă a tamburilor la blocul de alimentare și comandă;
- Ansamblu de acționare (rotire) a tamburilor cu roți dințate;
- Bena de alimentare.

Suportul agregatului este realizat din țevă rectangulară de 30x30x2, în construcție sudată și acoperit prin grunduire și vopsire. Pe suport se montează toate componentele agregatului. Acesta este astfel realizat încât permite modificarea distanței dintre axele celor doi tamburi prin schimbarea setului de roți dințate de acționare (pentru a asigura amorsarea procesului de electroplasmoliză).

Au fost determinate forma și dimensiunile tamburilor. Forma dintelui și numărul de dinți pentru un tambur.

S-a luat în considerare două variante constructive: cu 24 de dinți la 15 grade și cu 30 de dinți la 12 grade, păstrând distanța dintre axe de 80mm, dată de mecanismul de antrenare.

Tamburul are un diametru de 84,8mm, 30 de dinți, ascuțiți la vârf sub un unghi de aprox. 30 de grade, pentru a asigura o descărcare electrică pe vârful dintelui. Golul dintelui are un diametru de 7,95 mm, în prima variantă.

Tamburul are un diametru de 83mm, 32 de dinți, ascuțiți la vârf sub un unghi de aprox. 18,5 grade pentru a asigura o descărcare electrică pe vârful dintelui. Golul dintelui are un diametru de 6,8 mm în a doua variantă.

S-a determinat forma canalelor și a dinților tamburilor pentru o distanță minimă de 2,6 mm între vârful dintelui și gol.

Din secțiune se observă că distanța minimă dintre vârful dintelui unui tambur și golul dintre doi dinții celuilalt tambur este de 2,6 mm. Profilul dintelui este astfel determinat încât distanța se păstrează constantă prin rotirea celor 2 tamburi în sensuri contrare cu ajutorul unei transmisii de roți dințate cu dinți drepți cu  $z=40$  și modul 2. Distanța dintre axe este de 80 mm. Pe generatoarele dinți sunt înclinați la 12 grade, pentru ca la rotirea tamburului sfârșitul unui dinte să corespundă cu începutul dintelui următor.

Ansamblu colector-port, perii-perii pentru conectarea continuă a tamburilor la blocul de alimentare și comandă, asigură legătura electrică a tamburilor cu sursa de alimentare.

Ansamblu de acționare (rotire) a tamburilor cu roți dințate, asigură rotirea în sens contrar a celor 2 perechi de tamburi. În funcție de distanța dintre axe se pot schimba roțile dințate.

Bena de alimentare, asigură alimentarea și dirijarea (conducerea) boștinei către cele două perechi de tamburi.

Modelarea matematică cu ajutorul programului FEMM pentru simularea în regim electrostatic a procesului (densitatea de câmp) la o pereche de tamburi cu geometria de mai sus la distanța de 2,5mm între vârful și golul de dinte și respectiv 7 mm între vârfuri (**Figura III.3.2.** și **Figura III.3.3.**).

- Potențialele pe tamburi: +50V / -50V.
- Permitivitate relativă struguri: 1



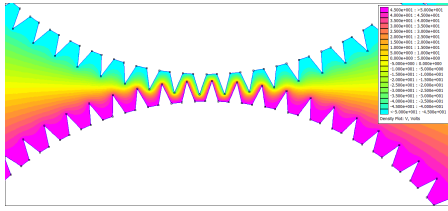


Figura III.3.2.

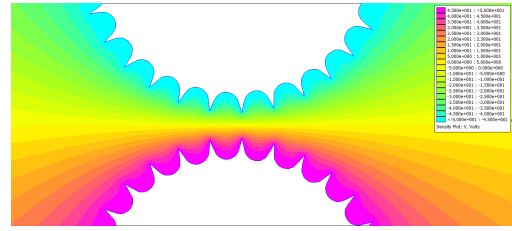


Figura III.3.3.

### III.4. Realizarea și experimentarea modelului funcțional preliminar pentru tratarea mustelii/boștină prin electroplasmoliză

Pentru început s-a realizat un model cu distanța între axe de 80 mm și cu lățimea tamburilor de 10 mm (Figura III.4).

S-a utilizat din material plastic pentru a putea urmări traiectoria unui dinte și păstrarea constantă a distanței (practic a fantei prin care trece boștina). După determinarea formei corecte a dintelui s-au realizat 4 bucăți de tamburi pentru modelul funcțional care se montează pe un suport-sașiu. Tamburii au lățimea de 45mm și 30 dinți înclinați la 12° față de generatoare și sunt alimentați la sursa de tensiune pulsatorie. Cele două perechi de tamburi sunt montate în V pentru a asigura împingerea boștinei (Figura III.5).

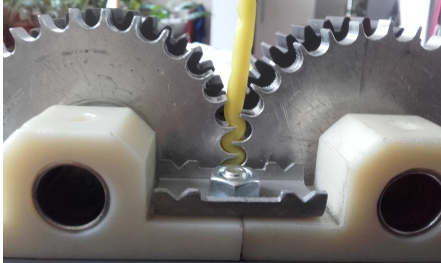


Figura III.4.

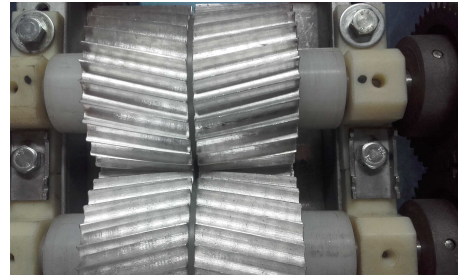


Figura III.5.

Echipamentul realizat este prezentat în Figura III.6.

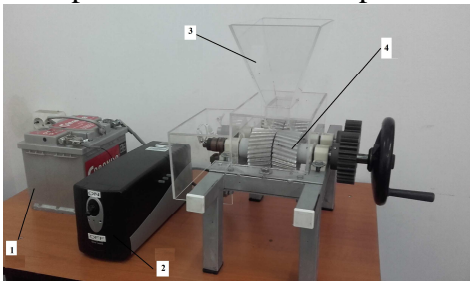


Figura III.6. Stand experimental pentru tratarea mustelii/boștină:

1- sursa de alimentare; 2- bloc de comandă; 3- benă; 4- subansamblu tamburi

Sursa de alimentare este un acumulator de 12Vcc, 70 Ah. Blocul de comandă are următoarea componență: sursa de înaltă tensiune în impulsuri, întrerupătorul ON-OFF și butoanele de reglaj tensiune și frecvență.

Pentru a măsura tensiunea la ieșirea transformatorului de linii, a fost folosit un divizor rezistiv format din 20 de rezistențe de 1MΩ și una de 1kΩ rezultând un raport de transformare de 1:2000. Pentru achiziția semnalelor a fost folosit un osciloscop LECROY Wavesurfer 422.

Determinările experimentale s-au efectuat la Universitatea din Oradea cu participarea celor 3 parteneri ai proiectului. S-au efectuat experimentări pe două soiuri de struguri: Merlot și Pinot Noir pentru două distanțe între tamburi 2,5 mm între vârf și gol și 7 mm între vârfurile celor două perechi de tamburi aflați în mișcare de rotație.

În Tabelul III.4. sunt prezentați parametrii de lucru pentru determinările experimentale efectuate.

Tabelul III.4.

Nr. proba	Soi vin	Distanța a tamburi	Omogenizare probe	Setare câmp pulsatoriu	Tensiune	Durata puls	Frecvența	Ordine a efectuării	Alte observații
P1	Pinot Noir	7 mm	nu	1	7kV	150 s	178Hz	1	PN_PEF_11
P2	Pinot Noir	7 mm	nu	2	8kV	300 s	344Hz	2	PN_PEF_12
P3	Pinot Poir	2,5 mm	nu	1	7kV	150 s	178Hz	3	PN_PEF_13
P4	Pinot Noir	2,5 mm	da	2	8kV	300 s	344Hz	4	PN_PEF_14
P5	Pinot Noir	2,5 mm	nu	2	8kV	300 s	344Hz	5	PN_PEF_15
P6	Merlot	7 mm	nu	1	7kV	150 s	178Hz	6	MT_PEF_21
P7	Merlot	7 mm	nu	2	8kV	300 s	344Hz	7	MT_PEF_22
P8	Merlot	2,5 mm	nu	1	7kV	150 s	178Hz	8	MT_PEF_23
P9	Merlot	2,5 mm	nu	2	8kV	300 s	344Hz	9	MT_PEF_24
P10	Merlot	2,5 mm	da	2	8kV	300 s	344Hz	10	MT_PEF_25

▪ toate probele au fost trecute de 2 ori prin agregatul de plasmoliză timpul mediu de trecere pentru o cantitate de 200 ml boștină (un polonic) 10-12 secunde pentru distanța de 7mm și 150-180 secunde pentru distanța de 2,5mm.

### III.5. Stabilire flux tehnologic pentru soiurile de struguri care se pretează cel mai bine la tratarea prin electroplasmoliză

Tehnologia de vinificare primară a constat din:

- desciorcinare, urmărind îndepărtarea ciorchinilor, astfel încât să separăm boabele;
- zdrobirea boabelor având grijă să nu spargem semințele care ar fi adus suplimentar taninuri;
- boabele zdrobite le-am separat pe soiuri și pe variante de tratament;
- separarea mustului s-a făcut după două zile de la tratament.

#### Fermentarea

Fermentare s-a făcut separat pe probe în damigene de sticlă protejate cu dop de fermentere. Drojdiile utilizate au fost **Lallemand** cu putere mare alcooligenă și rezistență la temperaturi scăzute. Fermentarea a fost protejată, temperatura de fermentație a fost menținută la 18...20 °C. Durata fermentației a fost între 11 și 14 zile.

**Separarea drojdiilor și stabilizarea.** La terminarea fermentării s-a procedat la separarea drojdiei prin pritor deschis, separând vinul limpede. După separarea drojdiei prin pritor am procedat la protejarea cu metabisulfid de potasiu 150 mg/litru și tratament cu bentonită de un gram pe litru.

După 12 zile de limpezire vinurile aproape toate au reacționat pozitiv și au fost transferate prin pritor închis în sticle de 750 ml, vinurile în final fiind limpezi și stabile.

#### III.5.1. Vinificarea strugurilor din soiul Pinot Noir

Strugurii din soiul Pinot Noir au fost recoltați din localitatea Sântimreu, comuna Sălard, județul Bihor, din producția anului 2016. Pinot Noirul este un soi deficitar în antociani și din aceste considerente este necesar un transfer cât mai complet de culoare.

Vinificarea a început cu o separare a boabelor de ciorchine pentru a evita transferul de acid malic și tanin responsabil de astringența agresivă care ar afecta gustul și postgustul.

Boabele de struguri au fost zdrobite cu un zdrobitor reglat cu distanțe de 3 mm astfel încât să realizeze spargerea boabelor fără a sparge și semințele care ar avea ca și consecință transferul de uleiuri sicative cu influență negativă în limpezirea ulterioară și stabilitate precum și influențe negative organoleptice în posibilă apariție a gustului de ranced.

Mustuiala rezultată prin zdrobirea boabelor compusă din must, piele și semințe, a fost fracționată pe probe (5 probe a câte 10 kg fiecare și o probă martor) care au urmat fiecare un alt procedeu de macerare.

Macerarea clasică a fost făcută în vase închise timp de șapte zile, în fiecare zi amestecând pielițele în masa mustului și stimulând astfel enzimele proteolitice care trec protopectina în pectină solubilă, dizolvând astfel membrana celulară și eliberând antocianii. Acest proces a fost protejat împotriva oxidării prin tratament cu metabisulfid de potasiu care eliberează treptat în prezența acidității mustului dioxidul de sulf care este un puternic antioxidant.

Macerarea în urma procedurii PEF (câmp electric pulsatoriu), am aplicat-o în mai multe variante așa cum rezultă din descrierea procedurilor, afectând membrana celulelor pieleiței încă de la prima aplicare, astfel că am putut trece la separarea mustului imediat (a doua zi) după aplicarea tratamentului.

Presarea în condiții de laborator a fost aplicată utilizând o presă mecanică manuală pe principiu hidraulic cu șurub, cu presare în două reprize și separarea mustului de tescovină.

Fermentarea în damigene de sticlă cu gol de fermentare în care am dozat drojdiile Lallemend uscate dar hidratate în prealabil conform indicațiilor tehnice. Protecția în fermentare a fost realizată cu dop de fermentare care a asigurat eliminarea bioxidului de carbon, fără a permite accesul aerului exterior. Temperatura de fermentare a fost variabilă între 18-21 °C, corectă pentru vinul roșu. Durata fermentației a fost de 11 zile, timp în care am verificat transformarea zaharurilor în alcool pe baza substanței uscate.

Separarea drojdiilor a fost realizată prin pritor închis, astfel încât să protejăm vinul de oxidare. Operația de limpezire și stabilizare proteică a fost realizată prin cleire cu bentonită, cu doza de 1g /litru și protecție antioxidativă cu dioxid de sulf utilizând metabisulfid de potasiu în doză de 150 mg /litru.

Pritocul final al vinului limpezit și stabilizat a fost realizat după 12 zile când depozitul de bentonită a fost realizat după depunerea integrală a gelului din suspensie. Separarea s-a făcut închis cu transvazare în sticle mai mici astfel încât să putem preleva probe pentru analiză pe toată perioada derulării proiectului.

### **III.5.2. Vinificarea strugurilor din soiul Merlot**

Strugurii din soiul Merlot au fost recoltați din localitatea Sântimreu, comuna Sălard, județul Bihor, din producția anului 2016. Soiul de struguri Merlot este un soi versatil, cu acumulare consistentă atât de zaharuri cât și de antociani.

Vinificarea a început cu o separare a boabelor de ciorchine pentru a evita transferul de acid malic și tanin responsabil de astringența agresivă care ar afecta gustul și postgustul.

Boabele de struguri au fost zdrobite cu un zdrobitor reglat cu distanțe de 3 mm astfel încât să realizeze spargerea boabelor fără a sparge și semințele care ar avea ca și consecință transferul de uleiuri sicative cu influență negativă în limpezirea ulterioară și stabilitate precum și influențe negative organoleptice în posibilită apariție a gustului de rânțed.

Mustiala rezultată prin zdrobirea boabelor compusă din must, pieleițe și semințe a fost fracționată pe probe (5 probe a câte 10 kg fiecare și o probă martor) care au urmat fiecare un alt procedeu de macerare.

Macerarea clasică a fost realizată în vase închise timp de șapte zile, în fiecare zi amestecând pielițele în masa mustului și stimulând astfel enzimele proteolitice care trec protopectina în pectină solubilă, dizolvând astfel membrana celulară și eliberând antocianii. Acest proces a fost protejat împotriva oxidării prin tratament cu metabisulfid de potasiu care eliberează treptat în prezența acidității mustului dioxidul de sulf, care este un puternic antioxidant.

Macerarea în urma procedurii PEF (câmp electric pulsatoriu), a fost aplicată în mai multe variante, așa cum rezultă din descrierea procedurilor, afectând membrana celulelor pieleiței încă de la prima aplicare, astfel că am putut trece la separarea mustului imediat a doua zi după aplicarea tratamentului.

Presarea în condiții de laborator a fost aplicată utilizând o presă mecanică manuală pe principiu hidraulic cu șurub, cu presare în două reprize și separarea mustului de tescovină.

Fermentarea în damigene de sticlă cu gol de fermentare în care am dozat drojdia Lallemand uscate dar hidratate în prealabil conform indicațiilor tehnice. Protecția în fermentare a fost realizată cu dop de fermentare care a asigurat eliminarea bioxidului de carbon, fără a permite accesul aerului exterior. Temperatura de fermentare a fost variabilă între 18-21 °C, corectă pentru vinul roșu. Durata fermentației a fost de 12 zile timp în care am verificat transformarea zaharurilor în alcool pe baza substanței uscate.

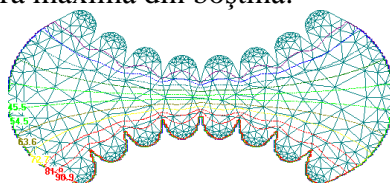
Separarea drojdiilor a fost realizată prin pritor închis, astfel încât să protejăm vinul de oxidare. Operația de limpezire și stabilizare proteică a fost realizată prin cleire cu bentonită cu doză de 1g /litru și protecție antioxidativă cu dioxid de sulf utilizând metabisulfid de potasiu în doză de 150 mg /litru.

Pritocul final al vinului limpezit și stabilizat a fost făcut după 12 zile când depozitul de bentonită a fost realizat, după depunerea integrală a gelului din suspensie. Separarea s-a făcut închis cu transvazare în sticle mai mici astfel încât să putem preleva probe pentru analiză pe toată perioada derulării proiectului.

### III.6. Testare și definitivare Pachet programe WINETECH de soluționare a câmpului electromagnetic

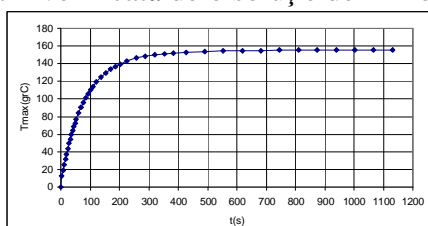
Soluția problemei de câmp electrocinetic este ilustrată în **Figura III.6.1.** Rețeaua FEM este cea din **Figura III.3.2.**, dar, pentru a putea distinge liniile echipotențiale, în posprocesorul elaborat de către partenerul P2 (Universitatea Politehnica București), a fost aleasă o rețea mult mai rară.

Cu pierderile specifice rezultate din problema electrocinetică, a fost soluționată problema de difuzie termică. Nu am considerat că este util să se țină cont de deplasarea tamburilor (în etapele precedente, a fost folosit programul FEMM în problema electrostatică și deplasarea a rezultat printr-o succesiune de probleme statice). Încălzirea ce rezultă din tamburii staționari, determină viteza de rotație a tamburilor, astfel încât temperatura să nu depășească o valoare limită. În **Figurile III.6.2.a-III.6.2.n**, sunt prezentate izotermele în funcție de timp, specificându-se și temperatura maximă din boștină.



**Figura III.6.1.** Liniile echipotențiale în problema electrocinetică

Din rezultatele prezentate rezultă un fapt extrem de important: după cca. 300 s se ajunge la temperatura asimptotică și, în continuare, temperatura se răspândește pe masa de boștină. Evoluția în timp a temperaturii maxime este dată în **Figura III.6.2.** Temperatura maximă de 25 °C se atinge după cca 12 s. De aici rezultă că viteza de rotație a tamburilor trebuie astfel aleasă încât boștina să se deplaseze cu un pas dentar în cca 12 s. Dacă însă, tensiunea de alimentare crește de  $k$  ori, pierderile cresc de  $k^2$  ori și, datorită liniarității ecuației (III.2.1), aceasta va fi verificată de o soluție de  $k^2$  ori mai mare.



**Figura III.6.2.** Evoluția în timp a temperaturii maxime

### III.7. Elaborare documentație sursă de tensiune pentru model funcțional

Sursa de tensiune pentru modelul funcțional se compune din:

- Generator de înaltă frecvență RFG – 1K;
- Adaptor de impedanță
- Generator impulsuri;
- Amplificator;
- Transformator ridicător de tensiune.

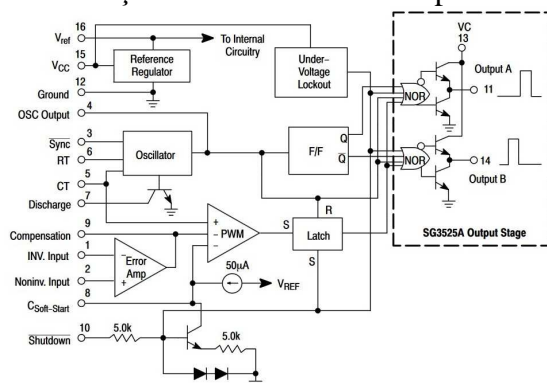
Generatorul de înaltă frecvență RFG 1K (1kW/1000 Watt) face parte din gama generatoarelor de înaltă eficiență. Acestea sunt echipamente de precizie destinate aplicațiilor științifice și industriale. Construcția lor robustă, folosind cele mai noi tehnici referitoare la modulele de comutație și proiectarea tip solid-state a circuitelor electronice asigură o durată de viață crescută și o funcționare lipsită de probleme chiar și în medii dificile.

- Puterea la ieșire a generatorului este complet ajustabilă între zero și puterea maximă. Sistemul de control tip feedback asigură ca puterea la ieșire să fie constantă și valoarea ei să poată fi reprodusă. Măsurătorile puterii undei incidente și a celei reflectate sunt calibrate la nivel intern pentru a oferi o acuratețe cât mai mare pe întregul interval al puterii de ieșire.
- O tensiune aplicată din exterior de 0 până la 5 volți poate fi utilizată pentru a controla puterea la ieșire.

*Caracteristici Principale:*

- Design standard tip rack;
- Tensiunea de operare: 110-240 V;
- Dimensiuni L: 502mm x H: 88mm x l: 482mm;
- Control de înaltă precizie a puterii (complet ajustabil între 0 și puterea maximă);
- Operare cu impulsuri rapide de la intrarea TTL/CMOS;
- Controlul extern al tensiunii de ieșire (util în aplicații de acoperire prin pulverizare catodică);
- Sistemul de control tip feedback asigură ca puterea la ieșire să rămână constantă și valoarea ei să poată fi reprodusă;
- Măsurătorile puterii undei incidente și a celei reflectate sunt calibrate la nivel intern pentru a oferi o acuratețe cât mai mare pe întregul interval al puterii de ieșire;
- Afișaj valori putere undă incidentă, putere undă reflectată, putere totală, reglaj.
- Frecvențe disponibile (2MHz, 13.56MHz, 27.12MHz și 40.68MHz) în mod standard.

Generatorul de impulsuri are la bază circuitul integrat SG3525A care este capabil să genereze impulsuri cu factor de umplere variabil într-o gamă largă de frecvențe (100 Hz - 400 kHz). Frecvențele folosite sunt în plaja 100 – 300 Hz. Circuitul integrat necesită foarte puține componente electronice exterioare și poate opera cu tensiuni de alimentare în plaja 8,0 – 35 Vcc. Schema bloc funcțională a circuitului este prezentată în **Figura III.7.1.**



**Figura III.7.1.**

Amplificatorul de putere este cel care amplifică impulsurile generate și comandă înfășurarea primară a transformatorului de impulsuri ridicător de tensiune. Este constituit din doi

tranzistori cu efect de câmp ce funcționează în paralel. Tranzistorii au fost astfel aleși încât căderea de tensiune drenă-sursă, atunci când sunt în conducție, să fie foarte mică,  $RDS(on) = 13m\Omega$ . De asemenea frecvența de comutare suportată este foarte mare ceea ce conduce la pierderi foarte mici de comutație, tipul tranzistorilor este IRF 2807.

Transformatorul ridicător de tensiune permite creșterea tensiunii furnizate de sursa de alimentare (12Vcc) până la valoarea de max. 8 kV.

Transformatorul este alimentat în impulsuri cu factor de umplere variabil în funcție de tensiunea dorită la ieșirea instalației. Valoarea până la care crește curentul în înfășurarea primară și deci, tensiunea în înfășurarea secundară depind de durata impulsului furnizat de circuitul SG3525A și amplificat în curent de etajul amplificator de putere.

Transformatorul este constituit dintr-o înfășurare primară, formată din 200 - 300 de spire din sârmă de cupru izolată, de circa 1mm grosime, înfășurate pe un miez de fier moale, și o înfășurare secundară care are 15.000... 20.000 de spire, făcute dintr-o sârmă de cupru izolată foarte subțire (0,1 mm grosime).

Caracteristicile transformatorului sunt :

- tensiune normală a înfășurării primare (amplitudine impuls)  $12 + 0,2V$ ;
- rezistența înfășurării primare de  $1,954 \Omega$ ;
- rezistența înfășurării secundare de  $3880 \Omega$ ;
- curentul maxim în primar 3A;
- puterea de cca. 36W.

Evaluarea tensiunii secundare a transformatorului poate fi făcută astfel:

- se consideră că pentru distanța de 1mm între electrozii unui eclator la presiune normală și în atmosferă uscată, corespunde o tensiune de aproximativ 3000 V, va rezulta ca:
  - la 3mm corespunde o tensiune de aproximativ 6000 V;
  - la 5mm corespunde o tensiune de aproximativ 8500 V;
  - la 13mm corespunde o tensiune de aproximativ 16200V

## **Concluzii**

Cercetările efectuate în cadrul acestei etape au condus la concluzia că utilizarea câmpului electric pulsatoriu (PEF) în procesul de producere a vinurilor poate fi considerată o tehnologie nouă. Prin această metodă se obțin vinuri roșii cu un conținut mai ridicat de compuși polifenolici, se reduce timpul de macerare, crește intensitatea culorii în toate cazurile studiate.

Timpul de macerare pentru probele netratate 14 zile iar pentru probele tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) a fost de 11 zile, temperatura de fermentație a fost menținută la  $18...20^{\circ}C$ . Pentru toate probele au fost utilizate drojdiile **Lallemand** cu putere mare alcooligenă și rezistență la temperaturi scăzute.

Prin utilizarea tratamentului (PEF) s-a constatat o creștere a capacității antioxidante a mustului pentru ambele soiuri de struguri. Rezultatele cele mai semnificative au fost obținute atunci când distanța dintre tamburi a fost de 2,5 mm.

Compuși polifenolici se regăsesc în vinuri în cantitate mai mică de aproximativ 3 ori comparativ cu mustul. Probelor de vin se respectă aceeași ordine cu privire la cantitatea în compuși polifenolici care s-au determinat ca și în cazul mustului. În ordine descrescătoare în cazul vinului Pinot Noir se găsesc probele: PN\_PEF\_14 > PN\_PEF\_13 > PN\_PEF\_15 > PN\_PEF\_12 > PN\_M > PN\_PEF\_12. În cazul vinului Merlot, în ordine descrescătoare sunt următoarele probe: MT\_PEF\_24 > MT\_PEF\_25 > MT\_PEF\_23 > MT\_PEF\_22 > MT\_M > MT\_PEF\_21.

Cea mai mare cantitate de flavonoide se găsește în mustul provenit de la strugurii Pinot Noir (2339.032 mg CE/L), în timp ce în cazul mustului provenit de la strugurii Merlot cantitatea a fost de (1690.251 mg CE/L).

În cazul mustului Pinot Noir, tratamentul cu PEF a avut ca rezultat o scădere a acestor compuși cu 15,19%, respectiv 26,63% pentru probele PN\_PEF\_11, respectiv PN\_PEF\_12.

Micșorarea distanțelor dintre tamburi de la 7 mm la 2,5 mm, a avut ca rezultat o extracție mult mai eficientă a flavonoidelor, conținutul în acești compuși fiind crescut cu 64,53% și 63,86% în probele PN\_PEF\_13, respectiv PN\_PEF\_14, comparativ cu martorul (PN\_M). Introducerea etapei de centrifugare, înainte de tratamentul cu PEF a avut ca rezultat o creștere de 7,29% (PN\_PEF\_15) comparativ cu martorul.

Tratamentul cu PEF a mustuielii provenite de la strugurii Merlot a avut ca rezultat o creștere în compuși flavonoidici în cazul tuturor probelor.

Cantitatea cea mai mare de pigmenți antocianici a fost întâlnită la mustul Merlot, de 155,09 mg/L, în timp ce în mustul Pinot Noir a fost doar 75,35 mg/L.

Cantitatea de pigmenți antocianici este mai mică (6,32%, respectiv 14,30%), în cazul probelor tratate PEF, atunci când distanța dintre tamburi este mare (7 mm), în timp ce la distanță mai mică se observă o creștere semnificativă (39,28% și 43,27%).

În cazul tratamentului PEF la strugurii Merlot, s-a înregistrat la toate variantele experimentale creșteri în pigmentul antocianic.

În urma tratamentului cu PEF în cazul strugurilor Merlot, s-a constatat o creștere a concentrației de compuși polifenolici totali, cu excepția probei MT\_PEF\_21 (U=7 kV, f=178 Hz) unde concentrația acestora a scăzut. Prin creșterea tensiunii și a frecvenței (U=8 kV, f=344 Hz) și prin micșorarea distanței dintre tamburi, concentrația de compuși polifenolici a crescut cu 8,19% față de martor. În urma etapei de centrifugare creșterea a fost mult mai mare 38,562% (MT\_PEF\_25). Utilizarea câmpului electric pulsatoriu (PEF) a facilitat extragerea polifenolilor din pielețele de struguri în timpul macerării. Pentru a vedea dacă nivelurile ridicate de compuși polifenolici contribuie la ridicarea calității vinului, acesta a fost depozitat în sticle și expus la îmbătrânire. Vinurile obținute vor fi monitorizate timp de un an de zile.

**Etapa IV. Definitivare algoritmi și programe de soluționare a problemelor de electroplasmoliză. Realizarea și experimentare modelului funcțional bazat pe electroplasmoliză. Stabilire flux tehnologic. Demonstrarea funcționalității și utilității modelului funcțional. Diseminare rezultate**

**IV.1. Analiza mustuielii/boștinei comparativ tratată-netratată pentru două soiuri de struguri reprezentativi (albi și roșii)**

#### **IV.1.1. Introducere**

Vinul (din latină – *vinum*) este o băutură ce a fost legat în Antichitate de divinități, având un rol foarte important în religiile orientale și nu numai. Chiar și creștinismul îi acordă rolul simbolic de „sângele lui Iisus” în anumite ritualuri.

Tot de cultura viței de vie și de dezvoltarea industriei viticole, se poate lega descoperirea primelor reacții chimice (fermentare, oxidare). Singurul fruct care are tendința naturală de a fermenta, fiind bogat în zahăr și conținând un suc abundent, este strugurele.

În secolul XX (mai ales după cele două războaie mondiale), în Europa s-a înregistrat o creștere importantă a consumului de vin. Tot în acest timp se extinde foarte mult producția viței de vie în Australia, Statele Unite, Noua Zeelandă și Africa de Sud. Astăzi, la nivel mondial, vinificația este o ramură de bază a industriei, fiind formată din 7,5 milioane de hectare de cultură de viță de vie, o producție anuală de aproximativ 250 de milioane de hectolitri și un consum cuprins între 235 – 245 milioane de hectolitri. Cifrele statistice prezentate subliniază importanța vinului în alimentația omului zilelor noastre, fiind considerată ca singurul aliment fără aditivi alimentari. Tehnologiile de fabricare a vinurilor, are reguli foarte stricte în modalitățile de obținere a aromelor și a culorii.

Efectuarea de vinuri de calitate și de înaltă calitate este cunoscută ca o afacere consumatoare de timp, și prin urmare, cu costuri mari. În cele din urmă, este în interesul vinificatorului să accelereze fermentația (conversia în alcool) și maturarea (pentru a conferi aromele complexe) și să producă în același timp o băutură de înaltă calitate cu gustul dorit, buchetul și culoarea dorită.

Ținând cont de cele prezentate mai sus, referitor la rolul important pe care îl au vinurile în alimentația noastră de zi cu zi, această lucrare se dorește a fi o analiză pertinentă și documentată științific din punct de vedere coloristic, a două tipuri renumite de vin roșu Pinot Noir și Merlot, care sunt dintre cele mai consumate la ora actuală.

Conținutul de pigmenți antocianici, are un rol fundamental în calitatea culorii multor fructe și legume proaspete, dar și prelucrate. Astfel, măsurarea exactă a antocianilor împreună cu *indicii lor de degradare*, este foarte utilă pentru tehnologii alimentare și enologi, în evaluarea calității alimentelor brute sau prelucrate. Deoarece mulți coloranți naturali alimentari sunt derivați ai antocianinei (de exemplu, extract de piele de struguri, extract de varză roșie, extract de morcovi purpurii), aceleași măsurători pot fi utilizate pentru a evalua calitatea culorii acestor ingrediente alimentare. Conținutul de antociani din produsele alimentare are efecte benefice asupra sănătății, cum ar fi: reducerea riscului la apariția bolilor cardiace și coronariene, îmbunătățirea acuității vizuale, îmbunătățirea activităților antioxidante și a activităților anticanceroase, scăderea riscului sau încetinirea evoluției unor boli cum ar fi Parkinson sau Alzheimer. Vinul conține o gamă largă de substanțe ușor asimilabile organismului cum ar fi: alcoolul etilic, glicerina, acizii organici, esterii, taninii, proteinele, aminoacizii, vitaminele, sărurile minerale, zaharurile. În cantități mici, vinul are un efect pozitiv asupra aparatului digestiv, circulator și sistemului nervos.

Culoarea vinului depinde de tipul, soiul, vârsta și sortimentul din care face parte. Culoarea vinului este determinată de compușii fenolici (tanini, antociani, flavonoide), iar nuanța de combinarea diferitelor culori sau modificări la care sunt supuse substanțele colorante sub acțiunea unor factori (pH, aciditate, alcool, învechire). Vinurile roșii sunt clasificate în funcție de



culoare: roșu luminos, roșu albastrui, roșu brun. Culoarea vinului este influențată de o multitudine de factori cum ar fi: soiul, anul de recoltă, gradul de maturare a strugurilor, starea de sănătate, tehnologia de vinificație, vârsta, condițiile de păstrare. Culorile vinului pot fi mai intense sau mai palide [7].

În cadrul cercetărilor efectuate am luat în considerare 3 soiuri de struguri: **MUSCAT OTTONEL** (strugure de culoare galben-pai), **PINOT NOIR** (strugure de culoare roșie), **MERLOT** (strugure de culoare roșie).

Din 50 de kg de struguri vinificați în condiții de laborator s-au obținut următoarele cantități:

- **PINOT NOIR** vinificat prin desciorchinare, zdrobire și presare s-au obținut 34 de litri ceea ce reprezintă 68 %;

- **MERLOT** vinificat prin desciochinare, zdrobire și presare s-au obținut 36 de litri reprezentând 72 %.

În urma tratamentului PEF datorită macerării mai complete volumul de vin a crescut cu 0,5 litri în cazul soiului **PINOT NOIR** și cu 0,7 litri în cazul soiului **MERLOT**.

Randamentul a fost de 68% în cazul soiului **PINOT NOIR** respectiv 72% în cazul soiului **MERLOT**.

Separarea mustului s-a făcut prin presare cu presa mecanică de laborator. Presarea s-a repetat pentru fiecare sarjă de două ori.

#### **IV.1.2. Soiul de struguri MUSCAT OTTONEL**

Soiul de struguri Muscat Ottonel este originar din Franța. În România se cultivă în majoritatea podgoriilor datorită calităților sale.

Bobul de strugure este de mărime mijlocie de formă sferică, pielița este subțire de culoare galben-verzuie, miezul este crocant, cărnos, are perioada de vegetație între 160-210 zile până la maturare. Perioada de maturare a strugurilor are loc în intervalul 20.09-05.10, poate acumula mari cantități de zaharuri 200-280 g/l. Vinul obținut este un vin alb de calitate superioară, demidulce și dulce.

#### **IV.1.3. Soiul de struguri PINOT NOIR**

Pinot Noir este derivat din cuvintele franceze pentru pin și negru, pinul făcând aluzie la soiul de struguri. Strugurele are formă cilindrică, aripat, compact, de mărime mică, având greutatea medie de 90 – 100 de grame. Bobul este sferic și mic, cu pielița groasă, de culoare negru – albastrui, miezul este zemos și cu un gust specific. Este cultivat în special în regiunile mai răcoroase, dar strugurii Pinot Noir sunt asociați în principal cu regiunea Burgundiei din Franța. Nivelul scăzut de compuși fenolici, le conferă producătorilor un vin cu un conținut redus de pigmenți, de culoare închisă. Strugurii au o formă cilindrică sau cilindro – conică, cu boabe dese și de mărime mică. Pelița bobului este groasă, de culoare negru -albastruie și intens pruinată. Vinul Pinot Noir are o culoare roșie, spre rubiniu închis. Gustul vinului este unul foarte plăcut, cu un buchet dezvoltat. Conținutul de zahăr este aproximat undeva la 210 – 220g/litru, iar la supracocere 240 – 260g/litru.

#### **IV.1.4. Soiul de struguri MERLOT**

Merlot este un soi de struguri folosit în industria vinului, boabele au culoare albastru închis. Boabele sunt dese, dar nu înghesuite, au dimensiuni cuprinse între 14 – 18 cm sunt de formă cilindro – conică. Pelița este groasă, fiind rezistentă la transport. Dacă strugurii se supracoc, crește cantitatea de zaharuri dar va fi afectată intensitatea culorii vinului. Randamentul acestui soi în must este scăzut, reprezentând circa 74% din greutatea strugurilor. Vinurile roșii conțin antioxidanți care protejează celulele din corpul uman. Vinurile roșii, precum Merlot, conțin mai mult resveratrol decât vinurile albe. De asemenea, un studiu a arătat că vinurile din soiul Merlot conțin cea mai mare concentrație de transpiceid, derivat din resveratrol.

Antioxidanții din vinurile roșii pot preveni problemele de sănătate, cum ar fi cancerul, tensiunea arterială crescută, colesterolul ridicat. Soiul Merlot este foarte rezistent la secetă și temperaturi joase.

#### **IV.1.5. Analiza mustuielii/boștinei comparativ tratată-netratată**

Utilizarea tehnologiilor tradiționale pentru prelucrarea diferitelor produse alimentare, se bazează pe procese termice, care sunt proiectate să inactiveze diferite microorganisme și să îmbunătățească diferiți parametri. În ultimul timp, căutarea metodei alternative de procesare, a devenit mai frecventă și vizează obținerea vinurilor de calitate.

Prin metode mecanice de concasare, obținem o masă eterogenă, constând din must, pieliță, semințe și, în unele cazuri, clustere. După zdrobire, mustul începe să se îmbogățească cu componentele conținute în pieliță, semințe, grupe și părți ale țesutului celular care a rămas întreg după zdrobire. Componentele bioactive din struguri, sunt foarte benefice pentru sănătate și prin urmare, extracția lor în timpul procesării, până la obținerea vinului, este foarte importantă.

Realizarea vinurilor roșii, diferă față de aceea a vinurilor albe. Tehnologia de obținere a vinurilor roșii prezintă câteva diferențe, cum ar fi eliminarea ciorchinilor și zdrobirea boabelor pentru ruperea pielii, precum și fermentarea mustului împreună cu boabele zdrobite.

Inspectarea fermentației la vinurile roșii, are o importanță majoră, deoarece de modul în care se face macerarea mustuielii este influențată concentrația substanțelor tanice din vin precum și culoarea acestuia. După ce în must s-a produs fermentarea, are loc și ravacitul vinului roșu, adică separarea vinului nou, nefermentat complet, de pe boștină. Acest proces se realizează când căciula se lasă și începe limpezirea. Momentul ravacitului diferă în funcție de tipul vinului dorit, mai ales în funcție de intensitatea culorii pe care producătorul vrea să o obțină. Sunt câteva tipuri de vinuri roșii, care se pot obține prin procedeul cunoscut sub numele de *macerarea carbonică*. În acest procedeu, boabele de struguri se pun întregi în vasele de fermentare. Boabele întregi care se află deasupra, zdrobesc boabele de struguri care se află dedesubt. Vasul de fermentare se închide ermetic cu bioxid de carbon, lăsându-se la fermentat și marcerat timp de 8 – 20 de zile.

Tehnologia *PEF – Pulsed Electric Field*, este o alternativă la prelucrarea tradițională, deoarece această aplicație poate asigura o bună calitate a produselor și o eficiență energetică. În aplicațiile PEF, compușii funcționali extrași din produsele alimentare pot fi măriți, iar microorganismele care contaminatează produsele alimentare în timpul procesării, pot fi inactivate. Aceste proprietăți sunt considerate avantajoase de către producătorii de băuturi alcoolice. Tehnologia PEF este utilizată pentru tratarea vinului de struguri dar și în controlul creșterii microbiene a vinului de struguri, a berii și a vinului de orez.

În cazul vinului prin aplicarea tratamentului PEF se obține o creștere a conținutului de compuși fenolici și antociani, se obține o intensificare a intensității culorii. Această pretratare influențează ușor caracteristicile organoleptice ale probelor. Tehnologia PEF este, de asemenea, un instrument eficient de sterilizare a vinului de struguri, a berii și a vinului de orez. Cu această aplicație, calitatea acestor trei băuturi alcoolice poate fi asigurată, deoarece tehnologia PEF este o tehnologie nontermică.

Tratarea mustului la diferite forme de unde este una dintre cele mai utilizate metode inovative de separare solid – lichid. Utilizarea câmpului electric pulsator (PEF) a fost studiată în literatura de specialitate și s-a demonstrat că prin combinația dintre efectul presiunii și electroosmoză se obține un efect benefic asupra calității produsului final.

Tratamentul PEF contribuie la inactivarea microorganismelor din produs prin electropolarea membranelor celulare și astfel crește eficiența de extracție a diferitelor substanțe bioactive. Metoda PEF este considerată una non-termică, utilă pentru inactivarea agenților patogeni în produsele vinicole. Studiile au arătat că aplicarea PEF-ului îmbunătățește extracția polifenolilor din tescovina de struguri [9].

#### IV.1.5.1. Metode colorimetrice de evaluare a calității vinurilor

##### IV.1.5.1.1. Culoarea

Domeniul vizual al culorilor cuprinde o bandă destul de îngustă de lungimi de undă  $\lambda$  cuprinsă între 320...780 nm din gama foarte întinsă a radiațiilor electromagnetice. Radiațiile din acest domeniu au proprietatea de a impresiona retina ochiului uman, producând senzația de culoare. Această senzație depinde de lungimea de undă a radiației luminoase, de exemplu o radiație având  $\lambda=650$  nm produce senzația de roșu, iar radiația cu lungimea de undă  $\lambda=550$  nm produce senzația de verde.

Deoarece este dificil de realizat o corespondență între denumirea culorii și fiecare lungime de undă din domeniul vizibil, s-a recurs la stabilirea unor intervale de lungime de undă pentru care senzațiile produse de radiațiile respective sunt denumite cu aceeași culoare.

Colorimetria se ocupă cu studiul calitativ și cantitativ al culorilor, având la bază legile lui Grassmann:

- *Legea continuității* - la variația continuă a radiației, culoare variază continuu.
- *Legea aditivității* – culoarea unui amestec de două radiații depinde numai de culorile celor două radiații și nu de compozițiile lor spectrale.
- *Tridimensionalitatea* – un număr de patru culori sunt întotdeauna dependente, dar există trei culori, prin amestecul cărora în anumite proporții, se poate obține orice culoare reală.

Legea lui Grassmann consideră deci, culoarea ca fiind un rezultat al compoziției spectrale de radiație luminoasă. O noțiune importantă în colorimetrie este cea a culorilor complementare. Două culori se numesc complementare dacă, amestecate în anumite proporții, dau culoarea albă. De exemplu: adăugând o anumită cantitate de lumină roșie la lumina verde, se obține lumină albă [6].

##### IV.1.5.1.2. Sistemul colorimetric RGB

RGB (roșu, verde și albastru) se referă la un sistem de reprezentare a culorilor care poate fi utilizat pe ecranul unui computer. Roșu, verde și albastru pot fi combinate în proporții diferite pentru a obține orice culoare în spectrul vizibil. Nivelurile R, G și B pot varia între 0 și 100% din intensitatea completă. Fiecare nivel este reprezentat de intervalul de numere zecimale de la 0 la 255 (256 nivele pentru fiecare culoare), echivalent cu intervalul de numere binare de la 00000000 la 11111111 sau de la 00 la FF hexazecimal. Numărul total de culori disponibile este de  $256 \times 256 \times 256$ , sau de 16.777.216 culori posibile. (Maria-Paz Diago, Christian Correa, Borja Millán, 2012).

##### IV.1.5.1.3. Sistemul colorimetric CIE L\*a\*b\*

Acest sistem colorimetric a fost descoperit în anul 1931, iar ulterior a fost dezvoltat de Hunter și Munsell, în anul 1948. Spațiul cromatic este destinat prelucrărilor tricromatice de imagini, atunci când se dorește alinierea rezultatelor la un standard care să fie independent de sursa de lumină utilizată, de unghiul de captură a imaginii și de sistemul de captură.

Mărimea L, reprezintă luminanța, cu valori de la 0 la 100, mărimea  $a^*$  reprezintă axa culorilor complementare roșu(+) – verde(-), iar mărimea  $b^*$  reprezintă axa culorilor complementare galben(+) – albastru(-), ambele cu valori între -120 și +120.

Imaginile digitale sunt capturate în sistemul tricromatic RGB, dar trecerea directă de la acest spațiu al culorilor în spațiul CIE L\*a\*b\*, este realizată prin intermediul spațiului XYZ.

În această trecere trebuie precizate datele  $X_0, Y_0, Z_0$  ale punctului tristimulus (punctului "alb") corespunzător sursei de lumină utilizate (de exemplu standardul D65 cu  $X_0=0,9505$ ,  $Y_0=1,000$ ,  $Z_0=1,0891$ ).

După precizarea punctului de tristimulus, se pot calcula coordonatele L\*a\*b\* după algoritmul dat de relațiile următoare (Gonzalez-San José, Barron, & Diez, 1991):

$$r = \frac{R}{255}; \quad g = \frac{G}{255}; \quad b = \frac{B}{255}$$

$$\begin{pmatrix} X \\ Y \\ Z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0,4124 & 0,3576 & 0,1805 \\ 0,2126 & 0,7152 & 0,0722 \\ 0,0193 & 0,1192 & 0,9505 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} fg(r, a, \gamma) \\ fg(g, a, \gamma) \\ fg(b, a, \gamma) \end{pmatrix}$$

$$\begin{pmatrix} X \\ Y \\ Z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0,4124 & 0,3576 & 0,1805 \\ 0,2126 & 0,7152 & 0,0722 \\ 0,0193 & 0,1192 & 0,9505 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} fg(r, a, \gamma) \\ fg(g, a, \gamma) \\ fg(b, a, \gamma) \end{pmatrix}$$

unde;

$$fg(r, a, \gamma) = \begin{cases} \left(\frac{C+a}{1+a}\right)^\gamma & \text{daca } C > 0,0405 \\ \frac{C}{12,92} & \text{in rest} \end{cases}, \text{daca } C > 0,0405$$

$$L = 116f\left(\frac{Y}{Y_0}\right)a^* = 500\left[f\left(\frac{X}{X_0}\right) - f\left(\frac{Y}{Y_0}\right)\right]$$

$$b^* = 200\left[f\left(\frac{Y}{Y_0}\right) - f\left(\frac{Z}{Z_0}\right)\right]$$

cu

$$f(t) = \begin{cases} t^{\frac{1}{\gamma}}, t > \left(\frac{6}{29}\right)^2 \\ \frac{1}{3}\left(\frac{29}{6}\right)^2 t + \frac{4}{29} \end{cases}$$

Constantele au valorile  $a=0,055$  și  $\gamma=2,2$  ca ultime considerații ale modelului CIE  $L^*a^*b^*$ . Cu acest algoritm, se pot transforma coordonatele tricromatice RGB inițiale ale imaginilor digitale capturate în coordonate CIE  $L^*a^*b^*$  în vederea clasificării [5].

Spațiul cromatic  $L^*C^*h^*$  este o scară aproximativ neformală, cu un spațiu de culoare polar. Valoarea  $L^*$ , luminozitatea, este aceeași la fiecare scară. Valoarea  $C^*$  croma și valoarea  $h^*$ , unghiul nuanței, se calculează din  $a^*$  și  $b^*$  [1].

#### IV.1.5.1.4. Compoziția chimică al vinurilor

Vinul are o varietate largă de compuși activi sănătoși, cum ar fi taninurile, fenolii, flavonoidele și alte ingrediente valoroase folosite în industria farmaceutică, alimentară și cosmetică (Tabelul IV.1.). Strugurii sunt cunoscuți și solicitați pentru bogăția lor în polifenoli. Acești compuși fenolici (cum ar fi flavanolii monomerici, procyanidinele dimerice, trimerice și polianice, precum și acizii fenolici) aflate în struguri, sunt cunoscuți pentru proprietățile antiradicale și antioxidante. Din punct de vedere chimic, ele pot fi separate în două subcategorii: flavonoide și non-flavonoide. Cele mai importante flavonoide din vin sunt antocianurile și taninurile, care au rol în obținerea culorii și al gustului. Printre non – flavonoidele se numără stilbenele, cum ar fi resveratrolul și compușii acizi (de exemplu acidul benzoic, acidul cafeic și acidul cinamic). Majoritatea acestor compuși fenolici sunt conținuți în pielea de struguri și în semințe.

Substanțele fenolice care se găsesc în vinurile roșii, denumite în mod curent substanțe colorante și tanante, au un rol foarte important asupra tipicității, caracteristicilor organoleptice precum și asupra transformărilor chimice și fizico-chimice ale vinurilor respective. Substanțele fenolice sunt responsabile de culoare și influențează în mare măsură inclusiv gustul vinului. Aceste substanțe fenolice diferențiază din punct de vedere organoleptic și chimic vinurile albe și

vinurile roșii. Câteva substanțe fenolice au un caracter reducător, adică ele coagulează proteinele, intervenind și în limpezirea spontană sau la cleirea vinurilor. Estimarea globală a acestor substanțe, se face prin determinarea indicelui de permanganat de potasiu, care reprezintă cantitatea de permanganat necesară oxidării compușilor fenolici, măsurată în prezența indigoului carmin ca indicator. Compușii fenolici din vinuri aparțin următoarelor grupe chimice: antociani, flavone, taninuri condensate și taninuri hidrolizabile.

**Tabelul IV.1.**

Compoziția chimică, colorimetrică și cromatică pentru vinul **Merlot** și **Pinot Noir** din British Columbia, Canada [3]

	<b>Merlot</b>	<b>Pinot Noir</b>
pH	3.66	3.68
Aciditatea (g acid tartartic /L)	5.81	5.88
Polifenoli totali (mg acid galic /L)	1025	1063
Esteri tartarici (mg acid cafeic /L)	140.4	128.3
Flavonoide totale (mg quercetina/L)	49.7	39.2
Antociani (mg malvidin-3-glucoside/L)	109.7	61
Tanini (mg catechin/L)	382	331.1
Antocianicopigmentati	0.47	0.28
MAP - anociani totali monomerici	1.26	0.72
Antocianipolimerici	2.28	1.42
Antociani totali	4.01	2.42
<b>L*</b>	<b>79.91</b>	<b>87.1</b>
<b>a*</b>	<b>18.62</b>	<b>12.18</b>
<b>b*</b>	<b>8.18</b>	<b>6.47</b>
<b>CI - intensitatea culorii</b>	<b>3.2</b>	<b>2.21</b>
<b>Tint - nuanța culorii</b>	<b>0.88</b>	<b>1.02</b>

Toate substanțele menționate mai sus se găsesc sub formă solvită. Vinul este considerat o soluție hidroalcoolică cu un număr foarte mare de componente ce se găsesc sub diferite stări. Ca de exemplu, glucidele, alcoolii care se află sub formă de molecule; acizii și sărurile acestora sub formă de ioni; gumele vegetale, proteidele, substanțele mucilaginoase și pectinele se întâlnesc ca și macromolecule sau particule de mărime coloidală. În anumite cazuri unele dintre componentele vinurilor roșii se pot găsi și sub formă de suspensie, acest caz se întâmplă de exemplu cu microcristalele unor săruri sau cu unele precipitate coloidale. Cunoașterea stărilor în care se găsesc aceste elemente este foarte importantă deoarece de ele depind, limpiditatea vinului și stabilitatea lui.

Polifenolii sunt substanțe cu caracter antioxidant, care se găsesc în cantități apreciabile în produsele de origine vegetală. Nu sunt prevăzute limite legale pentru aceștia, dar valoarea lor oferă indicații asupra calității. Polifenolii sunt compuși chimici aromatici, cu mai multe grupări hidroxil inserate pe nucleul aromatic [10]. Fenolii de struguri și de vinuri, sunt diversificate din punct de vedere structural, de la molecule simple la oligomeri și polimeri, numiți în mod obișnuit tanini. Proprietățile organoleptice ale polifenolilor, au un rol foarte important în vinurile roșii, de aceea analiza și cuantificarea lor este de o importanță primordială. Extracția fenolică din struguri și din vinurile roșii reprezintă primul pas în analizele de laborator. Compușii fenolici sunt cei mai abundenți metaboliți secundari prezenți în regnul plantelor. Ei posedă o structură comună care cuprinde un inel benzenic aromatic cu unul sau mai mulți hidroxilsubstituenți. Totodată reprezintă un grup mare și divers de molecule, incluzând două familii principale:

- flavonoide pe bază de schelet comun C6-C3-C6;

- non-flavonoide.

Rolul lor în plante este de creștere, fertilitate, reproducere dar și în diferite reacții de apărare (de exemplu: împotriva luminii UV, diferiți agenți patogeni). Polifenolii constituie de asemenea componente importante de esență, aromă și de pigmenți. Anumitor compuși fenolici (cum ar fi: quercetina, catechina, resveratrol, proantocianidele) au fost găsite multiple activități biologice benefice organismului, cum ar fi: rolul antiinflamator, rolul cardio protectoare, rolul antibacterian.

Compoziția fenolică a vinului, depinde atât de strugurii utilizați precum și de procesele de vinificație, care determină extracția lor în must și în reacțiile ulterioare. Structurile compușilor fenolici includ un simplu inel aromatic, cu greutate moleculară scăzută și taninuri cu masă moleculară ridicată. Grupurile de compuși fenolici se disting în mod clasic ca și:

- flavonoide pe bază de schelet comun C6-C3-C6;
- non-flavonoide [2].

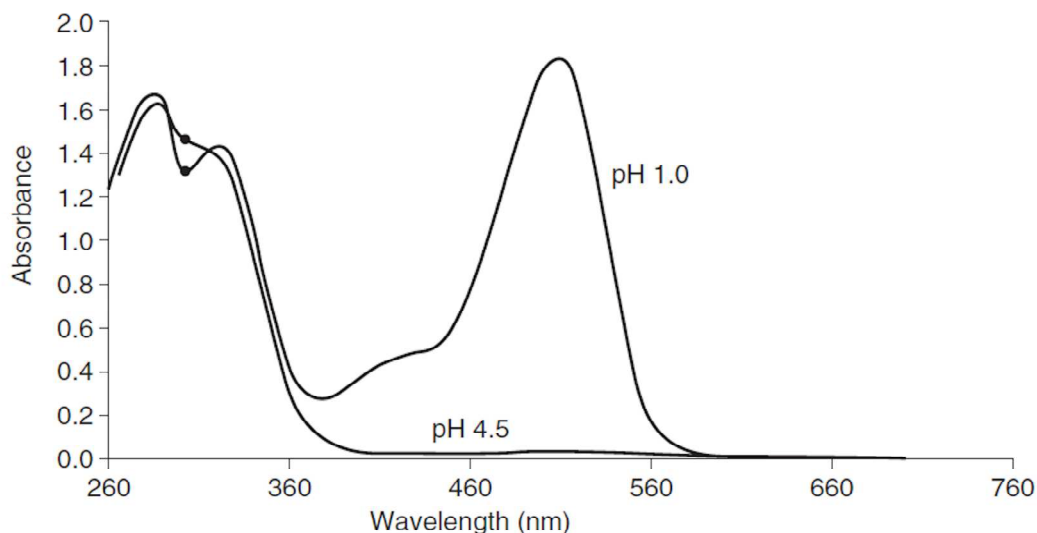
Antocianii constituie cel mai vizibil grup de flavonoide. Sursele naturale de antociani, sunt reprezentate de o varietate de fructe colorate, legume, condimente și nuci. Acestea includ: struguri, piersici, rodii, ceapă roșie, varză roșie, fasole neagră, fistic. Concentrația și tipul de antociani diferă de la fiecare fruct și legumă în parte. De exemplu: căpșuna sau zmeura conține cianidină și derivatele cianidinei. Strugurii și afinele au aproape toate derivatele de antocianidină. O varietate de coloranți sunt introduși în dieta oricărui individ, atât prin fructe sau legume cât și prin produse procesate (vinurile roșii, jeleurile, sucurile). Pigmenții din sursele naturale sunt considerate sigure și posedă calități benefice asupra sănătății. Extractele naturale pot fi folosite ca și coloranți, de exemplu *enocianina*, care este extrasă din pielea strugurilor și este folosit pentru intensificarea nuanței vinurilor roșii. Antocianii extrași din struguri, fiind mai stabili și mai intens colorați în mediul acid, se recomandă să fie folosiți cu precădere la ameliorarea culorii alimentelor și băuturilor de natură acidă.

Pentru corectarea culorii vinurilor roșii se folosesc numai antociani monoglicozidici, extrași din soiuri din *Vitis vinifera*. Pentru celelalte băuturi și alimente se pot folosi atât antocianii monoglicozidici cât și cei diglicozidici.

#### IV.1.6. Determinarea parametrilor cromatici specifici vinurilor

Proprietățile cromatice specifice vinurilor sunt: **CI** - intensitatea culorii vinului, aceasta arată cât de „închisă” este culoarea,  $CI = A_{420} + A_{520} + A_{620}$ ; **Tint** - nuanța culorii vinului,  $Tint = A_{420}/A_{520}$ ; mărimile  $A_{420}$ ,  $A_{520}$  și  $A_{620}$  reprezintă absorbanțele pentru proba de vin la 420, 520 și 620 nm. Spectrele de absorbție au fost determinate cu spectrofotometrul UV-VIS Shimadzu 1700 Series PharmaSpec.

Pigmenții de antocianici prezintă transformări structurale reversibile proporțional cu pH-ul, manifestate prin afișarea unor spectre diferite de absorbție. Forma oxoniu este colorată și predomină la  $pH = 1,0$ , iar forma hemichetală este incoloră la  $pH = 4,5$ . Metoda diferențială a pH-ului se bazează pe această reacție și permite măsurarea exactă și rapidă a antocianilor totali, chiar și în prezența pigmenților degradați polimerizați și al altor compuși care interferează (**Figura IV.1.**).



**Figura IV.1.** Spectrele UV-VIS ale formei oxonium și hemichetală din metoda diferențială pH, pentru determinarea antocianilor totali (MAP) [1]

Materialele necesare pentru metoda diferențială a pH-ului, sunt: 0.025 M potassiumchloride buffer, pH 1.0 și 0.4 M sodiumacetate buffer, pH 4.5.

Protocolul metodei diferențiale a pH-ului este are următoarele etape:

1. Se pornește spectrofotometrul UV-VIS și se lasă să se încălzească timp de cel puțin 10 minute înainte de a efectua măsurătorile.

2. Se determină factorul de diluție corespunzător pentru eșantion prin diluarea cu tampon de clorură de potasiu, pH = 1,0, până când absorbanta probei la  $\lambda_{\text{vis-max}}$  se încadrează în domeniul liniar al spectrofotometrului (adică pentru majoritatea spectrofotometrelor, absorbția trebuie să fie mai mică decât 1,2). Se împarte volumul final al probei la volumul inițial, pentru a obține factorul de diluție (DF).

3. Se execută baseline-ul spectrofotometrului cu apă distilată, la toate lungimile de undă care vor fi utilizate ( $\lambda_{\text{vis-max}}$  și 700 nm).

4. Se prepară două diluții ale probei: una cu soluție tampon de clorură de potasiu, pH = 1,0, iar cealaltă cu soluție tampon de acetat de sodiu, pH = 4,5, diluând fiecare cu factorul de diluție determinat anterior (etapa 2). Se lasă aceste diluții să se echilibreze timp de 15 minute.

5. Se măsoară absorbanta fiecărei diluții la  $\lambda_{\text{vis-max}}$  și la 700 nm (pentru corectarea opacității), pe o celulă necompletată, umplută cu apă distilată.

6. Se calculează absorbția probei diluate (A) după cum urmează:

$$A = (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH}=1,0} - (A_{\lambda_{\text{vis-max}}} - A_{700})_{\text{pH}=4,5}$$

7. Se calculează concentrația de pigmenți monomerici antocianici (MAP) din proba inițială, utilizând următoarea formulă:

$$\text{MAP}(\text{mg} / \text{l}) = (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times l)$$

$$\text{MAP}(\text{mg} / 100\text{g}) = (A \cdot \text{MW} \cdot \text{DF} \cdot \text{Volum}_{\text{probă}}) / (\epsilon \cdot L \cdot \text{Masă}_{\text{probă}})$$

unde: MW este masa moleculară, DF este factorul de diluție și  $\epsilon$  este absorbanta molară. Pentru vinul roșu avem MAP de malvidin-3-glucoside, deci:  $\lambda_{\text{vis-max}} = 520 \text{ nm}$ ,  $L = 1,0 \text{ cm}$ ,  $\text{MW} = 529,0$ ,  $\text{DF} = 5$  și  $\epsilon = 28000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

Spectrele de absorbție au fost determinate cu spectrofotometrul UV-VIS Shimadzu 1700 Series PharmaSpec.

#### IV.1.6.1. Material și metodă de analiză

Determinările experimentale și analizele fizico-chimice și biochimice sau făcut pentru 2 varietăți de de struguri (**Pint-Noir**, **Merlot**) recoltați din podgoria Crișana-Sântimreu ( $47^{\circ}14'55''\text{N } 22^{\circ}2'42''\text{E}$  /  $47^{\circ}14'55''\text{N } 22^{\circ}2'42''\text{E}$ ) în anul 2016, în timpul etapei de coacere optimă

având indicele Brix 23 și aciditatea totală: 5,8 g/l. După desciorchinare și concasarea strugurilor, probele au fost tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) și apoi comparate cu probele netratate.

Am procesat o cantitate de 55 kg din fiecare soi de struguri, această cantitate a fost împărțită (*vezi Etapa III, Act. IIII.*)

După tratamentul PEF probele de struguri au fost depuse pentru fermentare în vase de sticlă. Fermentațiile au fost efectuate de drojzii selectate de Lallemend. Durata procesului de fermentare a fost 11 zile pentru probele tratate și 14 zile pentru probele netratate. Durata de fermentare a fost decisă în funcție de concentrația de polifenoli extrasă în timpul procesului de vinificare, fiind monitorizată zilnic. Temperatura de fermentație a fost menținută la 18...20 °C.

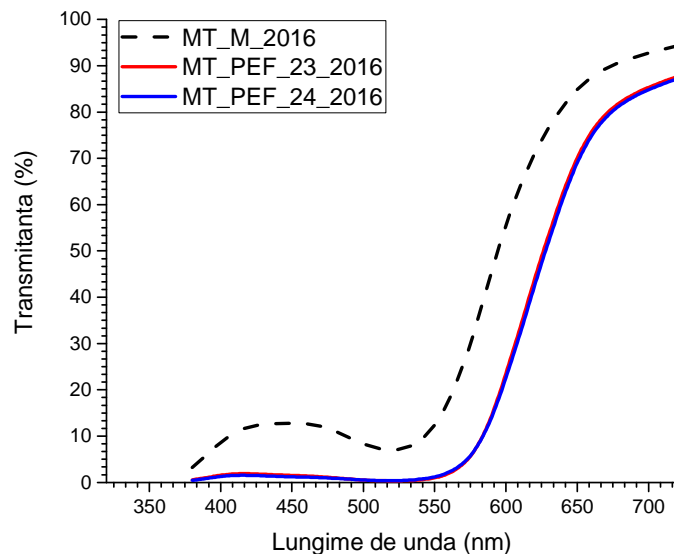
În cadrul **RST 2016** au fost prezentate rezultate ale analizelor fizico-chimice și biochimice pentru must și vin (după 1 lună de la obținere), constatându-se o creștere a cantității de compuși polifenolici în următoarea ordine pentru vinul **Merlot**, în ordine descrescătoare sunt următoarele probe: MT\_PEF\_24 > MT\_PEF\_25 > MT\_PEF\_23 > MT\_PEF\_22 > MT\_M > MT\_PEF\_21. iar în cazul vinului **Pinot Noir**: PN\_PEF\_14 > PN\_PEF\_13 > PN\_PEF\_15 > PN\_PEF\_12 > PN\_M > PN\_PEF\_12.

În cadrul **RST 2017** vor fi prezentate analize fizico-chimice și biochimice pentru vin, după 1 lună de la obținere (*tânăr – noiembrie, 2016*) respectiv după 6 luni (*aprilie - 2017*).

#### IV.1.6.2. Analize fizico-chimice

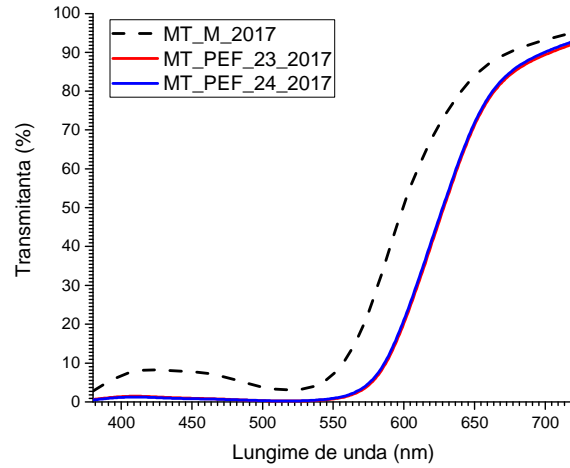
În acest raport au fost analizate două probe cu trei replicări (N = 6) pentru fiecare variantă a combinațiilor celor doi factori studiați: vârsta vinului (*tânăr – noiembrie, 2016*) și la 6 luni (*aprilie - 2017*) și parametrii PEF (în două variante).

Spectrele de transitanță în domeniul vizibil pentru probele de vin **Merlot** sunt prezentate în **Figurile IV.2 – IV.3** iar în **Figurile IV.4 – IV.5** pentru probele de vin **Pinot Noir**; cu linie punctată probele netratate și cu linii continue probele tratate cu PEF.

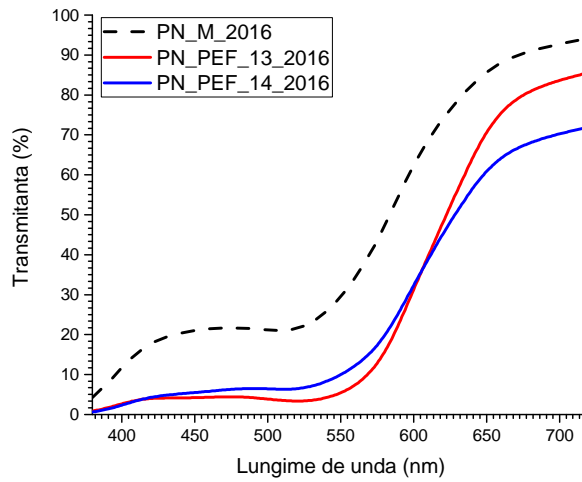


**Figura IV.2.** Spectrele de transitanță din domeniul vizibil ale probelor de vin **Merlot** (Martor\_M și tratate cu PEF\_23; PEF\_24) din 11.2016

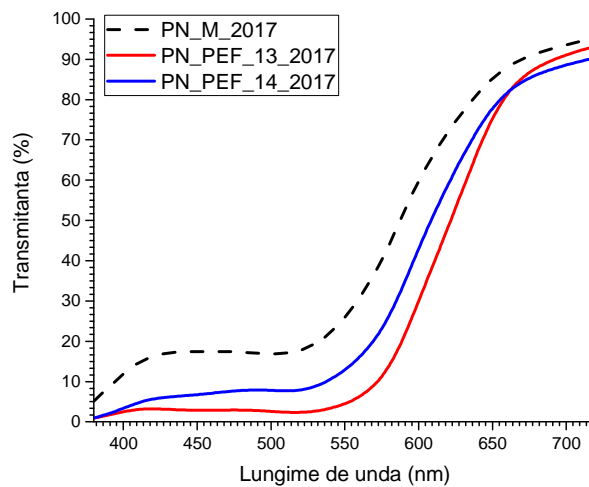




**Figura IV.3.** Spectrele de transmitanță din domeniul vizibil ale probelor de vin **Merlot** (Martor\_M și tratate cu PEF\_23; PEF\_24) din 04.2017



**Figura IV.4.** Spectrele de transmitanță din domeniul vizibil ale probelor de vin **Pinot Noir** (Martor\_M și tratate cu PEF\_13 și PEF\_14) din 11.2016



**Figura IV.5.** Spectrele de transmitanță din domeniul vizibil ale probelor de vin **Pinot Noir** (Martor\_M și tratate cu PEF\_13 și PEF\_14) din 04.2017

Folosind procedura descrisă anterior, s-au determinat coordonatele X,Y,Z ale probelor de vin analizate, din spectrele de transmitanță din domeniul vizibil (**Figurile IV.2 – IV.5**). În **Tabelele IV.2 – IV.5** sunt prezentate valorile coordonatelor RGB împreună cu culorile vizibile aferente pentru vinurile obținute din cele două soiuri de struguri.

**Tabelul IV.2.**

Coordonatele RGB ale probelor de vin **Pinot Noir**  
(Martor\_M și tratate cu PEF\_13 și PEF\_14) din 11.2016

2016	R	G	B	Culoare
PN_M	246	139	112	
PN_PEF_13	198	59	46	
PN_PEF_14	194	81	53	

**Tabelul IV.3.**

Coordonatele RGB ale probelor de vin **Pinot Noir**  
(Martor\_M și tratate cu PEF\_13 și PEF\_14) din 04.2017

2017	R	G	B	Culoare
PN_M	248	132	102	
PN_PEF_13	206	50	32	
PN_PEF_14	225	93	57	

**Tabelul IV.4.**

Coordonatele RGB ale probelor de vin **Merlot**  
(Martor\_M și tratate cu PEF\_23 și PEF\_24) din 11.2016

2016	R	G	B	Colour
MT_M	239	95	87	
MT_PEF_23	186	1	17	
MT_PEF_24	183	5	9	

**Tabelul IV.5.**

Coordonatele RGB ale probelor de vin **Merlot**  
(Martor\_M și tratate cu PEF\_23 și PEF\_24) din 04.2017

2017	R	G	B	Colour
MT_M	240	74	64	
MT_PEF_23	189	0	1	
MT_PEF_24	190	0	0	

Pentru a putea compara calitativ efectul electroporării PEF, s-au reprezentat 3D, în coordonate CIE L\*a\*b\* (**Tabelul IV.6**), „trajectoriile” probelor de vin **Merlot** (**Figura IV.6**.) și **Pinot Noir** (**Figura IV.7**.), pornind de la probele netratate PEF.

**Tabelul IV.6.**

Valorile parametrilor colorimetrici ai probelor de vinuri **Pinot Noir** (PN) și **Merlot** (M) prezentate ca valori medii ± deviația standard, determinate pentru două probe, cu trei repetiții (N = 6)

Probele de vin	L*	a*	b*
MT_M_2016	60.22 ±2.16	57.61 ±3.10	36.72 ±3.21
MT_PEF_23_2016	40.35 ±2.30	64.37 ±3.46	46.93 ±3.48
MT_PEF_24_2016	38.51 ±2.34	59.47 ±4.63	50.98 ±4.01
PN_M_2016	68.76 ±2.25	38.21 ±2.29	39.47 ±4.17
PN_PEF_13_2016	46.15 ±2.92	55.86 ±2.03	39.42 ±2.66
PN_PEF_14_2016	52.48 ±1.94	49.03 ±3.50	41.88 ±4.55
MT_M_2017	58.13 ±2.10	62.97 ±4.80	40.73 ±3.51
MT_PEF_23_2017	40.41 ±2.27	65.65 ±2.58	51.81 ±3.08
MT_PEF_24_2017	42.95 ±3.27	70.80 ±3.76	57.45 ±3.35
PN_M_2017	69.79 ±2.13	45.90 ±3.26	36.27 ±2.07
PN_PEF_13_2017	48.44 ±2.95	64.36 ±4.02	50.73 ±3.35
PN_PEF_14_2017	59.98 ±2.49	51.42 ±3.81	45.78 ±3.99

În ambele cazuri se pot observa descreșteri ale luminanței ( $L^*$ ), fapt care desemnează o culoare mai intensă pentru probele tratate cu PEF, adică o creștere însemnată a conținutului de pigmenți specifici vinurilor. Se înregistrează o creștere a valorilor coordonatelor cromatice  $a^*$  și  $b^*$  (spre valori pozitive) ceea ce denotă o nuanțare către roșu a vinurilor tratate cu PEF față de cele netratate. Aceste rezultate se datorează tot efectului de electroporare PEF, și deci, o creștere însemnată a conținutului de pigmenți specifici vinurilor.

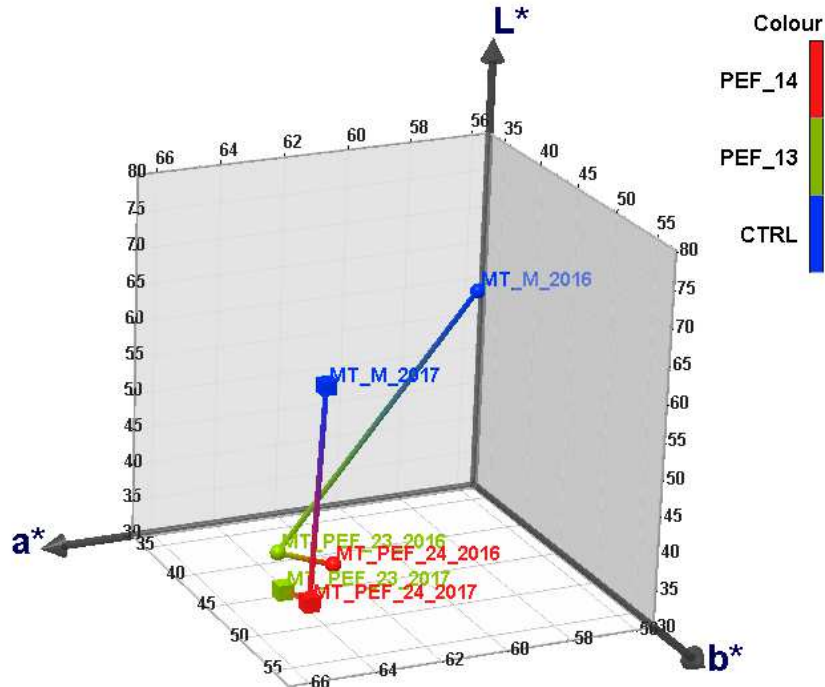


Figura IV.6. Reprezentarea 3D în spațiul CIE  $L^*a^*b^*$  a probelor de vin Merlot (proaspăt\_11.2016 și vechi de 6 luni\_04.2017)

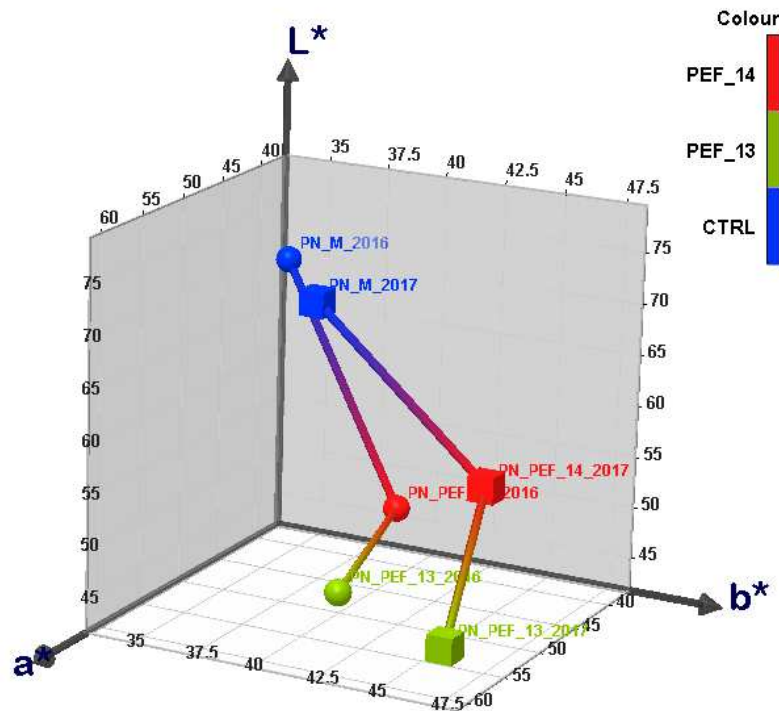


Figura IV.7. Reprezentarea 3D în spațiul CIE  $L^*a^*b^*$  a probelor de vin Pinot Noir (proaspăt\_11.2016 și vechi de 6 luni\_04.2017)

Compararea probelor de vin prin parametrii colorimetrici (CIE L\*a\*b\*) presupune calcularea diferențelor de culoare,  $\Delta E$  (CIE L\*a\*b\*), care sunt considerate a fi semnificative dacă depășesc 5,00 unități.

Diferențele de culoare au fost calculate pentru aceeași epocă de vârstă a vinului față de probele netratate cu PEF, pentru probele de vin **Merlot** (Figurile IV.8. și IV.9.), între cele două epoci de vârstă ale vinurilor, față de fiecare tip de tratament rezultatele sunt prezentate în (Figura IV.10).

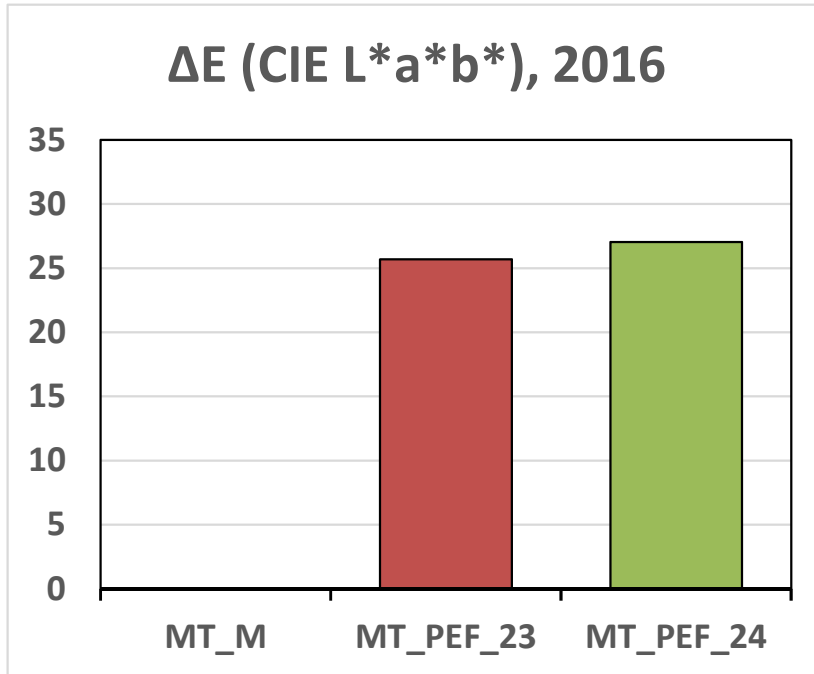


Figura IV.8. Diferențele de culoare a probelor de vin **Merlot** (proaspăt\_11.2016) față de proba netratată\_Martor\_M

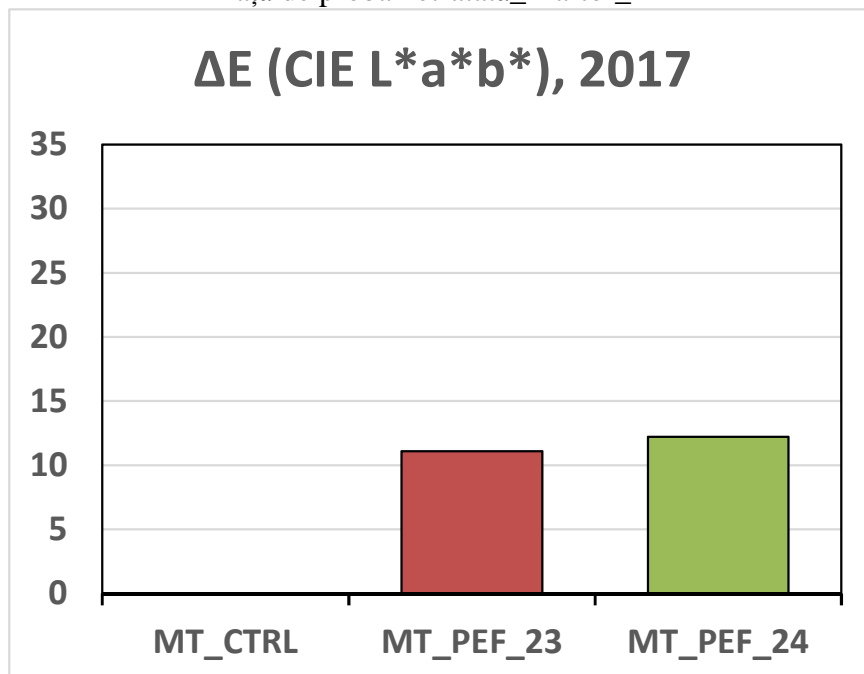
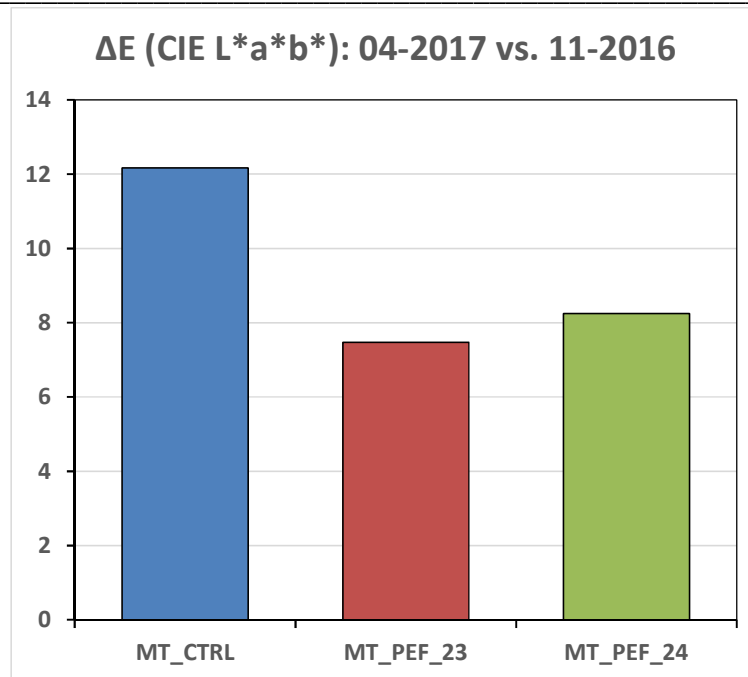


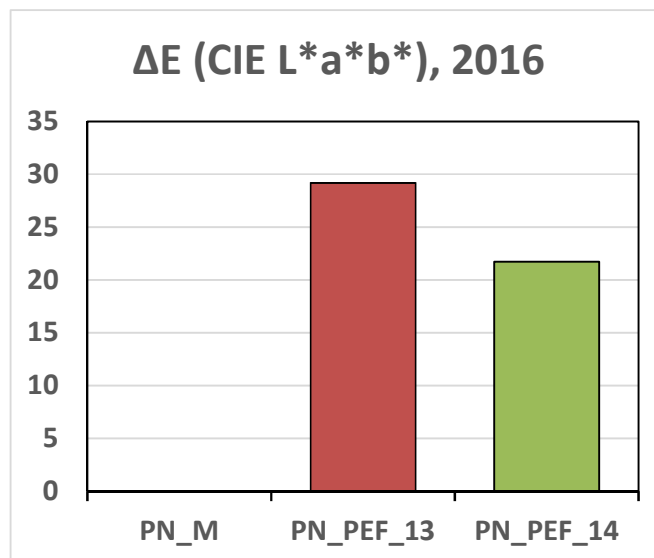
Figura IV.9. Diferențele de culoare a probelor de vin **Merlot** (vechi de 6 luni\_04.2017) față de proba netratată\_Martor\_M



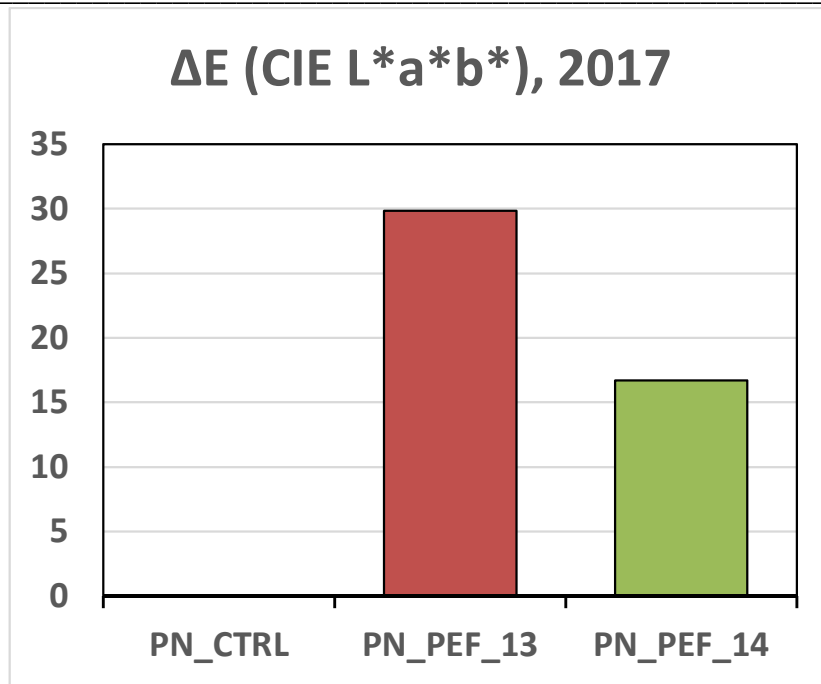
**Figura IV.10.** Diferențele de culoare a probelor de vin **Merlot** față de probele de vin tânăr

Pentru probele de vin diferențele de culoare au fost calculate pentru aceeași epocă de vârstă a vinului față de probele netratate cu PEF. Rezultatele pentru probele de vin **Pinot Noir** sunt prezentate în (**Figurile IV.11 și IV.12**), între cele două epoci de vârstă ale vinurilor, față de fiecare tip de tratament rezultatele comparative sunt prezentate în (**Figura IV.13**). Aceste rezultate validează discuțiile anterioare despre „trajectoriile” probelor de vin în spațiul tricromatic CIE L\*a\*b\*, și anume, că cele două tratamente PEF produc, în urma electroporării diferențe de culoare pozitive față de probele netratate cu PEF. Ca urmare, se poate afirma că, tratamentele PEF generează prin electroporare o creștere a componentelor biochimice de tip antocieni, care duce la intensificarea culorii probelor de vin tratate cu PEF.

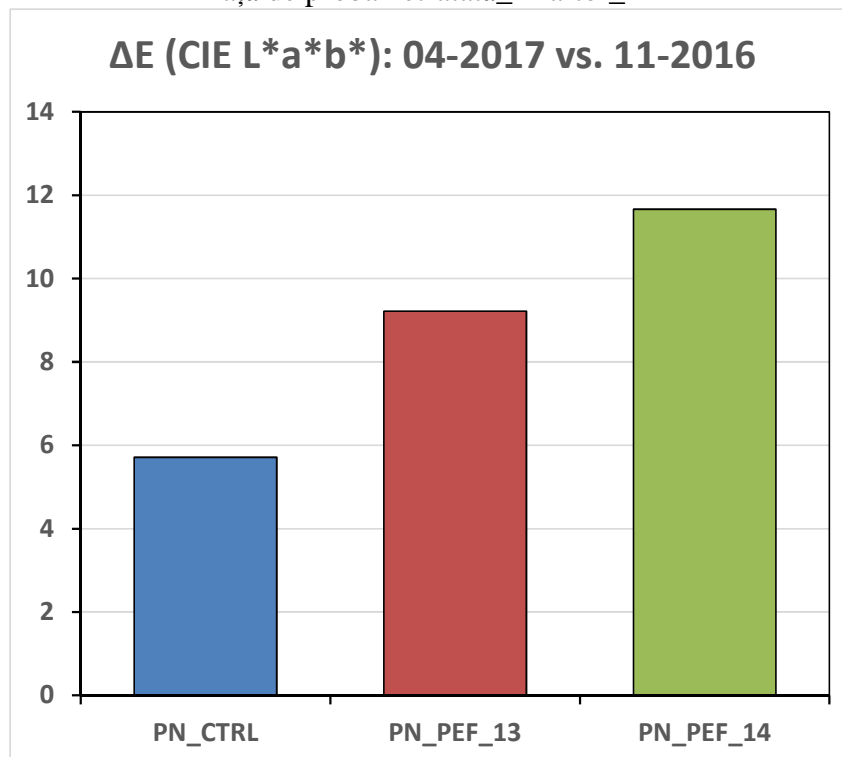
Spectrele de transmitanță din domeniul vizibil (**Figurile IV.14 și IV.15**) au fost utilizate pentru determinarea absorbanțelor A420, A520 și A620, pentru calcularea parametrilor cromatici specifici vinurilor.



**Figura IV.11.** Diferențele de culoare a probelor de vin **Pinot Noir** (proaspăt\_11.2016) față de proba netratată\_Martor\_M



**Figura IV.12.** Diferențele de culoare a probelor de vin **Pinot Noir** (vechi de 6 ani, 04.2017) față de proba netratată\_ Martor\_M



**Figura IV.13.** Diferențele de culoare a probelor de vin **Pinot Noir** față de probele de vin proaspăt

Spectrele de transitanță din domeniul vizibil (**Figurile IV.14 și IV.15**) au fost utilizate pentru determinarea absorbanțelor A420, A520 și A620, pentru calcularea parametrilor cromatici specifici vinurilor.

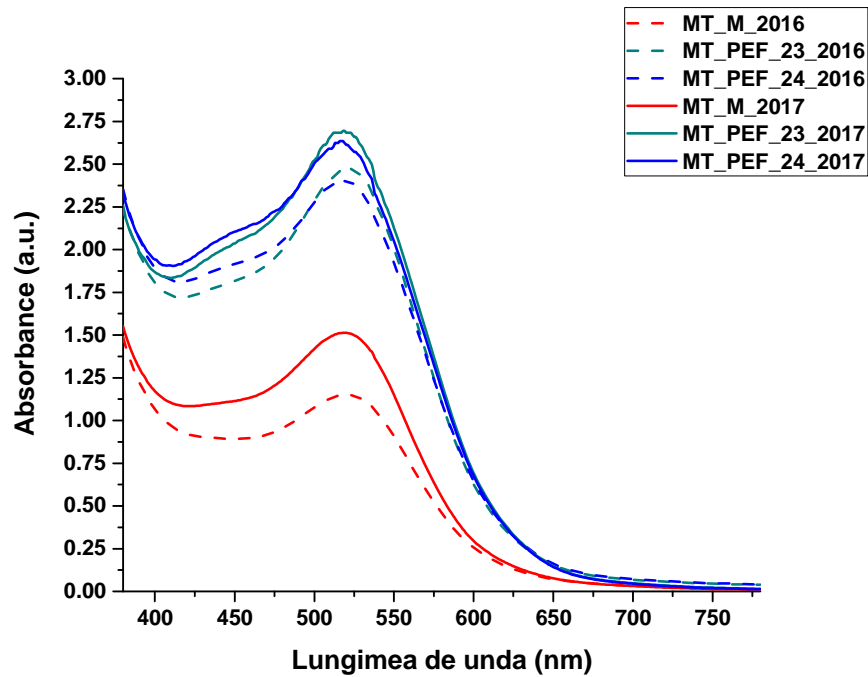


Figura IV.14. Spectrele de absorbantă în domeniul vizibil ale probelor de vin **Merlot** Martor\_M și tratate cu PEF\_23 și PEF\_24

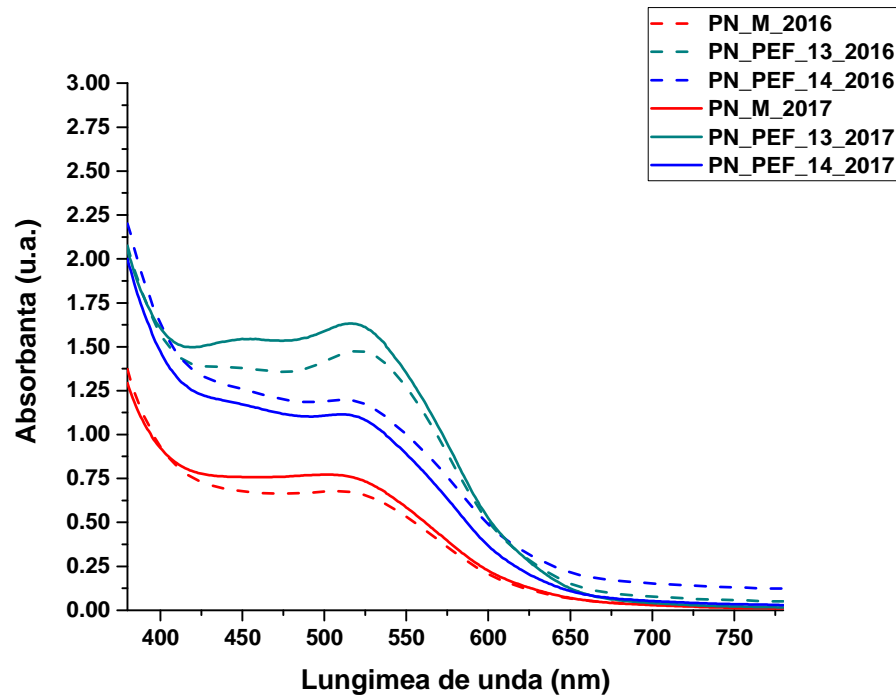


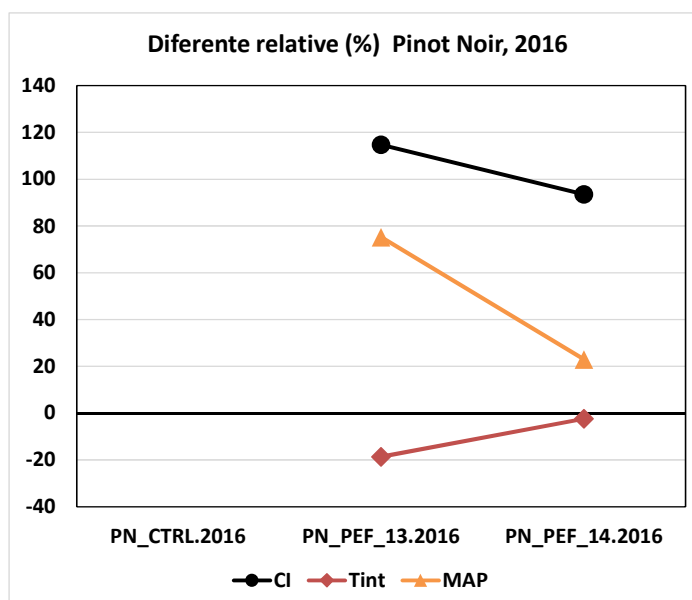
Figura IV.15. Spectrele de absorbantă în domeniul vizibil ale probelor de vin **Pinot Noir** Martor\_M și tratate cu PEF\_13 și PEF\_14

Analiza parametrilor cromatici specifici vinurilor (**Tabelul IV.7**) presupune aceleași comparații ca și cele ale parametrilor colorimetrici. Ca urmare, s-au calculat diferențele relative,  $DifRel(\%) = (Valoare - Valoare_{Referință}) / Valoare_{Referință} * 100 (\%)$ , pentru aceeași epocă de vârstă a vinului **Pinot Noir**, față de probele netratate cu PEF (**Figurile IV.16 și IV.17**).

Tabelul IV.7.

Valorile parametrilor cromatici specifici vinurilor pentru probele de vinuri **Pinot Noir (PN)** și **Merlot (M)** prezentate ca valori medii  $\pm$  deviația standard determinate pentru două probe cu trei repetiții (N = 6)

Probele de vin	CI	Tint	MAP(mg/100g)
MT_M_2016	2.24 $\pm$ 0.05	0.80 $\pm$ 0.04	77.33 $\pm$ 0.28
MT_PEF_23.2016	4.63 $\pm$ 0.05	0.72 $\pm$ 0.03	245.82 $\pm$ 0.29
MT_PEF_24.2016	4.64 $\pm$ 0.06	0.78 $\pm$ 0.06	229.21 $\pm$ 0.29
PN_M_2016	1.50 $\pm$ 0.08	1.16 $\pm$ 0.06	43.49 $\pm$ 0.26
PN_PEF_13.2016	3.23 $\pm$ 0.04	0.95 $\pm$ 0.04	76.20 $\pm$ 0.25
PN_PEF_14.2016	2.91 $\pm$ 0.05	1.13 $\pm$ 0.06	53.49 $\pm$ 0.18
MT_M_2017	2.81 $\pm$ 0.05	0.76 $\pm$ 0.04	129.49 $\pm$ 0.35
MT_PEF_23.2017	4.94 $\pm$ 0.06	0.71 $\pm$ 0.06	281.81 $\pm$ 0.32
MT_PEF_24.2017	4.91 $\pm$ 0.06	0.76 $\pm$ 0.05	265.05 $\pm$ 0.42
PN_M_2017	1.73 $\pm$ 0.05	1.10 $\pm$ 0.04	49.18 $\pm$ 0.43
PN_PEF_13.2017	3.46 $\pm$ 0.02	0.94 $\pm$ 0.02	92.80 $\pm$ 0.23
PN_PEF_14.2017	2.61 $\pm$ 0.05	1.12 $\pm$ 0.04	55.16 $\pm$ 0.43

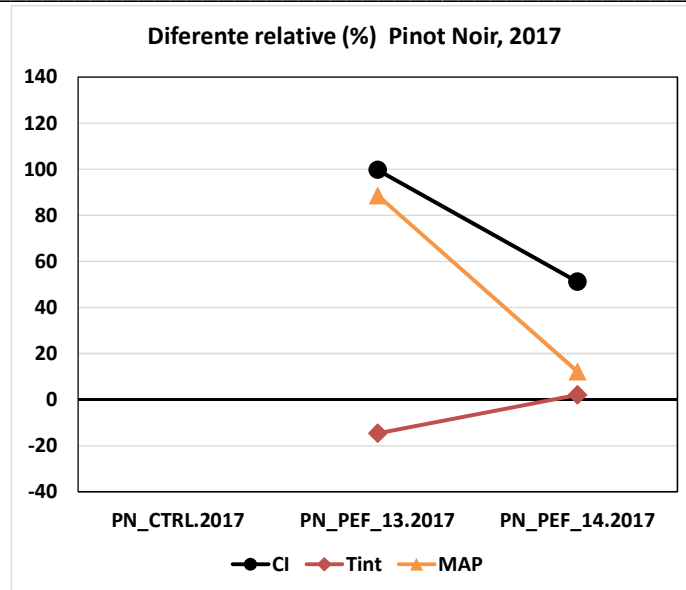


**Figura IV.16.** Diferențele relative ale parametrilor cromatici specifici vinurilor pentru probele de vin **PINOT NOIR** (proaspăt, 11.2016) față de proba netratată (de control)

Diferențele relative ale parametrilor cromatici pentru probele de vin (vechi de 6 luni, 04.2017) **Pinot Noir\_Martor (CTRL)**, față de cele tratate PEF sunt prezentate în **Figura IV.17**.

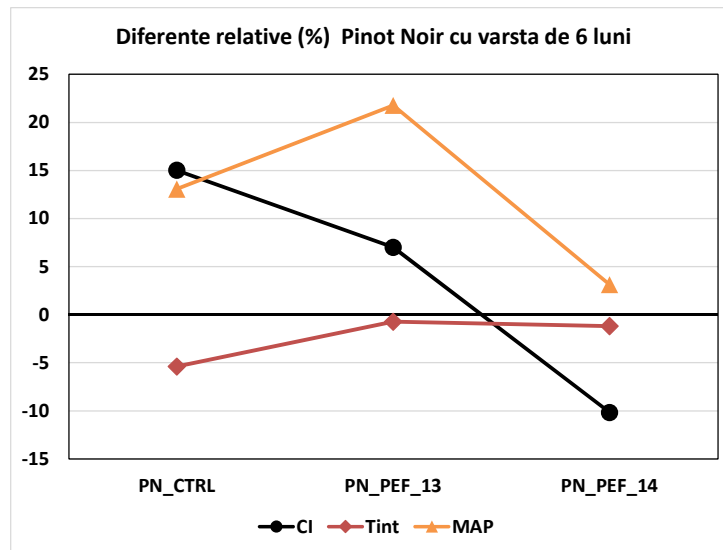
Parametrii MAP și CI arată o creștere pentru probele de vin **Pinot Noir** cu tratament PEF (**Figurile IV.16 și IV.17**). Creșterile cele mai mari pentru MAP și CI, sunt prezente pentru varianta PEF 13, așa cum este prescrisă de diferențele de culoare  $\Delta E$ . Acest rezultat este valabil pentru ambele vârste de vinuri **Pinot Noir** studiate.





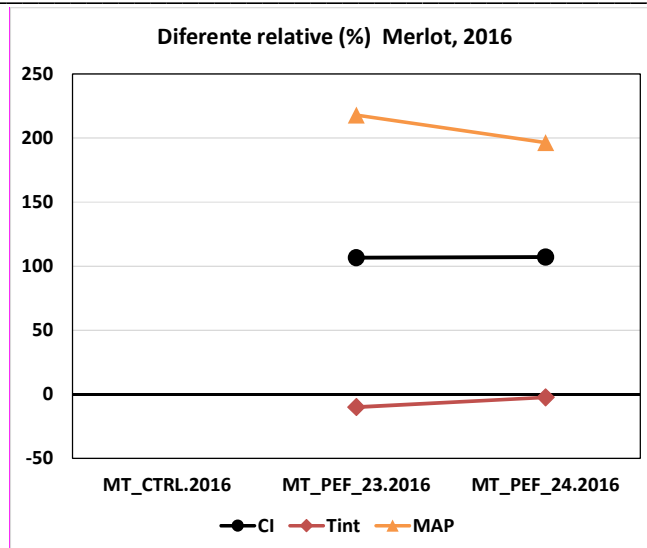
**Figura IV.17.** Diferențele relative ale parametrilor cromatici specifici vinurilor pentru probele de vin **Pinot Noir** (vechi de 6 luni, 04.2017) față de proba netratată (de control)

Diferențele relative între același PEF, dar diferitele vârste ale vinului **Pinot Noir** (**Figura IV.18**) arată că, pentru acest vin, tratamentul PEF are un efect de instabilitate biochimică asupra procesului de îmbătrânire.

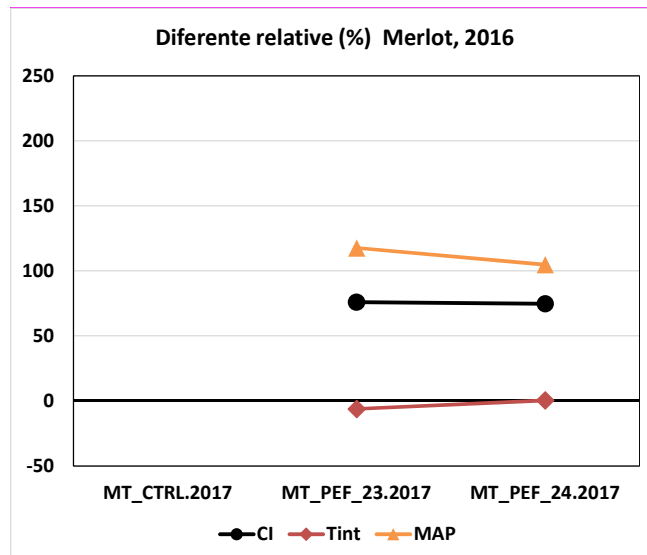


**Figura IV.18.** Diferențele relative ale parametrilor cromatici specifici vinurilor pentru probele de vin **Pinot Noir** față de probele de vin proaspăt

În **Figurile IV.19** și **IV.20** sunt prezentate diferențele relative ale parametrilor cromatici,  $DifRel(\%) = \frac{Valoare - Valoare_{Referință}}{Valoare_{Referință}} * 100 (\%)$ , pentru aceeași epocă de vârstă a vinului față de probele netratate cu PEF pentru probele de vin **Merlot**.



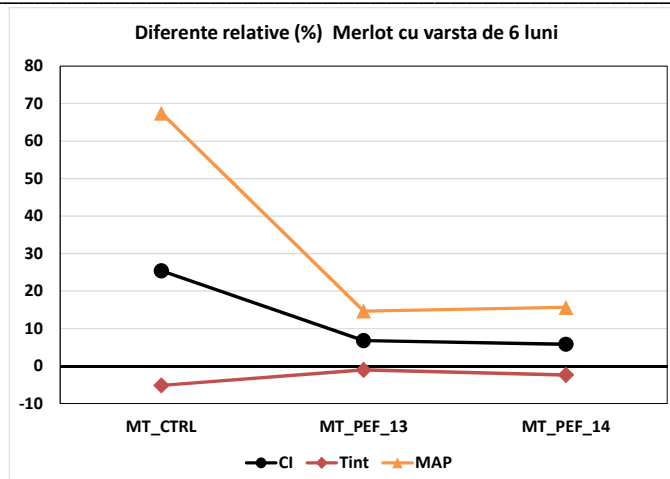
**Figura IV.19.** Diferențele relative ale parametrilor cromatici specifici vinurilor pentru probele de vin **Merlot** (proaspăt, 11.2016) față de proba netratată (de control)



**Figura IV.20.** Diferențele relative ale parametrilor cromatici specifici vinurilor pentru probele de vin **Merlot** (vechi de 6 luni, 04.2017) față de proba netratată (de control)

Parametrii MAP și CI, prezintă creșteri pozitive cu tratamentul PEF. Toate tratamentele PEF investigate pentru vinurile proaspete și cele vechi, prezintă diferențe de culoare pozitive, ( $\Delta E$ ). Datorită electroporării PEF, variantele PEF 23 și 24 produc niveluri mai ridicate de MAP și CI, comparativ cu proba de vin netratată.

Datorită diferențelor relative, relativ constante între aceleași vârste diferite ale vinului **Merlot** (**Figura IV.21**), arată că pentru acest vin, tratamentele PEF generează o stabilitate biochimică bună, odată cu procesul de îmbătrânire.



**Figura IV.21.** Diferențele relative ale parametrilor cromatici specifici vinurilor pentru probele de vin **Merlot** față de probele de vin proaspăt

În concluzie putem spune că toate tratamentele PEF, atât pentru vinurile Pinot Noir, cât și pentru vinurile Merlot, produc creșteri ale calității vinului având niveluri pozitive mai ridicate ale proprietăților cromatice, ale proprietăților culorii vinului și conținutului MAP. Aceste proprietăți se schimbă odată cu îmbătrânirea vinului, dar în mod diferit pentru Pinot Noir decât la vinurile Merlot.

Pentru vinurile **Pinot Noir**, tratate PEF, există o instabilitate biochimică (diferențe de proprietăți mai mari între PEF îmbătrânit, comparativ cu vinurile netratate).

Pentru vinurile **Merlot**, tratate PEF există o stabilitate biochimică mai bună (diferențe de proprietăți mai mici între PEF îmbătrânit comparativ, cu vinurile netratate). În urma procesului de îmbătrânire a vinului, efectul electroporării PEF se observă și după 6 luni, iar calitatea vinurilor este mai mare decât vinurile netratate.

#### IV.1.6.3. Analize biochimice

În anul 2004, Congresul Internațional despre Metodele Antioxidante, a avut loc în Orlando cu scopul de a evalua diferite metode antioxidante în cazul alimentelor, plantelor, suplimentelor alimentare, și de a propune una sau mai multe metode analitice ce pot fi standardizate pentru aprecierea capacității antioxidante. Între anii 1995-2005, articolele din baza de date *Medline* au menționat cuvântul "antioxidant" constatându-se o creștere cu 340% (Prior et al., 2005).

În cazul sistemelor biologice, există 4 surse generale de antioxidanți [8]:

1. Enzimele (superoxid dismutaza, glutatión peroxidaza, catalaza);
2. Molecule mari (albumina, ceruloplasmina, ferritina, alte proteine);
3. Molecule mici (acid ascorbic, glutatiónul, acid uric, tocoferol, carotenoide, polifenoli);
4. Unii hormoni (estrogen, angiotensina, melatonina etc.)

Pe de altă parte, există o multitudine de radicali liberi și surse oxidante. De exemplu:  $O_2$ ,  $^1O_2$ , HO, NO, ONOO, HOCl, RO(O), LO(O).

Atât oxidanții cât și antioxidanții au caracteristici fizico-chimice caracteristice. Antioxidanții individuali, în anumite cazuri acționează prin multiple mecanisme într-un singur sistem. În plus, antioxidanții pot răspunde în mod diferit față de radicali sau față de sursele oxidante. De exemplu, carotenoidele nu sunt buni inactivatori de radicali peroxili comparativ cu fenolii sau alți antioxidanți, dar sunt inhibitori ai oxigenului singlet, pentru care fenolii sau alți antioxidanți sunt ineficienți.

#### IV.1.6.3.1. Determinarea parametrilor oenologici (pH-ul, aciditatea totală, aciditatea volatilă și % de alcool) pentru probele de vin provenite din strugurii Merlot, Pinot Noir

Cu ajutorul pH-ului putem afirma dacă o soluție este acidă, bazică sau neutră și se exprimă prin valori numerice de la 0 la 14. La valoarea 7, soluția este neutră, la valori mai mici de 7 soluția este acidă iar la valori mai mari de 7 alcalină. Valoarea pH-ului are o importanță semnificativă în desfășurarea reacțiilor biochimice din organism, iar în mediul biologic valoarea pH-ului este de 7,2-7,4. pH-ul se poate determina prin mai multe metode, cum ar fi metoda cu hârtie indicator, metoda cu soluție indicatoare, însă cea mai exactă este metoda potențiomtrică, adică **pH-metria**. Principiul metodei se bazează pe măsurarea diferenței potențialului electric dintre doi electrozi, unul de referință și unul de măsurare, cel din urmă fiind introdus în proba de analizat. Rezultatul se exprimă sub formă de unități de pH. Etapele determinării Ph-ului sunt următoarele:

- **Calibrarea pH-metrului.** Pentru etalonarea pH -metrului se spală electrodul cu apă distilată după care se șterge cu o hârtie de filtru. Se introduce electrodul într-o soluție tampon cu pH-ul cunoscut, acid (pH=4.0). Se citește pe cadranul pH-metrului valoarea de pH și se fac corecturile respective, ținând cont și de temperatura la care se face măsurarea. Apoi se îndepărtează soluția tampon, se spală și se șterge din nou electrodul după care se introduce într-o soluție tampon alcalină de pH cunoscut (pH =10.0), se citește valoarea pH-ului și se fac corecții dacă sunt necesare.

- **Determinarea pH-ului probei de analizat.** Se spală electrodul cu apă distilată, apoi se șterge cu hârtie de filtru. Se introduce capătul electrodului în soluția de analizat de preferat la o temperatură de 20-25°C. Se citește valoarea de pH-ul de pe ecranul pH-metrului. Pentru un rezultat cât mai exact se fac cel puțin trei determinări consecutive, iar diferența dintre acestea nu trebuie să fie mai mare de 0,1.

Determinarea parametrilor fizico-chimici a vinurilor obținute (determinarea alcoolului, densității, aciditatea generală, (g acid tartric/L), aciditatea volatilă (g acid acetic/L), pH, acid malic (g/L), acid lactic (g/L) glucoza+fructoza (g/L) au fost realizate cu ajutorul **instrumentului analytic OenoFoss (Tabel IV.8).**

Tabel IV.8.

Parametrii fizico-chimici a vinului Pinot Noir și Merlot netratate (PN\_M, MT\_M) și tratate în PEF

	Alcool (% vol)	Densitatea (g/cm <sup>3</sup> )	Aciditatea totală (g acid tartric/L)	Aciditatea volatilă (g acid acetic/L)	pH	Acid malic g / L	Glucoză + Fructoză (g / L)
MT_M	15.26 <sup>b</sup> ±0.03	0.99 <sup>f</sup> ±0.00	6.10 <sup>a</sup> ±0.02	0.46 <sup>bc</sup> ±0.02	3.49 <sup>fg</sup> ±0.01	1.40 <sup>abc</sup> ±0.00	2.97 <sup>bc</sup> ±0.06
MT_PEF_21	14.41 <sup>f</sup> ±0.02	0.99 <sup>cde</sup> ±0.00	5.79 <sup>c</sup> ±0.02	0.46 <sup>bc</sup> ±0.01	3.58 <sup>d</sup> ±0.01	1.40 <sup>abc</sup> ±0.00	2.40 <sup>d</sup> ±0.10
MT_PEF_22	14.99 <sup>cd</sup> ±0.02	0.99 <sup>de</sup> ±0.00	5.76 <sup>c</sup> ±0.02	0.46 <sup>b</sup> ±0.01	3.54 <sup>e</sup> ±0.01	1.23 <sup>d</sup> ±0.06	2.97 <sup>bc</sup> ±0.06
MT_PEF_23	15.04 <sup>cd</sup> ±0.02	0.99 <sup>bc</sup> ±0.00	6.02 <sup>b</sup> ±0.02	0.46 <sup>bc</sup> ±0.01	3.49 <sup>fg</sup> ±0.01	1.33 <sup>bcd</sup> ±0.06	3.50 <sup>a</sup> ±0.10
MT_PEF_24	14.70 <sup>e</sup> ±0.05	0.99 <sup>bcd</sup> ±0.00	6.00 <sup>b</sup> ±0.02	0.44 <sup>bc</sup> ±0.01	3.51 <sup>f</sup> ±0.01	1.30 <sup>cd</sup> ±0.00	1.80 <sup>f</sup> ±0.00
MT_PEF_25	14.97 <sup>cd</sup> ±0.03	0.99 <sup>f</sup> ±0.00	5.81 <sup>c</sup> ±0.01	0.43 <sup>c</sup> ±0.01	3.47 <sup>g</sup> ±0.01	1.30 <sup>cd</sup> ±0.00	1.60 <sup>e</sup> ±0.00
PN_M	15.26 <sup>b</sup> ±0.05	0.99 <sup>ef</sup> ±0.00	5.33 <sup>e</sup> ±0.04	0.38 <sup>d</sup> ±0.01	3.63 <sup>b</sup> ±0.01	1.50 <sup>a</sup> ±0.00	2.77 <sup>c</sup> ±0.06
PN_PEF_11	15.27 <sup>b</sup> ±0.03	0.99 <sup>cde</sup> ±0.00	5.18 <sup>f</sup> ±0.02	0.39 <sup>d</sup> ±0.01	3.75 <sup>a</sup> ±0.01	1.50 <sup>a</sup> ±0.00	2.27 <sup>d</sup> ±0.06
PN_PEF_12	15.46 <sup>a</sup> ±0.05	0.99 <sup>cde</sup> ±0.00	5.18 <sup>f</sup> ±0.02	0.52 <sup>a</sup> ±0.01	3.74 <sup>a</sup> ±0.01	1.50 <sup>a</sup> ±0.00	3.07 <sup>b</sup> ±0.15
PN_PEF_13	15.06 <sup>c</sup> ±0.01	0.99 <sup>b</sup> ±0.00	5.42 <sup>d</sup> ±0.01	0.45 <sup>bc</sup> ±0.01	3.59 <sup>cd</sup> ±0.01	1.33 <sup>bcd</sup> ±0.06	2.23 <sup>d</sup> ±0.15
PN_PEF_14	14.74 <sup>e</sup> ±0.02	0.99 <sup>a</sup> ±0.00	5.40 <sup>de</sup> ±0.02	0.47 <sup>b</sup> ±0.02	3.62 <sup>bc</sup> ±0.02	1.37 <sup>bc</sup> ±0.06	1.77 <sup>e</sup> ±0.06
PN_PEF_15	14.95 <sup>d</sup> ±0.04	0.99 <sup>cde</sup> ±0.00	5.37 <sup>de</sup> ±0.02	0.38 <sup>d</sup> ±0.01	3.59 <sup>cd</sup> ±0.02	1.43 <sup>ab</sup> ±0.06	2.27 <sup>d</sup> ±0.06
MT_M	15.26 <sup>b</sup> ±0.03	0.99 <sup>f</sup> ±0.00	6.10 <sup>a</sup> ±0.02	0.46 <sup>bc</sup> ±0.02	3.49 <sup>fg</sup> ±0.01	1.40 <sup>abc</sup> ±0.00	2.97 <sup>bc</sup> ±0.06

The parameter values, displayed as mean  $\pm$  SD. Three samples from each wine variety and treatment were individually analysed in duplicate (N = 6). For each column (i.e. parameter), different letters prescribe statistical significant differences between the samples (P = 0.05).

Garde –Cerdan si colab., 2013 au aplicat patru tratamente PEF in cazul a 3 varietati de struguri (Graciano, Tempranillo si Grenache) si au observat ca in mustul acestor struguri tratamentul PEF a imbunatatit transferul de masa, ceea ce a condus la o extractie mai buna a acizilor organici din matricea de struguri. In schimb, diferentele obtinute cu privire la concentratia de acizi organici din cele 3 varietati de struguri se datoreaza distributiei diferite a acizilor in celule dar si tipului de piele care este caracteristic fiecarei varietati de struguri.

Exista însă și alte studii în care tratamentul PEF a probelor nu a afectat unii parametrii oenologici a probelor de must provenit din struguri [2].

#### IV.1.6.3.2. Determinarea compușilor bioactivi și a capacității antioxidante pentru probele de vin provenite din strugurii Merlot, Pinot Noir

Din probele de vin Pinot Noir și Merlot tratate sau netratate în PEF s-au determinat compușii bioactivi prin metodă spectrofotometrică. Compușii determinați au fost fenoli totali, flavonoide totale și pigmenți antocianici monomerici, rezultate care sunt prezentate în **Tabelul IV.9**.

**Tabel IV.9**

Conținutul în compuși bioactivi (TPh-fenoli totali; MAP-pigmenți antocianici monomerici; FLAV-flavonoide totale) și capacitatea antioxidantă, determinată prin două metode (DPPH și FRAP) din vinurile Pinot Noir și Merlot tratate sau netratate în PEF

Probele de vin	TPh (mg GAE/L)	MAP (mg/L)	FLAV (mg QE/L)	DPPH	FRAP
				mmol TE/L	
MT_M	886.97 $\pm 9.07$	79.00 <sup>a</sup> $\pm 2.73$	1339.24 <sup>h</sup> $\pm 24.16$	0.04 <sup>c</sup> $\pm 0.01$	9.00 <sup>ab</sup> $\pm 0.45$
MT_PEF_21	857.21 <sup>h</sup> $\pm 8.22$	64.23 <sup>c</sup> $\pm 4.11$	1403.67 <sup>g</sup> $\pm 16.53$	0.05 <sup>d</sup> $\pm 0.00$	9.33 <sup>a</sup> $\pm 0.57$
MT_PEF_22	914.32 <sup>f</sup> $\pm 7.10$	70.71 <sup>bc</sup> $\pm 3.24$	1460.10 <sup>f</sup> $\pm 27.85$	0.05 <sup>de</sup> $\pm 0.01$	9.10 <sup>ab</sup> $\pm 0.36$
MT_PEF_23	1240.39 <sup>cd</sup> $\pm 7.25$	66.48 <sup>c</sup> $\pm 4.34$	1784.15 <sup>d</sup> $\pm 27.98$	0.09 <sup>ab</sup> $\pm 0.01$	9.23 <sup>ab</sup> $\pm 0.50$
MT_PEF_24	1254.41 <sup>c</sup> $\pm 7.35$	66.94 <sup>c</sup> $\pm 3.65$	1860.42 <sup>c</sup> $\pm 19.00$	0.07 <sup>bc</sup> $\pm 0.01$	9.18 <sup>ab</sup> $\pm 0.38$
MT_PEF_25	1235.54 <sup>d</sup> $\pm 11.36$	76.92 <sup>ab</sup> $\pm 4.07$	1700.97 <sup>e</sup> $\pm 20.77$	0.08 <sup>b</sup> $\pm 0.01$	8.89 <sup>ab</sup> $\pm 0.41$
PN_M	680.04 <sup>j</sup> $\pm 7.50$	44.17 <sup>e</sup> $\pm 4.02$	1361.11 <sup>gh</sup> $\pm 24.02$	0.03 <sup>e</sup> $\pm 0.01$	7.48 <sup>cd</sup> $\pm 0.54$
PN_PEF_11	642.34 <sup>k</sup> $\pm 9.28$	50.20 <sup>de</sup> $\pm 3.87$	1292.78 <sup>i</sup> $\pm 26.04$	0.04 <sup>e</sup> $\pm 0.01$	7.10 <sup>d</sup> $\pm 0.63$
PN_PEF_12	758.15 <sup>i</sup> $\pm 7.08$	45.83 <sup>e</sup> $\pm 4.71$	1361.32 <sup>gh</sup> $\pm 13.89$	0.03 <sup>e</sup> $\pm 0.01$	7.69 <sup>cd</sup> $\pm 0.42$
PN_PEF_13	1306.43 <sup>b</sup> $\pm 7.91$	54.53 <sup>d</sup> $\pm 3.93$	2222.55 <sup>b</sup> $\pm 24.13$	0.10 <sup>a</sup> $\pm 0.01$	8.20 <sup>bc</sup> $\pm 0.89$
PN_PEF_14	1378.50 <sup>a</sup> $\pm 8.65$	81.15 <sup>a</sup> $\pm 3.14$	2469.97 <sup>a</sup> $\pm 18.12$	0.10 <sup>a</sup> $\pm 0.01$	8.89 <sup>ab</sup> $\pm 0.30$
PN_PEF_15	1165.37 <sup>e</sup> $\pm 8.60$	65.56 <sup>c</sup> $\pm 3.64$	1737.16 <sup>e</sup> $\pm 8.58$	0.06 <sup>cd</sup> $\pm 0.00$	9.21 <sup>ab</sup> $\pm 0.65$

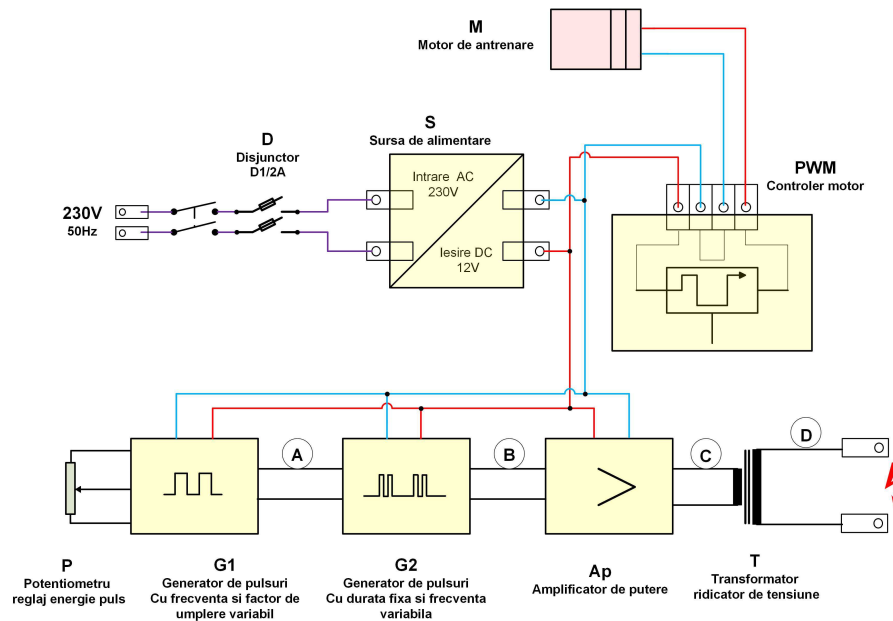
The parameter values, displayed as mean  $\pm$  SD. Three samples from each wine variety and treatment, were individually analysed in duplicate (N=6). For each column (i.e. parameter), different letters prescribe statistical significant differences between the wine samples (P = 0.05).

Conținutul cel mai ridicat de fenoli totali și antociani monomerici îl prezintă vinul **Merlot** (proba control) comparativ cu vinul control **Pinot Noir**. Tratamentul cu PEF a avut ca

rezultat creșteri semnificative a conținutului în fenoli totali, cu excepția tratamentului **MT\_PEF\_21** și **PN\_PEF\_11**. Cel mai eficient tratament PEF a fost obținut atunci când distanța dintre tamburi a aparatului PEF a fost de 2.5 mm, 8 kV, 300 secunde și frecvența de 344 Hz. Conținutul cel mai ridicat în flavonoide, îl reprezintă probele de vin **Pinot Noir**.

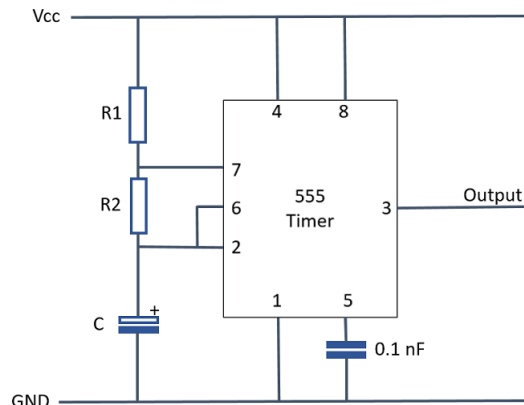
#### IV.2. Realizare sursă de tensiune și frecvență variabilă pentru modelul funcțional pentru tratarea mustelii/bostină prin electroplasmoliză. Definitivare model funcțional

Sursa de înaltă tensiune și frecvență generează impulsuri de înaltă tensiune cu amplitudine de până la 25kV și durata de 0,5ms. Tensiunea este limitată prin descarcarea care apare în dispozitiv la o valoare de 6-8kV. Aceste impulsuri sunt generate cu o anumită repetabilitate în timp, repetabilitate care poate fi reglată astfel încât energia electrică transferată spre struguri să poată fi controlată. Schema bloc a sursei de înaltă tensiune este prezentată în **Figura IV.22**.



**Figura IV.22.** Schema bloc a sursei de înaltă tensiune

Modulul G1 (**Figura IV.23.**) este construit în jurul integratului 555 conectat ca un multivibrator astabil. Pinul 2 și pinul 6 sunt conectați împreună, permițând circuitului să se declanșeze din nou pe fiecare ciclu, funcționând ca un oscilator liber.



**Figura IV.23.** Modulul G1

În timpul fiecărui ciclu, un condensator C se încarcă prin ambele rezistoare, R1 și R2, dar se descarcă numai prin rezistorul R2. Condensatorul se încarcă până la  $\frac{2}{3} V_{cc}$  (limita superioară a comparatorului) care este determinată de combinația  $0.693 (R1 + R2) * C$  și se descarcă până la  $\frac{1}{3} V_{cc}$  (limita inferioară a comparatorului) determinată de  $0,693 (R2 * C)$ . Ca atare, perioadele de încărcare și descărcare au valorile:

$$T_{ON} = 0.693 (R1 + R2) * C$$

$$T_{OFF} = 0.693 * R2 * C$$

$$T = T_{ON} + T_{OFF}$$

$$\text{Duty Cycle} = R1 / (R1 + R2)$$

$$f_{OSC} = 1.44 / (R1 + R2) * C$$

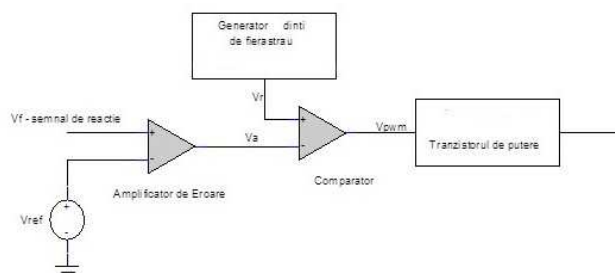
În cazul modulului G1, rezistorul R2 este un potențiomtru P montat pe panoul de comandă al sursei de înaltă tensiune.

Modulul G2 este construit tot în jurul unui integrat 555 conectat ca multivibrator astabil, dar a carui intrare de reset este comandată de ieșirea modulului G2. Se obține astfel la ieșirea modulului G2 un tren de impulsuri de durată fixă dar cu un număr variabil de impulsuri pe o perioadă fixă. Numarul de impulsuri pe această perioadă fixă se poate regla din potențiomtrul P. Se reglează astfel energia electrică transmisă prin impulsuri.

Modulul G3 este un amplificator de putere necesar comenzii înfășurării primare a transformatorului ridicător de tensiune. La bornele înfășurării secundare a transformatorului se obțin astfel impulsurile de înaltă tensiune.

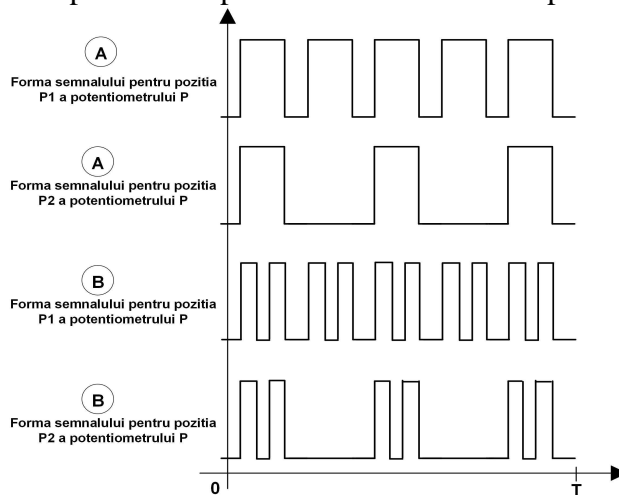
Modulul PWM controlează turația motorului ce antrenează mecanismul instalației și este în principiu un modul care modulează semnalul de comanda al motorului în impulsuri cu lățimea impulsului variabilă. Aceasta lățime a impulsului este reglată printr-un potențiomtru dispus pe panoul de comanda al sursei de înaltă tensiune.

Principiul de realizare a unui astfel de modulator PWM este prezentat în **Figura IV.24**.



**Figura IV.24. Modulator PWM**

Formele de undă în punctele importante din schemă sunt prezentate în **Figura IV.25**.



**Figura IV.25. Formele de undă în punctele importante**

Sursă de tensiune și frecvență variabilă pentru model modelului funcțional pentru tratarea mustuelii/boștina prin electroplasmoliză realizată în cadrul acestei etape este prezentată în **Figurile IV.26 și IV.27.**



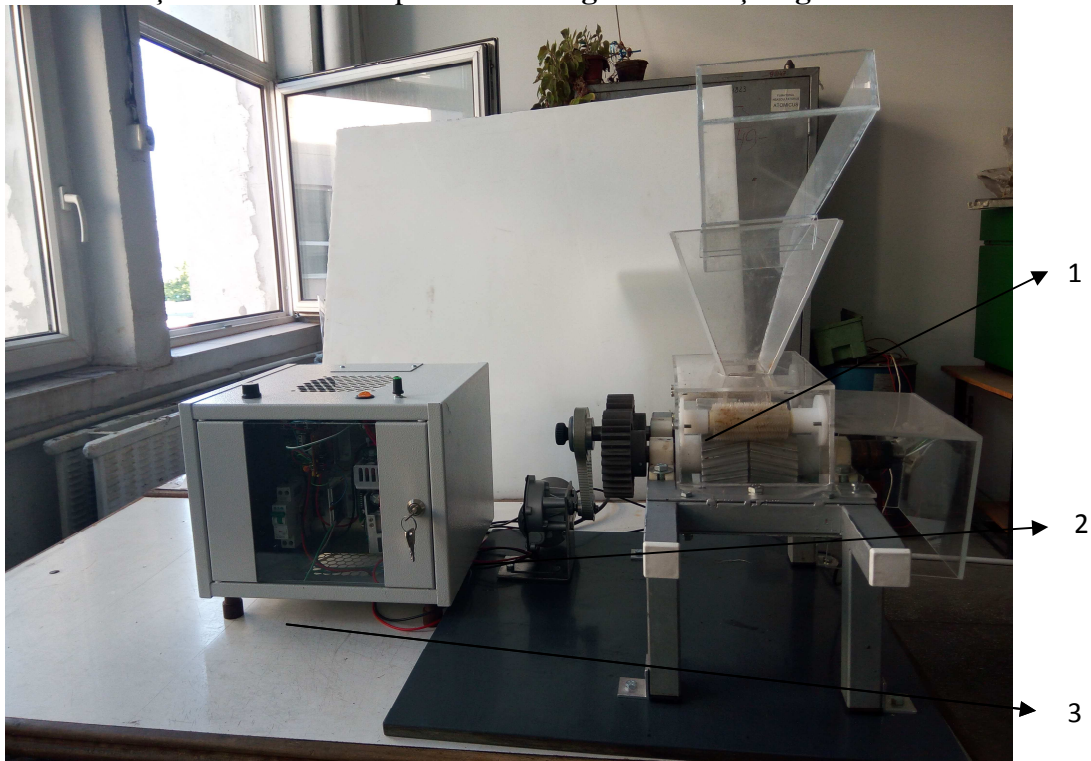
**Figura IV.26.**



**Figura IV.27.**

Toate elementele sursei sunt montate într-un dulap tip rack 4.5. Transformatorul ridicător de tensiune permite creșterea tensiunii furnizate de sursa de alimentare (12Vcc) până la valoarea de max. 8 kV).

Modelul funcțional realizat este prezentat în **Figura IV.28 și Figura IV.29.**



**Figura IV.28**



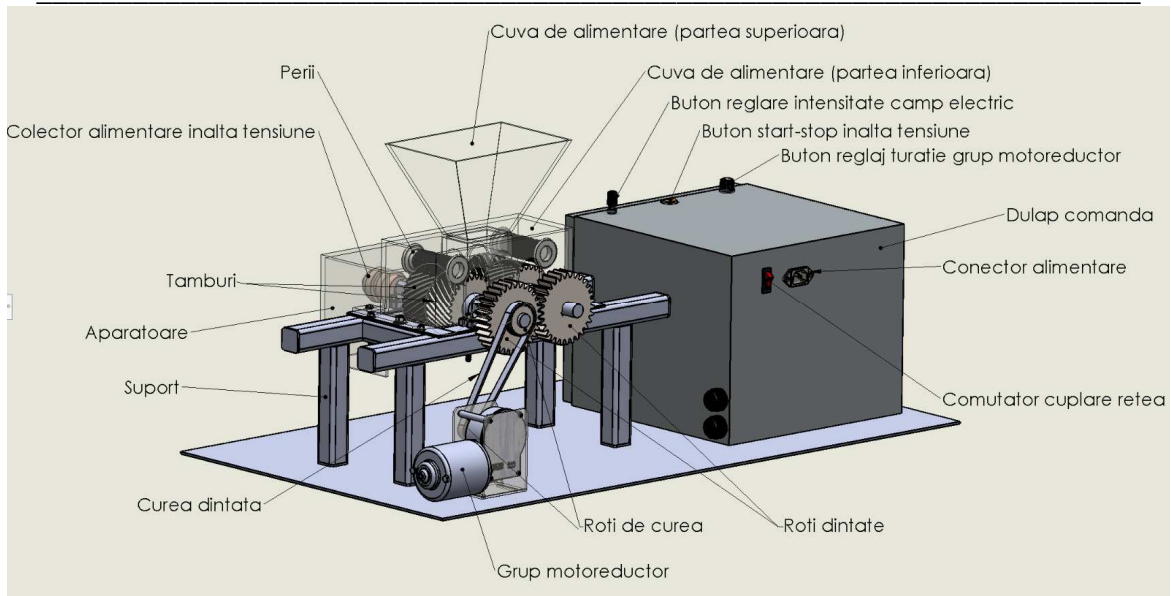


Figura IV.29

Principalele părți componente:

1. Agregat procesare prin electroplasmoliză;
2. Grup motoreductor pentru acționarea tamburilor în mișcare de rotație;
3. Bloc alimentare și comandă.

Au fost aduse următoarele îmbunătățiri modelului realizat:

Ansamblul de acționare (rotire) a tamburilor cu roți dințate, asigură rotirea în sens contrar a celor 2 perechi de tamburi. Rotirea se poate realiza manual cu o manivelă fixată pe axul conducător sau cu un sistem electromecanic. Sistemul electromecanic are în componență următoarele elemente: un grup motoreductor (24V, 45A, cc), un sistem de transmitere a mișcării de rotație la arborele conducător (roți de curea RC 21 T5 20 dinți și RC21 T5 40 dinți, curea dințată T5/400) care angrenează arborele condus prin intermediul unui sistem cu roți dințate ( $z=41$ ,  $m2$ ). Pe cei doi arbori se află montați 4 tamburi cu canale construite după o geometrie specială (30 canale la 12 grade), astfel încât distanța dintre vârfurile tamburilor să se păstreze constantă la 5mm în timpul mișcării de rotație. Tamburii sunt alimentați continuu (printr-un ansamblu colector port perii-perii) de la sursa de tensiune înaltă și frecvență variabilă, materialul (boștina) trecând printre tamburi, aici obținându-se efectul de electroplasmoliză prin aplicarea unor impulsuri electrice. Sistemul este susținut de o structură metalică suport construită din țevă cu profil rectangular 30 mm x 30 mm de 3 mm grosime, suport prevăzut cu tampoane de cauciuc pentru limitarea efectelor nedorite date de vibrații.

Mișcarea de rotație a celor două axe pe care se afla montați tamburi este realizată prin intermediul unui angrenaj cu roți dințate cu dinți drepti ( $z=41$ ,  $m2$ ) cu distanța între axe de 80 mm și care asigură o distanță între varfurile tamburilor de 5mm, necesară amorsării și desfășurării procesului de electroplasmoliză.

Un ansamblul de perii acționate în mișcare de rotație de către tamburi cu rolul de a curăța tamburi de resturile rămase în canale în timpul procesării boștinei care conduceau la blocarea funcționării agregatului.

Reglajul vitezei de rotire a tamburilor prin intermediul grupului motoreductor, asigură desfășurarea normală a procesului de electroplasmoliză prin cantitatea corespunzătoare de materie primă (boștina) procesată. Adăugarea jgheabului de alimentare deasupra cuvei, permite alimentarea mecanică cu materie primă prin intermediul unui sistem cu melc transportor. Materia primă procesată poate fi colectată din vasul aflat sub agregatul de electroplasmoliză printr-un canal în vasul de fermentare (butoi, puțină).

### IV.3. Definitivarea fluxului tehnologic pentru tratarea mustuelii/bostină prin electroplasmoliză

În cadrul acestei etape au fost analizate atât probele de vin obținute în anul **2016** (*proaspăt, 11.2016* și *vechi de 6 luni, 04.2017*) cât și probele de must procesate în anul **2017**. Strugurii din soiul **Pinot Noir** și **Merlot** au fost recoltați din localitatea Sântimreu, comuna Sălard, județul Bihor, din producția anului 2016, în timpul etapei de coacere optimă având indicele Brix 23 și aciditatea totală 5,8 g/l.

Tehnologia de vinificare primară pentru cele două soiuri de struguri studiați a parcurs următoarele etape:

1. Desciorcinarea, operație care constă în îndepărtarea ciorchinilor și separarea boabelor de struguri;
2. Zdrobirea boabelor cu ajutorul zdrobitorului pentru struguri, având grijă să nu spargem semințele care ar fi adus suplimentar taninuri;
3. Împărțirea mustuelii obținute în 6 eșantioane (1 probă Martor și 5 probe care au fost tratate PEF);
4. Separarea mustului după două zile de la tratament în anul 2016, iar în anul 2017 separarea s-a făcut imediat după procesare.

În anul 2017 am procesat aceleași soiuri de struguri (**Pinot Noir** și **Merlot**) ca și în anul 2016, recoltați din localitatea Sântimreu, comuna Sălard, județul Bihor. Determinările experimentale sau desfășurate în data de 15.09.2017, utilizând modelul experimental prezentat în **Figura IV.28. IV.29.**

Datorită faptului că finalizarea proiectului se face la data de **30.09.2017**, au fost analizate doar probele de must provenite în urma procesării, urmând ca vinul să fie analizat după obținere. Ne propunem să monitorizăm și să comparăm rezultatele obținute în anul 2016 cu cele din anul 2017, procesarea s-a realizat cu ajutorul modelului experimental prezentat în **Figura IV.29.**

Strugurii având indicele Brix 23 și aciditatea totală: 5,8 g/l (comparabilă cu valorile din 2016). După desciorchinare și concasarea strugurilor, probele au fost tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) și apoi comparate cu probele netratate.

Am procesat o cantitate de 50 kg din fiecare soi de struguri, această cantitate a fost împărțită astfel: 10 kg proba martor și câte 10 kg pentru fiecare probă studiată, codificarea acestora fiind prezentată în **Tabelul IV.10.**

**Tabelul IV.10**

Codificarea probelor de must Pinot Noir și Merlot\_2016\_2017

Anul	Pinot Noir	Merlot	Distanța dintre tamburi [mm]	Tensiune [kV]	Durata unui impuls PEF [μs]	Frecvența [Hz]	Nr. treceri prin instalația PEF
2016	PN_M_2016	MT_M_2016	-	-	-	-	
	PN_PEF_1	MT_PEF_1	7	7	2	178	2
	PN_PEF_2	MT_PEF_2	7	8	2	344	2
	PN_PEF_3	MT_PEF_3	2.5	7	2	178	2
	PN_PEF_4	MT_PEF_4	2.5	8	2	344	2
2017	PN_M_2017	MT_M_2017	-	-	-	-	
	PN_X1_FU1	MT_X1_FU1	5	8	2	112	1
	PN_X1_FU2	MT_X1_FU2	5	8	2	224	1
	PN_X2_FU1	MT_X2_FU1	5	8	2	112	2
	PN_X2_FU2	MT_X2_FU2	5	8	2	224	2

### IV.3.1. Analizele fizico-chimice ale probelor procesate în anul 2017 comparativ cu 2016

#### IV.3.1.1. Analiza spectrofotometrică UVVIS a probelor de must 2017

Probele de must Pinot Noir și Merlot au fost analizate cu un spectrofotometru Shimadzu 1700 PharmaSpec UV-VIS pe domeniul lungimilor de undă 380-780 nm. Scopul analizei a fost de a determina proprietățile cromatice (RGB, CIEL\*a\*b\* și CIEL\*C\*h\*) a probelor de must studiate din anul 2017 și compararea cu cele din anul 2016. Pentru determinarea proprietăților cromatice specifice ale mustului s-au determinat spectrele de absorbanță de unde s-au citit valorile A420, A520 și A620, la lungimile de unde respective.

Proprietățile cromatice specifice vinurilor sunt: **CI** = intensitatea culorii vinului – arată cât de „închisă” este culoarea,  $CI = A_{420} + A_{520} + A_{620}$ ; **Tint** = nuanța culorii vinului,  $Tint = A_{420}/A_{520}$ ; **%Red** =  $A_{620}/CI$ ; **%Blue** =  $A_{420}/CI$ . Mărimile A420, A520 și A620 reprezintă absorbanțele pentru proba de vin la 420, 520 și 620 nm.

Parametrii cromatici vizați de această analiză sunt cei ai spațiilor cromatice RGB, CIEL\*a\*b\* și CIEL\*C\*h\*. Culoarea mustului se determină în mod standard prin ridicarea spectrelor VIS de reflectanță sau transmitanță cu cuve de 1mm, 2mm sau 10mm grosime – în funcție de intensitatea culorii mustului. În această fază a proiectului s-a utilizat cuva QS de 10mm pentru toate probele de must Pinot Noir și Merlot. Spectrele UVVIS (380-780 nm) pentru aceste probe de must sunt prezentate în **Figurile IV.30- IV.33**.

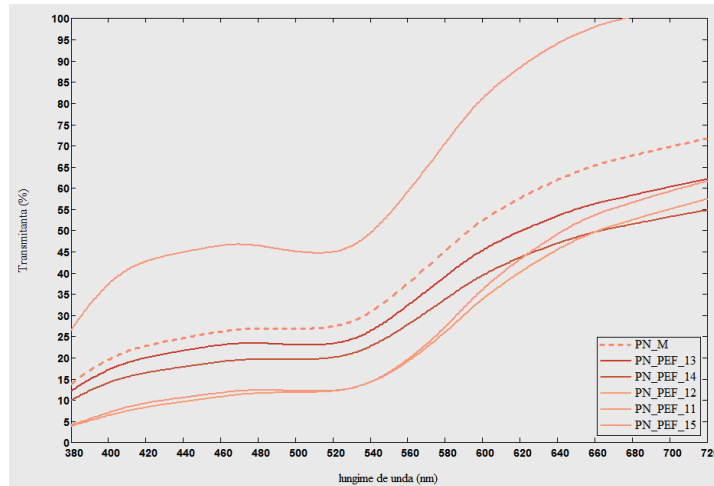


Figura IV.30. Spectrele UVVIS de transmisie a probelor de must **Pinot Noir** din anul 2016

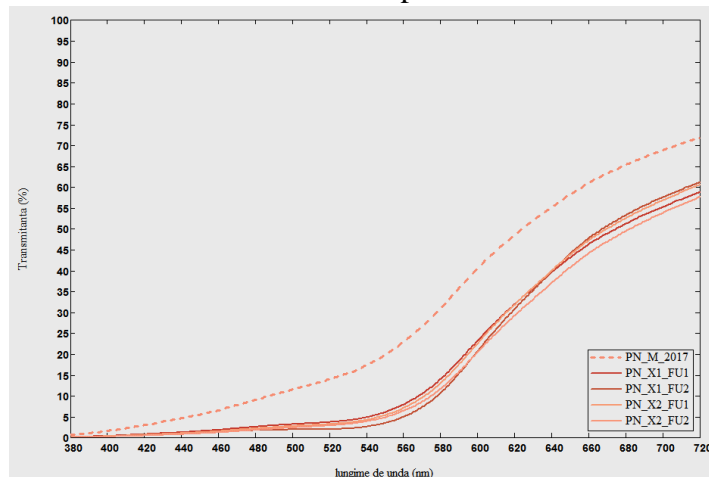


Figura IV.31. Spectrele UVVIS de transmisie a probelor de must **Pinot Noir** din anul 2017

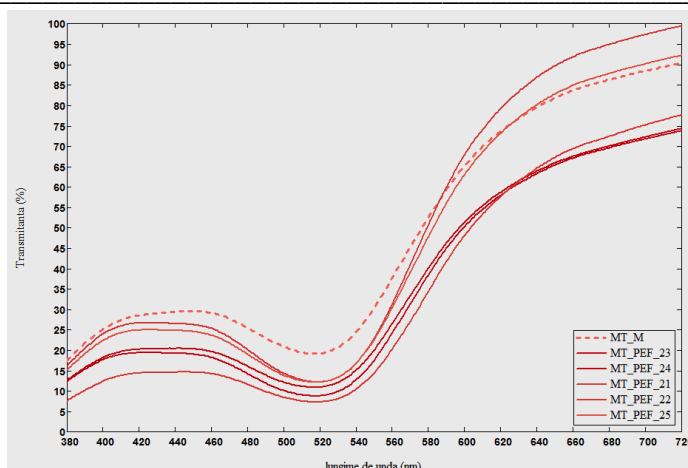


Figura IV.32. Spectrele UVVIS de transmisie a probelor de must Merlot din anul 2016

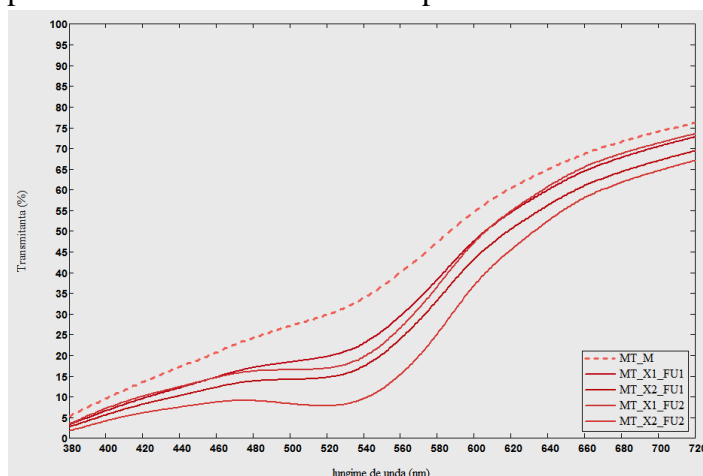


Figura IV.33. Spectrele UVVIS de transmisie a probelor de must Merlot din anul 2017

#### IV.3.1.2. Determinarea proprietăților cromatice pentru soiul Pinot Noir

Din spectrele UVVIS ale probelor de must au fost determinate coordonatele în spațiile tricromatice: RGB, CIE  $L^*a^*b^*$  și CIE  $L^*C^*h^*$  prezentate în **Tabelele IV.11.** și **IV.12** pentru probele de must Pinot Noir. Cu aceste rezultate s-au calculat diferențele de culoare:  $\Delta E$  (CIE  $L^*a^*b^*$ ) prezentate în **Tabelul IV.13.** (pentru Pinot Noir), *colorarea celulelor din aceste tabele s-a realizat simultan pentru probele de must – gradientul de culoare este de la verde (valori minime) la roșu (valori maxime) cu trecere prin galben (pentru mediana).*

**Tabelul IV.11.**

Parametrii cromatici RGB ai probelor de must **Pinot Noir** din 2016 și 2017.

MUST	R	G	B	Culoarea
PN_M 2017	209	116	45	
PN_X1_FU1	173	65	7	
PN_X2_FU1	169	48	2	
PN_X1_FU2	172	61	0	
PN_X2_FU2	165	57	0	
PN_M 2016	225	151	127	
PN_PEF_1	230	158	135	
PN_PEF_2	255	187	168	
PN_PEF_3	192	108	78	
PN_PEF_4	198	108	82	

Abundența mai ridicată de antociani (care sunt răspunzători de culoarea mustului) din probele PN\_PEF\_3 și PN\_PEF\_4 au generat luminanțe, L\*, de valori mai mici și cromaticitate a\* de valori pozitive și mai mari decât cele ale probei martor. Astfel culorile acestor probe sunt de un roșu mai intens decât proba martor. Pe de altă parte, probele PN\_PEF\_11 și PN\_PEF\_12 sunt mult mai pale decât chiar proba martor având luminanța, L\*, de valori maxime și cromaticitatea a\* de valori minime.

**Tabelul IV.12**

Parametrii cromatici CIE L\*a\*b, CIE L\*C\*h\* și diferențele de culoare, ΔE (CIE L\*a\*b\*), pentru probele de must **Pinot Noir** față de probele martor și între probele martor (cu caractere boldate) din anii 2016 și 2017

MUST	L*	a*	b*	C*	h*	ΔE (CIE L*a*b*)
<b>PN_M_2016</b>	67.48	28.48	25.49	33.03	43.81	<b>0.00</b>
<b>PN_PEF_1</b>	75.45	25.25	23.94	34.13	45.14	<b>8.73</b>
<b>PN_PEF_2</b>	83.94	28.82	23.99	36.10	39.18	<b>16.53</b>
<b>PN_PEF_3</b>	56.66	30.95	29.30	44.17	47.16	<b>11.73</b>
<b>PN_PEF_4</b>	57.36	33.39	29.88	46.59	42.54	<b>12.08</b>
<b>PN_M_2017</b>	61.48	36.74	50.76	62.34	58.77	<b>27.26</b>
<b>PN_X1_FU1</b>	45.69	44.47	53.16	66.65	51.65	<b>17.75</b>
<b>PN_X1_FU2</b>	40.64	43.85	54.34	68.42	50.67	<b>22.31</b>
<b>PN_X2_FU1</b>	39.39	50.72	56.47	71.29	45.10	<b>26.76</b>
<b>PN_X2_FU2</b>	41.57	45.82	56.18	69.37	53.59	<b>22.55</b>

**Tabelul IV.12.** confirmă afirmația anterioară prin faptul că diferența de culoare, ΔE (CIE L\*a\*b\*), a probelor PN\_PEF\_2, PN\_PEF\_3, PN\_PEF\_4 este foarte mare (chiar un ordin de mărime, în valori absolute) față de proba martor. Proba PN\_PEF\_1, produce o diferență mică de culoare, dar semnificativă (! Mai mari decât 5,00 unități se consideră semnificativ cromatic) față de proba martor. În concluzie tratamentele PN\_PEF\_2, PN\_PEF\_3 și PN\_PEF\_4 prezintă abundențele cele mai ridicate de antociani, deci aceste tratamente PEF au eficiențele cele mai mari de extracție de biocomponenți.

Diferențele de culoare cel mai ridicate din anul 2017 sunt prezente pentru probele PEF de must Pinot Noir: **PN\_X1\_FU2, PN\_X2\_FU1 și PN\_X2\_FU2**. În cazul acestor probe energia transmisă matricii celulare este mare, ca urmare eficiența procesului de electroporare este și ea mare. În mod natural un index de culoare, CI, mare denotă o culoare intensă care în cazul mustului corespunde unei concentrații ridicate de compuși antocianici. Un fenomen similar se petrece și pentru %Red ce definește proporția de roșu din culoarea unei probe de must sau vin. Mărimea Tint (nuanța) arată ce fel de nuanță are culoarea unei probe, dar în cazul probelor de must diferențele nu sunt mari, aproape nesemnificative, deoarece procesele fermentative încă nu au început.

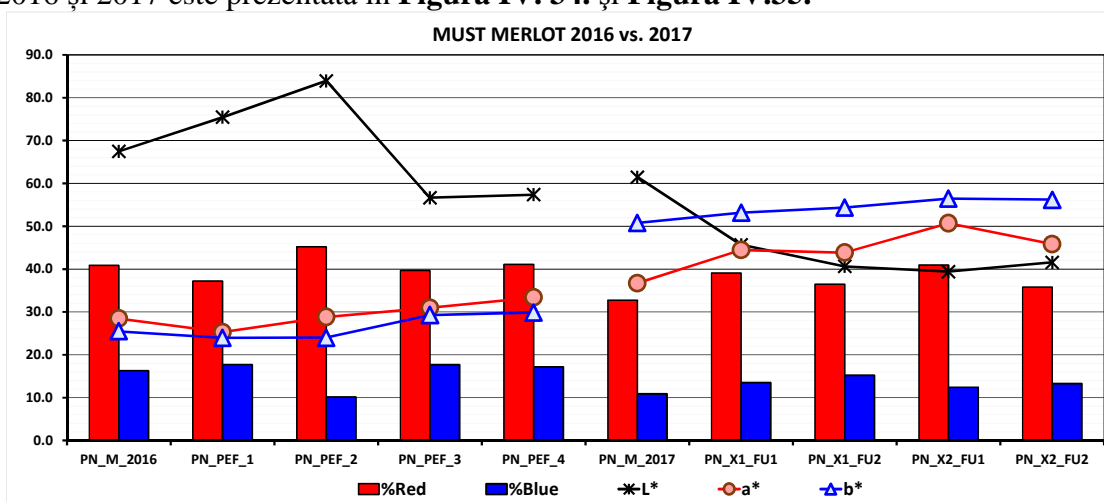
Rezultatele prezentate în **Tabelul IV.13** prezintă creșteri semnificative pentru CI și %Red în cazul tuturor probelor tratate PEF din 2017, ceea ce demonstrează încă odată faptul că procesul de electroporare a dus la creșterea conținutului de compuși antocianici.

**Tabelul IV.13.**

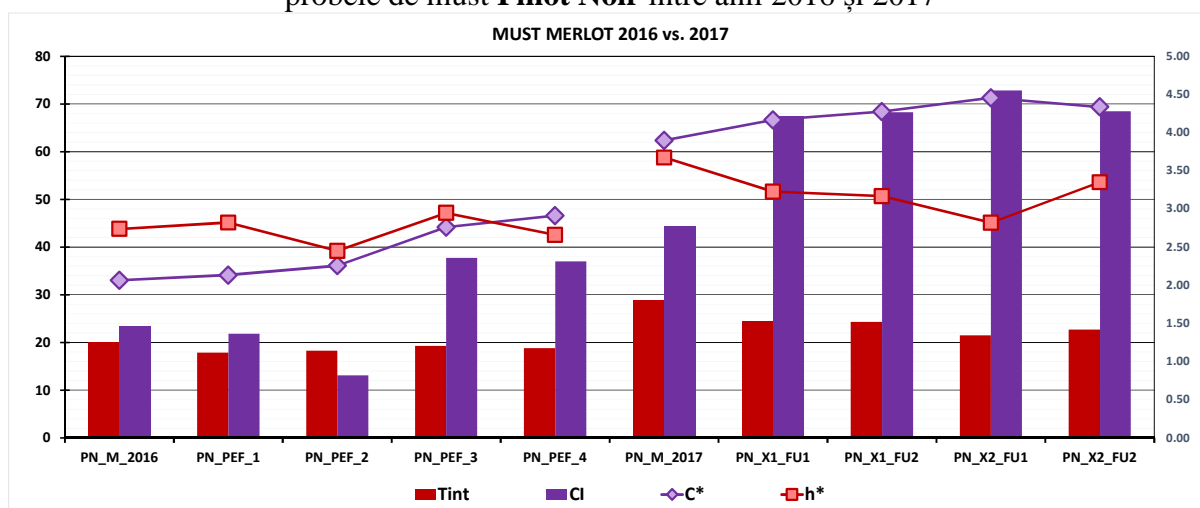
Parametrii cromatici specifici vinurilor pentru probele de must **Pinot Noir** din anii 2016 și 2017

MUST	CI	Tint	%Red	%Blue
<b>PN_M_2016</b>	1.459	1.250	40.856	16.287
<b>PN_PEF_1</b>	1.366	1.119	37.231	17.720
<b>PN_PEF_2</b>	0.820	1.143	45.197	10.111
<b>PN_PEF_3</b>	2.360	1.206	39.669	17.685
<b>PN_PEF_4</b>	2.314	1.173	41.119	17.136
<b>PN_M_2017</b>	2.769	1.799	32.724	10.869
<b>PN_X1_FU1</b>	4.211	1.522	39.063	13.469
<b>PN_X1_FU2</b>	4.268	1.520	36.482	15.216
<b>PN_X2_FU1</b>	4.550	1.343	40.952	12.419
<b>PN_X2_FU2</b>	4.281	1.418	35.822	13.279

Comparația grafică a parametrilor cromatici pentru probe de must **Pinot Noir** între anii 2016 și 2017 este prezentată în **Figura IV. 34.** și **Figura IV.35.**



**Figura IV.34.** Comparația grafică a parametrilor cromatici %Red, %Blue și CIE L\*a\*b\* pentru probele de must **Pinot Noir** între anii 2016 și 2017



**Figura IV.35.** Comparația grafică a parametrilor cromatici Tint, CI și CIE C\*h\* pentru probele de must **Pinot Noir** între anii 2016 și 2017

Rezultatele prezentate comparativ pentru anii 2016 și 2017 din **Figurile IV.34.** și **IV.35** arată faptul că parametri instalației PEF din anul 2017 produc un proces de electroporare cu eficiență mai mare decât unele tratamente PEF din 2016. Din punct de vedere tehnologic și științific acest fapt arată că parametrii PEF din 2017 completează pe cei din 2016 fiind adaptați mult mai bine condițiilor de calitate ale strugurilor **Pinot Noir** din 2017.

#### IV.3.1.3. Determinarea proprietăților cromatice pentru soiul Merlot

Din spectrele UVVIS ale probelor de must au fost determinate coordonatele în spațiile tricromatice: RGB, CIE L\*a\*b\* și CIE L\*C\*h\* prezentate în **Tabelele IV.14.** și **IV.15** pentru probele de must Pinot Noir. Cu aceste rezultate s-au calculat diferențele de culoare:  $\Delta E$  (CIE L\*a\*b\*) prezentate în **Tabelul IV.16.** (pentru Merlot), *colorarea celulelor din aceste tabele s-a realizat simultan pentru probele de must – gradientul de culoare este de la verde (valori minime) la roșu (valori maxime) cu trecere prin galben (pentru mediana).*

Datele prezentate în **Tabelul IV.14.** arată că toate probele tratate cu PEF din anul 2016 au generat luminanțe, L\*, cu valori mai mici și cromaticitate a\* de valori pozitive și mai mari decât cele ale probei martor. Astfel culorile acestor probe sunt de un roșu mult mai intens decât proba martor.

Tabelul IV.14.

Parametrii cromatici RGB ai probelor de must **Merlot** din 2016 și 2017

MUST	R	G	B	Culoarea
MT_M_2017	229	156	105	
MT_X1_FU1	220	133	88	
MT_X2_FU1	213	119	80	
MT_X1_FU2	220	126	89	
MT_X2_FU2	203	94	67	
MT_M_2016	253	142	136	
MT_PEF_1	253	124	124	
MT_PEF_2	255	144	145	
MT_PEF_3	255	126	128	
MT_PEF_4	227	102	94	

Tabelul IV.15.

Parametrii cromatici CIE L\*a\*b, CIE L\*C\*h\* și diferențele de culoare, ΔE (CIE L\*a\*b\*), pentru probele de must **Merlot** față de probele martor și între probele martor (cu caractere boldate) din anii 2016 și 2017

MUST	L*	a*	b*	C*	h*	ΔE (CIE L*a*b*)
MT_M_2016	72.490	42.518	24.513	48.842	29.112	<b>0.000</b>
MT_PEF_1	67.160	52.309	24.930	53.618	27.167	11.155
MT_PEF_2	75.617	51.698	24.585	55.314	25.707	9.698
MT_PEF_3	69.259	55.779	28.215	58.635	25.582	14.143
MT_PEF_4	57.442	49.281	31.585	55.767	31.720	17.950
MT_M_2017	69.920	23.742	37.648	45.933	60.422	<b>23.058</b>
MT_X1_FU1	66.026	28.782	35.177	51.580	53.267	6.831
MT_X1_FU2	64.774	32.524	34.604	48.955	46.622	10.624
MT_X2_FU1	59.686	32.644	38.759	52.886	48.802	13.609
MT_X2_FU2	56.937	40.531	36.516	55.142	40.540	21.253

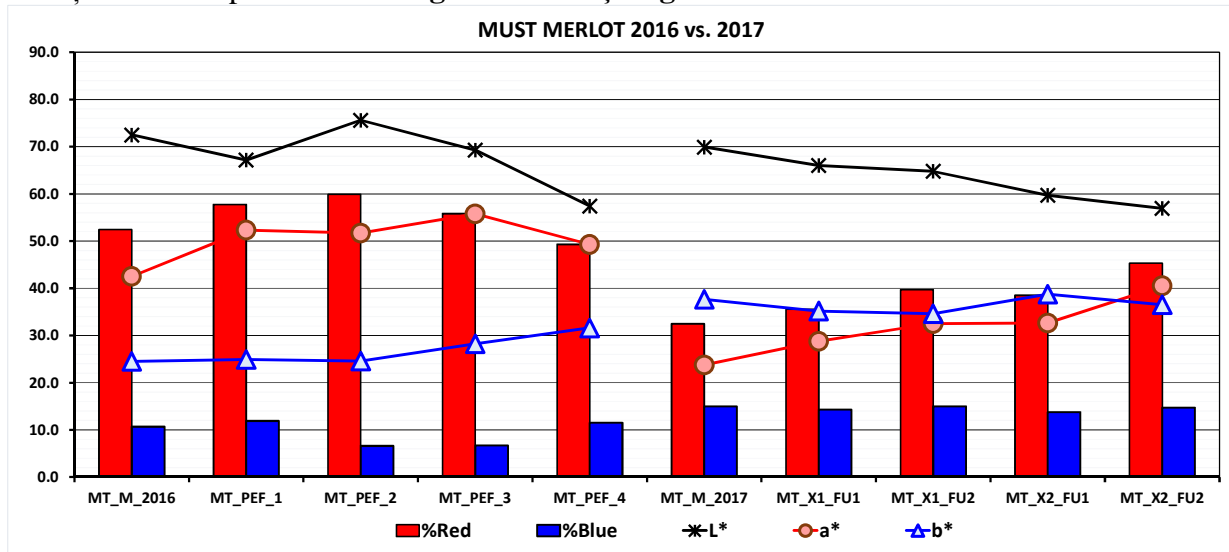
Tabelul IV.16.

Parametrii cromatici specifici vinurilor, pentru probele de must **Merlot** din anii 2016 și 2017

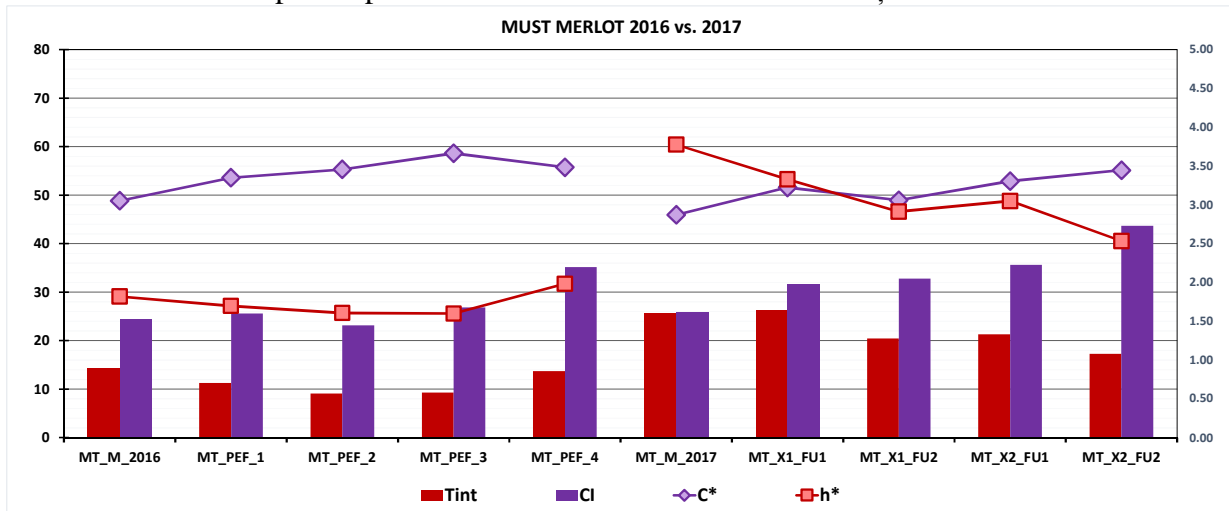
MUST	CI	Tint	%Red	%Blue
MT_M_2016	1.5303	0.8943	52.4437	10.6778
MT_PEF_1	1.5999	0.7030	57.7436	11.8941
MT_PEF_2	1.4489	0.5710	59.8937	6.5828
MT_PEF_3	1.6768	0.5828	55.8096	6.7032
MT_PEF_4	2.1987	0.8551	49.2969	11.4957
MT_M_2017	1.6186	1.6002	32.4815	14.9573
MT_X1_FU1	1.9830	1.6409	35.5602	14.2804
MT_X1_FU2	2.0500	1.2777	39.7049	15.0142
MT_X2_FU1	2.2273	1.3320	38.5308	13.7692
MT_X2_FU2	2.7293	1.0798	45.3161	14.6958

Tabelul IV.15 susține discuția anterioară prin faptul că diferența de culoare, ΔE (CIE L\*a\*b\*), a tuturor probelor de must Merlot tratat este foarte mare (chiar un ordin de mărime, în valori absolute) față de proba martor. Suplimentar, prezența a trei grupări de probe de must tratat este validată și de determinările cromatice, anume prin diferențe foarte mici (sub 5,00 unități) dintre probele din aceeași grupare. Prin urmare, se poate concluziona, la fel ca și din analiza spectrofotometrică a antocianilor, că toate probele de must **Merlot** tratat prezintă abundențele cele mai ridicate de antociani și culorile cele mai intense (L\* cu valorile cele mai mici și a\* cu valorile cele mai mari, pozitive), deci tratamentele MT\_PEF\_3 și MT\_PEF\_4 au eficiențele cele mai mari de extracție de biocompnenți.

Comparația grafică a parametrilor cromatici pentru probe de must Merlot între anii 2016 și 2017 este prezentată în **Figura IV. 36.** și **Figura IV.37.**



**Figura IV. 36.** Comparația grafică a parametrilor cromatici %Red, %Blue și CIE l\*a\*b\* pentru probe de must Merlot între anii 2001 și 2017



**Figura IV.37.** Comparația grafică a parametrilor cromatici %Red, %Blue și CIE l\*a\*b\* pentru probe de must Merlot între anii 2001 și 2017

Pentru probele de must PEF din anul 2017 se observă că diferențele de culoare au amplitudini comparabile cu cele din anul 2016. Ceea ce diferențiază probele de must PEF din anul 2017 față de 2016 sunt rezultatele parametrilor cromatici din **Tabelul IV.16.**

Indexul de culoare, CI, al probelor din anul 2017 este mai mare decât al celor din 2016, dar nu depășește diferența dintre probele martor care prescrie o calitate mai bună a strugurilor din anul 2017 decât cea din 2016. Astfel, parametrul Tint, nuanța culorii, prezintă variații majore între 2016 și 2017, atât pentru probele martor cât și PEF.

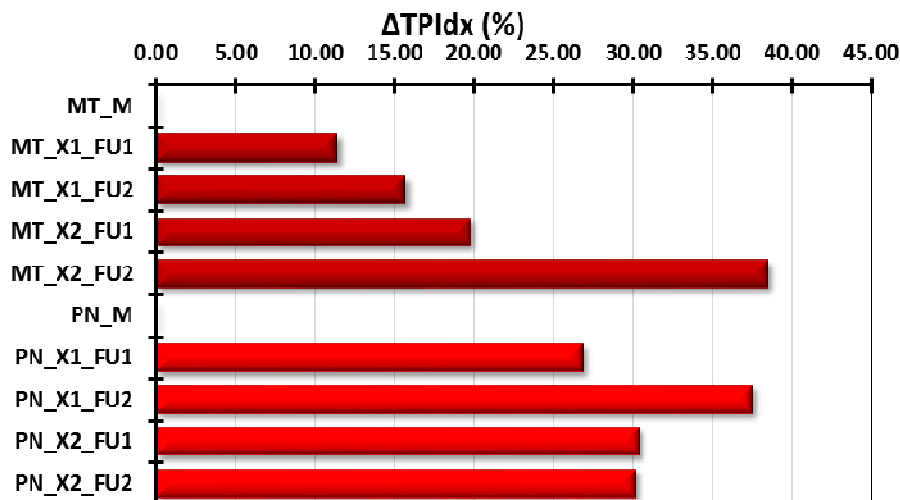
La fel ca și în cazul probelor de **Pinot Noir**, parametrul %Red este discriminatoriu și releva eficiența tratamentelor PEF și în cazul probelor de must Merlot (**Tabelul IV.16**). Ca urmare, tratamentele PEF MT\_X1\_FU2, MT\_X2\_FU1 și MT\_X2\_FU2 generează prin electroporare conținut ridicat de antociani care dau o culoare mai intensă probelor de must corespunzătoare.

Rezultatele prezentate comparativ pentru anii 2016 și 2017 din **Figura IV.37** arată faptul că parametrii instalației PEF din anul 2016 produc un proces de electroporare cu eficiență aproximativ egală cu cele din 2017.



### IV.3.2. Conținutul total de polifenoli

Pentru a descrie conținutul total de polifenoli total s-a utilizat indexul de polifenolilor totali, TPIIdx (u.abs. 280 nm) care se definește ca fiind valoarea absorbanței la 280 nm înmulțită cu factorul de diluție (50 sau 100 prescris de literatura de specialitate). Factorul de diluție ales pentru probele de must **Pinot Noir** și **Merlot** din 2017 este de 50. Citirea absorbăței s-a realizat cu spectrofotometrul UVVIS Shimadzu UV 1700 PharmaSpec (Japonia) cu un baseline pentru o soluție de etanol 12 % v/v în apă cu 3 gL<sup>-1</sup> acid tartric. În **Figura IV.38** sunt prezentate diferențele relative ale indexului de polifenol totali pentru probele de must **Pinot Noir** și **Merlot** tratate cu PEF față de probele netratate, din anul 2017.



**Figura IV.38.** Diferențele relative ale indexului de polifenoli totali ( $\Delta TPIIdx$  (%)) pentru probele de must Pinot Noir și Merlot tratate cu PEF față de probele netratate, din anul 2017

Datele prezentate în **Figura IV.38**, demonstrează faptul că tratamentul PEF este mai eficient pentru strugurii soiului **Pinot Noir** și anume matricea celulară a acestor strugurii eliberează prin tratament PEF polifenoli într-o cantitate mai mare decât în cazul strugurilor **Merlot**.

În cazul strugurilor **Merlot**, creșterea conținutului total de polifenoli este direct proporțională cu numărul de treceri prin instalația PEF și frecvența acestuia, rezultând o creștere a conținutului de polifenoli atunci când crește durata tratamentului PEF și/sau frecvența impulsurilor PEF. Același fenomen este prezent și în cazul probelor **Pinot Noir**, dar numai pentru impulsuri de durată mai mică (1  $\mu s$ ) – PN\_X1\_FU1 și PN\_X2\_FU2.

Pentru probele de must Pinot Noir tratate cu impulsuri PEF de frecvență mare, se produc același cantități de polifenoli indiferent de durata tratamentului PEF (numărul de treceri prin instalație). Acest conținut este intermediar celor două probe cu frecvența înjumătățită, ceea ce este important de cunoscut din punct de vedere tehnico-economic.

#### IV.3.2.1. Analiza multivariată

Analiza multivariată a fost utilizată pentru a determina tratamentul PEF cu parametrii electro-mecanici pentru care procesul de electroporare este cel mai eficient pentru creșterea calității cromatice și implicit biochimice ale mustului **Pinot Noir** și **Merlot**. Metoda multivariată aleasă este analiza componentelor principale (PCA – Principal Component Analysis).

**Tabelele IV.17** și **IV.18** prezintă datele numerice ale valorilor proprii și proporției de varianță explicitată de fiecare component principal în parte. Pentru interpretarea statistică se vor reține doar componentele principale cu valorile proprii mai mari decât unitatea (1,00). În cazul mustului Pinot Noir se vor reține primii trei componenți (**Tabelul IV.17**), care împreună explicitează 98,10% din varianță.

**Tabelul IV.17.**

Statistica descriptivă a componentelor principale din analiza multivariată PCA a parametrilor cromatici pentru probele de must **Pinot Noir** din anii 2016 și 2017

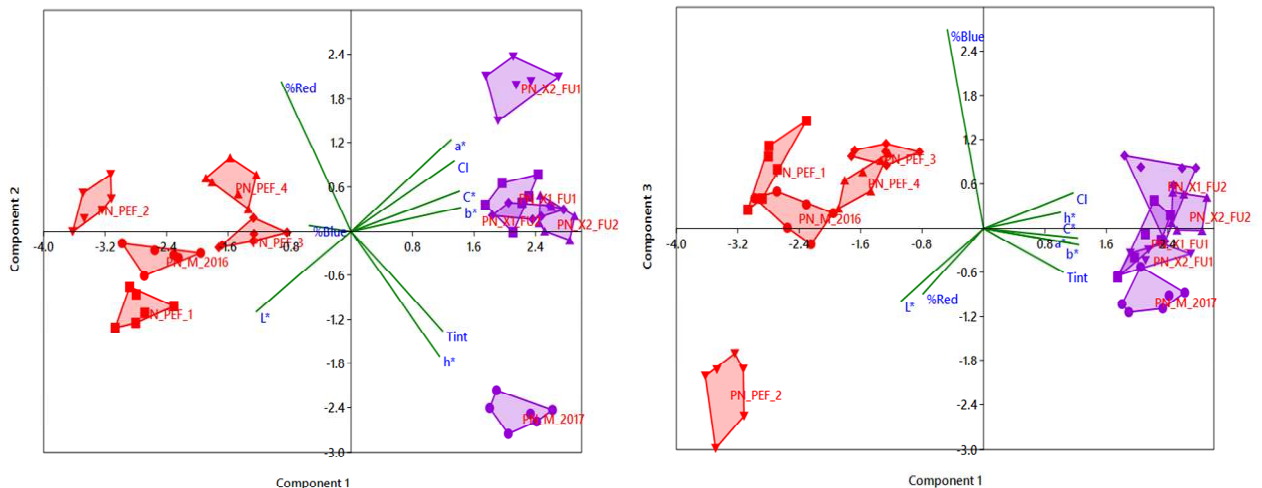
Componentul Principal	Eigenvalue	% variance
<b>1</b>	<b>6.20</b>	<b>68.93</b>
<b>2</b>	<b>1.48</b>	<b>16.44</b>
<b>3</b>	<b>1.15</b>	<b>12.73</b>
4	0.11	1.20
5	0.04	0.43
6	0.01	0.14
7	0.01	0.13
8	0.00	0.02
9	0.00	0.00

**Tabelul IV.18.**

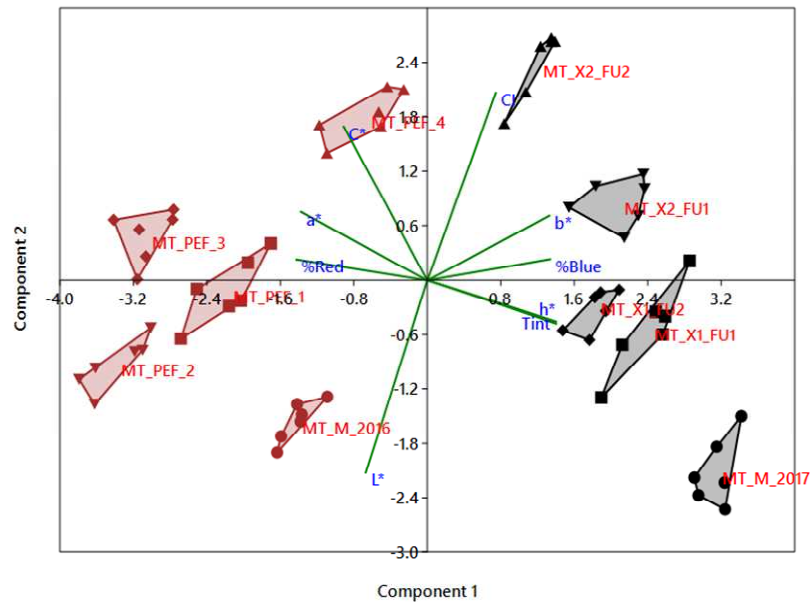
Statistica descriptivă a componentelor principale din analiza multivariată PCA a parametrilor cromatici pentru probele de must **Merlot** din anii 2016 și 2017

Componentul Principal	Eigenvalue	% variance
<b>1</b>	<b>6.26</b>	<b>69.53</b>
<b>2</b>	<b>2.14</b>	<b>23.75</b>
3	0.40	4.48
4	0.08	0.94
5	0.07	0.73
6	0.04	0.45
7	0.01	0.08
8	0.00	0.03
9	0.00	0.00

În cazul mustului Merlot se vor reține doar primele două componente principale, care explicitează 93.28% din varianța totală. În consecință, pentru mustul **Pinot Noir** graficul biplot trebuie reprezentat în două variante: una cu axele principale 1, 2 și alta cu axele principale 1,3 (Figura IV.39), pentru mustul **Merlot** este suficientă doar reprezentarea cu axele principale 1, 2 (Figura IV.40).



**Figura IV.39.** Reprezentarea grafică de tip biplot a rezultatelor analizei multivariate PCA a parametrilor cromatici pentru probele de must **Pinot Noir** din anii 2016 și 2017



**Figura IV.40.** Reprezentarea grafică de tip biplot a rezultatelor analizei multivariate PCA a parametrilor cromatici pentru probele de must **Merlot** din anii 2016 și 2017

Interpretarea rezultatelor din **Figura IV.39** ce prezintă biploturile PCA pentru mustul **Pinot Noir** duce la următoarele concluzii:

- tratamentele PEF, din anii 2016 și 2017, se diferențiază de cele martor/netratate – grupurile acestora se situează la o distanță finită de grupul martor;
- în anul 2017 distanțarea grupurilor probelor PEF este mai pronunțată decât în cazul anului 2016;
- tratamentele PEF PN\_PEF\_3 și PN\_PEF\_4 din anul 2016 și tratamentul PN\_X1\_FU1 din anul 2017, prezintă eficiența cea mai mare la electroporare (pentru anul respectiv) deoarece au conținuturile/nivelele parametrilor %RED,  $a^*$ , CI,  $C^*$ ,  $b^*$  cele mai ridicate și iluminanțele cele mai mici,  $L^*$ .

- comparația tratamentelor PEF dintre anii 2016 și 2017 desemnează toate cele din 2017 ca având eficiența la electroporare prin PEF mult mai mare decât cele din anul 2016.

Interpretarea rezultatelor din **Figura IV.40** ce prezintă biploturile PCA pentru mustul Merlot duce la următoarele concluzii:

- tratamentele PEF, din anii 2016 și 2017, se diferențiază de cele martor/netratate – grupurile acestora se situează la o distanță finită de grupul martor;
- în anul 2017 distanțarea grupurilor probelor PEF este ușor mai pronunțată decât în cazul anului 2016;
- tratamentele PEF MT\_PEF\_3 și PN\_PEF\_4 din anul 2016 și tratamentul PN\_X2\_FU2 din anul 2017, prezintă eficiența cea mai mare la electroporare (!pentru ambii ani!) deoarece au conținuturile/nivelele parametrilor  $a^*$ , CI,  $C^*$ ,  $b^*$  cele mai ridicate și iluminanțele cele mai mici,  $L^*$ .

Aceste două seturi de concluzii emergente analizei multivariate PCA demonstrează că diferențele tipurilor de matrici moleculare influențează semnificativ efectul de electroporare prin tratamente PEF a musturilor de tip **Pinot Noir** și **Merlot**.

#### IV.3.3. Definitivarea fluxului tehnologic

Boabele de struguri din soiurile **Pinot Noir** și **Merlot** au fost zdrobite cu un zdrobitor cu distanța reglabilă între tamburi. În acest caz distanța a fost reglată la 3 mm astfel încât să realizeze spargerea boabelor fără a sparge și semințele care ar avea ca și consecință transferul de uleiuri sicative cu influență negativă în limpezirea ulterioară și stabilitate precum și influențe negative organoleptice în posibilă apariție a gustului de rânced.

Mustuiala rezultată prin zdrobirea boabelor compusă din must, pielițe și semințe, a fost fracționată pe probe (5 probe a câte 10 kg fiecare și o probă martor) care au urmat fiecare un alt procedeu de macerare.

Macerarea clasică a fost făcută în vase închise timp de șapte zile, în fiecare zi amestecând pielițele în masa mustului și stimulând astfel enzimele proteolitice, care trec protopectina în pectină solubilă, dizolvând astfel membrana celulară și eliberând antocianii. Acest proces a fost protejat împotriva oxidării prin tratament cu metabisulfid de potasiu care eliberează treptat în prezența acidității mustului dioxidul de sulf care este un puternic antioxidant.

În anul 2016 macerarea în urma procedurii PEF (câmp electric pulsatoriu), a fost aplicată pe mai multe eșantioane, afectând membrana celulelor pieliței încă de la prima aplicare, astfel că s-a trecut la separarea mustului a doua zi după aplicarea tratamentului.

Presarea a fost aplicată utilizând o presă mecanică manuală pe principiu hidraulic cu șurub, cu presare în două reprize și separarea mustului de tescovină.

Fermentarea în damigene de sticlă cu gol de fermentare. Protecția în fermentare a fost realizată cu dop de fermentare care a asigurat eliminarea bioxidului de carbon, fără a permite accesul aerului exterior. Temperatura de fermentare a fost variabilă între 18-21°C, corectă pentru vinul roșu. Durata fermentației a fost de 12 zile, timp în care s-a verificat transformarea zaharurilor în alcool pe baza substanței uscate. Separarea drojdiilor a fost realizată prin pritor închis, astfel încât vinul să fie protejat de oxidare. Operația de limpezire și stabilizare proteică a fost realizată prin cleire cu bentonită, cu doza de 1g /litru și protecție antioxidativă cu dioxid de sulf, utilizând metabisulfid de potasiu în doză de 150 mg /litru.

Pritocul final al vinului limpezit și stabilizat a fost realizat după 12 zile când depozitul de bentonită a fost realizat după depunerea integrală a gelului din suspensie. Separarea s-a făcut închis cu transvazare în sticle mai mici astfel încât să se poată preleva probe pentru analiză la diferite intervale de timp.

În anul 2017 am procesat aceleași soiuri de struguri (Pinot Noir și Merlot) ca și în anul 2016, recoltați din localitatea Sântimreu, comuna Sălard, județul Bihor. Determinările experimentale sau desfășurate în data de 15.09.2017, utilizând modelul experimental prezentat în **Figura IV.28. IV.29**. Am procesat o cantitate de 50 kg din fiecare soi de struguri, această cantitate a fost împărțită astfel: 10 kg proba martor și câte 10 kg pentru fiecare probă studiată, codificarea acestora fiind prezentată în **Tabelul IV.10**.

Datorită faptului că finalizarea proiectului se face la data de **30.09.2017**, au fost analizate doar probele de must provenite în urma procesării, urmând ca vinul să fie analizat după obținere. Ne propunem să monitorizăm și să comparăm rezultatele obținute în anul 2016 cu cele din anul 2017, procesarea s-a realizat cu ajutorul modelului experimental prezentat în **Figura IV.29**.

Strugurii având indicii Brix 23 și aciditatea totală: 5,7 g/l (comparabilă cu valorile din 2016). După desciorchinare și concasarea strugurilor, probele au fost tratate în câmp electric pulsatoriu (PEF) și apoi comparate cu probele netratate.

Soiul **Pinot Noir** este un soi deficitar în antociani și din aceste considerente este necesar un transfer cât mai complet de culoare, fiind de fapt unul dintre motivele acestui proiect. Mustuiala rezultată prin zdrobirea boabelor compusă din must, pielițe și semințe, a fost fracționată pe probe care au urmat fiecare un alt procedeu de tratare. Proba martor a fost trecută în procesul de presare fără macerare, urmărind să punem în evidență transferul substanței uscate în cazul probelelor netratate comparativ cu cele tratate. Tratamentul PEF a fost aplicat în mai multe variante așa cum rezultă din descrierea prezentată, afectând membrana celulelor pieliței încă de la prima aplicare, astfel că am putut trece la separarea mustului imediat după aplicarea tratamentului, în aceleași condiții cu proba martor.

Pentru presarea mustuiei am utilizat o presă mecanică manuală pe principiu hidraulic cu șurub, cu presare în două reprize și separarea mustului de tescovină.

Mustul rezultat a fost slab colorat, cu un miros de fructe roșii asemănător sucului de cireșe, dulceag. În varianta tratată cu PEF mustul a fost mai colorat, parfumul mai evident și gustul mai plin și mai astringent, randamentul realizat fiind de 69,5%.

Și în cazul soiului de struguri **Merlot** au fost parcurși aceeași pași. Soiul de struguri **Merlot** este un soi versatil, cu acumulare consistentă atât de zaharuri cât și de antociani. Mustul rezultat a fost mai colorat decât în cazul **Pinot Noir**, probele tratate cu PEF fiind mai închise la culoare cu un miros mai evident de fructe negre și un iz ușor de zmeură, în gust se evidențiază o ușoară astringență.

Rezultatele obținute arată faptul că parametri instalației PEF realizată în anul 2017 produc un proces de electroporare cu eficiență mai mare decât unele tratamente PEF din 2016. În cazul mustului rezultat din strugurii **Pinot Noir** rezultatele sunt mai bune decât în cazul celui realizat din strugurii Merlot.

#### **IV.3.4. Analiza senzorială a probelor de vin**

A degusta un vin înseamnă să îi apreciezi calitățile sau să îi depistezi greșelile, altfel spus să îl analizezi. Vinul, ca produs alimentar nu trebuie apreciat numai după raporturile dintre componenții săi, el trebuie caracterizat și în funcție de însușirile gustative, cu atât mai mult cu cât unele dintre componente sunt prezente în proporții reduse, dar influențează în mod hotărâtor gustul, aroma, buchetul și caracterele sale generale.

Metodele analitice și microbiologice nu permit aprecierea completă a produsului dacă nu sunt însoțite și sprijinite de rezultatele aprecierii organoleptice. Sunt multe cazuri când vinurile de calitate superioară din punct de vedere compozițional, pot fi foarte asemănătoare cu cele de consum curent sau de masă; numai însușirile olfactivo-gustative le definesc și le disting.

Analiza organoleptică este cea care ne permite să stabilim momentul optim pentru îmbutelierea vinurilor sau să indicăm vinurile ce pot oferi un cupaj de calitate, să apreciem influența diferitelor tratamente pe care le aplicăm vinurilor asupra însușirilor lor calitative. Vinul nu trebuie numai gustat sau apreciat, efectul său fiziologic, ci trebuie să aibă și un aspect plăcut. Cunoașterea compoziției chimice nu ne pune la îndemână criterii pentru a face această apreciere a aspectului vinului, aceasta demonstrează că degustarea este o metodă sintetică de apreciere a vinurilor. Degustătorul exprimă senzațiile pe care i le provoacă vinul când este gustat, prin anumite cuvinte, evidențiind caracterele acestuia, calitățile ori defecte, ceea ce pot fi numite organoleptice.

Degustarea, ca metodă de apreciere senzorială a vinurilor necesită o obișnuință, o educație specială a simțurilor ce se realizează prin exerciții repetate, făcute pe lângă degustători experimentați, care cunosc cu exactitate relația dintre senzațiile oferite de vin. Sunt importante de asemenea și cuvintele folosite de către degustător pentru a se exprima, deoarece acestea atrag atenția asupra caracteristicilor. Rezultatele aprecierii unui vin sunt, în multe cazuri, diferite de la un degustător la altul, acestea fiind diferite în funcție de dispoziția, aptitudinile, înclinațiile, experiențele, vocabularul, sensul exact pe care îl atribuie cuvintelor folosite în descrierea însușirilor de care dispune vinul, condițiile în care se face degustarea. Ca o concluzie, se poate spune că subiectivitatea joacă un rol deosebit în degustarea vinurilor.

Degustarea s-a desfășurat în *Sala de Oenologie* din cadrul Universității din Oradea, Facultatea de Protecția Mediului. Au fost respectate condițiile pentru desfășurarea degustării, temperatură optimă, pereții de culoare deschisă să nu interfereze cu culoarea vinului, fără mirosuri străine.

Evaluarea senzorială s-a făcut după limpezirea și stabilizarea vinurilor în prealabil, adică după 6 luni de la obținerea lor. Evaluarea s-a realizat prin două metode: metoda de punctaj de la 1 până la 10 și prin metoda descriptivă unde au fost descrise fiecare caracteristică. Ambele metode au avut în vedere evaluarea vizuală, olfactivă, gustativă și armonia caracteristicilor în ansamblu. Analiza senzorială s-a făcut de către patru evaluatori care au acordat note de la 1 la 10 vinurilor **Merlot** și **Pinot Noir**, supuse degustării, în funcție de: culoare, miros, fructozitate,

astringență, aciditate, armonie/echilibru, post gust. Notele s-au trecut în **Tabelul IV.19** și **Tabelul IV.20**, după care s-a făcut analiza statistică prin media aritmetică pentru fiecare probă. Notele obținute în urma evaluării se regăsesc în **Tabelul IV.19**, pentru vinurile obținute din strugurii soiului **Pinot Noir**, la 6 luni de la obținere.

**Tabelul IV.19**

Rezultatele evaluării pentru vinul provenit din soiul **Pinot Noir** la 6 luni de la obținere

<b>Pinot Noir_vin</b>	<b>Culoare</b>	<b>Miros</b>	<b>Fructozitate</b>	<b>Astringență</b>	<b>Aciditate</b>	<b>Armonie/Echilibru</b>	<b>Post Gust</b>	<b>Media</b>
<b>PN_M</b>	7,8	6,8	7,5	6,8	7,3	7,0	6,8	7,1
<b>PN_PEF_11</b>	7,5	7,5	7,3	8,3	7,5	7,8	8,3	7,6
<b>PN_PEF_12</b>	8,3	6,5	6,8	7,5	8,0	7,0	7,5	7,4
<b>PN_PEF_13</b>	7,0	7,8	7,8	7,5	7,3	7,8	8,0	7,5
<b>PN_PEF_14</b>	8,0	7,0	7,3	7,8	7,8	7,5	7,5	7,5
<b>PN_PEF_15</b>	8,5	8,0	7,3	8,0	8,0	7,5	7,8	7,8

- **PN\_M**, se caracterizează prin:
  - vizual, limpede, slab colorat, roșu de cireșe coapte,
  - olfactiv, intensitate medie, miros de cireșe, fructozitate medie, miros vegetal și fenolic;
  - gustativ, cireșe proaspete, dulce acrișor și nuanța de mere stătute, tipicitate și calitate medie.
- **PN\_PEF\_11**, se caracterizează prin:
  - vizual, limpede, bine colorat cu nuanța susținută de roșu de cireșe negre
  - olfactiv, miros proaspăt, mirodenii cu nuanțe vegetale, aroma persistentă
  - gustativ, gust de fructe roșii evaluate în special cireșe negre aciditate medie, destul de echilibrat, structurat cu tipicitate de areal și puțin fenolic.
- **PN\_PEF\_12**, se caracterizează prin:
  - vizual, roșu mediu colorat, limpede cu nuanța proaspătă
  - olfactiv, miros proaspăt și fructuos cu nuanțe vegetale și aromă persistentă;
  - gustativ, fructe roșii, cireșe, vișine cu structură fină astringență vegetală, bine integrată și cu tipicitate de sol și areal.
- **PN\_PEF\_13**, se caracterizează prin:
  - vizual, limpede culoare tipică deschisă dar evoluată
  - olfactiv, miros proaspăt vegetal cu ușoare nuanțe de mirodenii și persistență aromată;
  - gustativ, cireșe roșii supracoapte, fructe albe, ușor dulceag echilibrat tipic dar evoluat, calitate medie.
- **PN\_PEF\_14**, se caracterizează prin:
  - vizual, intensitate colorată slabă, limpede,
  - olfactiv, proaspăt cu note florale și de mirodenii un pic fenolic;
  - gustativ, cireșe un pic dulceag fără astringență, tipic de soi, calitate bună.
- **PN\_PEF\_15**, se caracterizează prin:
  - vizual, limpede, intensitate colorantă medie spre scăzută de roșu de cireșe
  - olfactiv proaspăt, nuanțe ușor vegetale și de mirodenii, cu persistență aromată
  - gustativ, plin corect, specific de cireșe supracoapte, aciditate medie, echilibrat cu tipicitate de soi și areal.

În **Figurile IV.41.a – IV.41.e.** sunt prezentate rezultatele comparative sub formă grafică a probelor de vin provenite din soiul **Pinot Noir**, la 6 luni de la obținere, tratate PEF în comparație cu cele netratate.

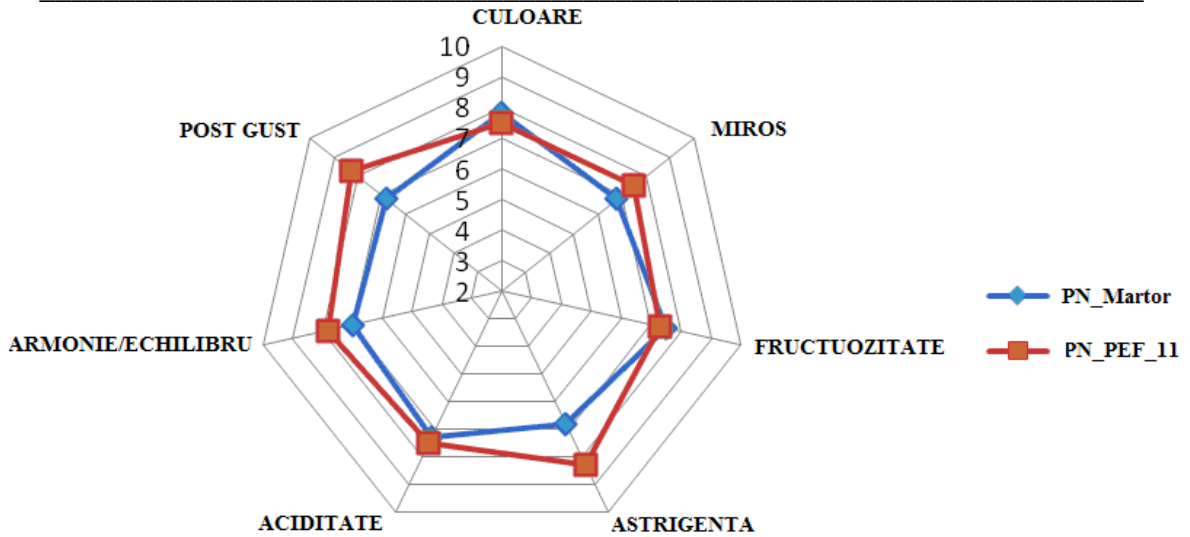


Figura IV.41.a. Rezultate comparative PN\_M și PN\_PEF\_11

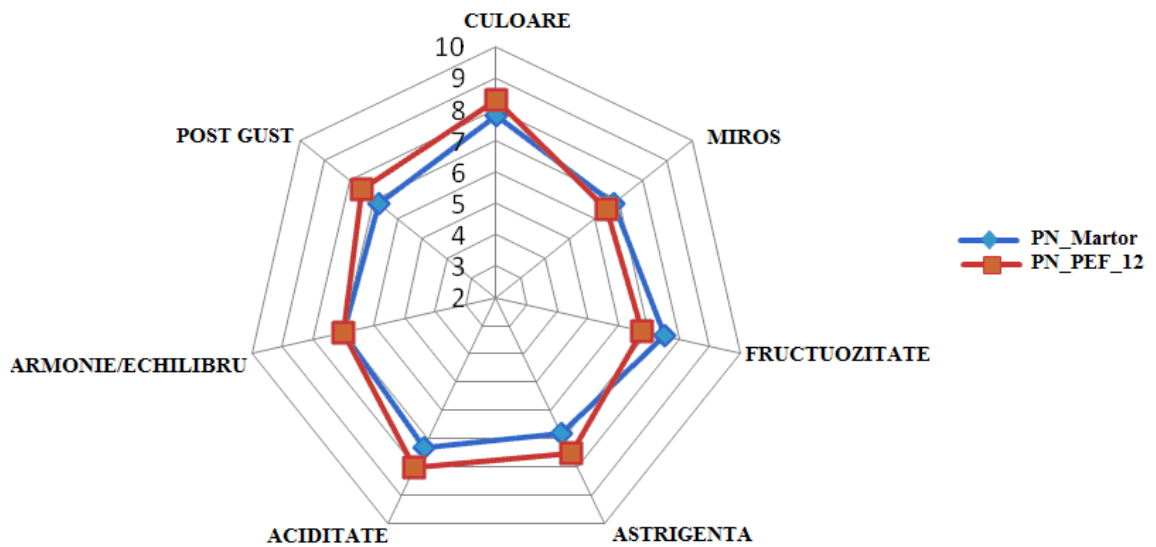


Figura IV.41.b. Rezultate comparative PN\_M și PN\_PEF\_12

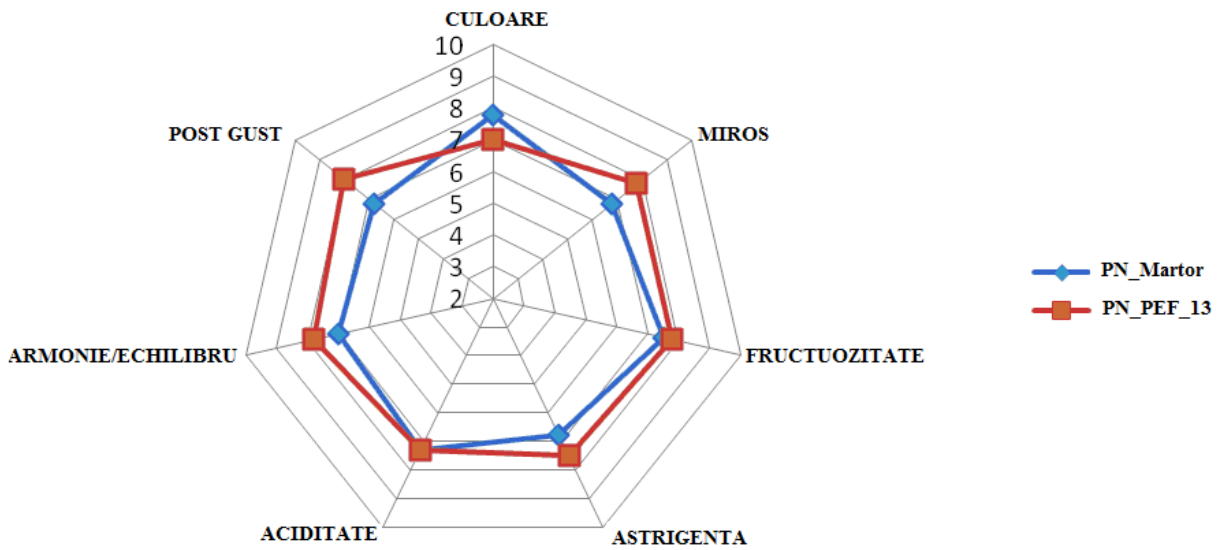


Figura IV.41.c. Rezultate comparative PN\_M și PN\_PEF\_13

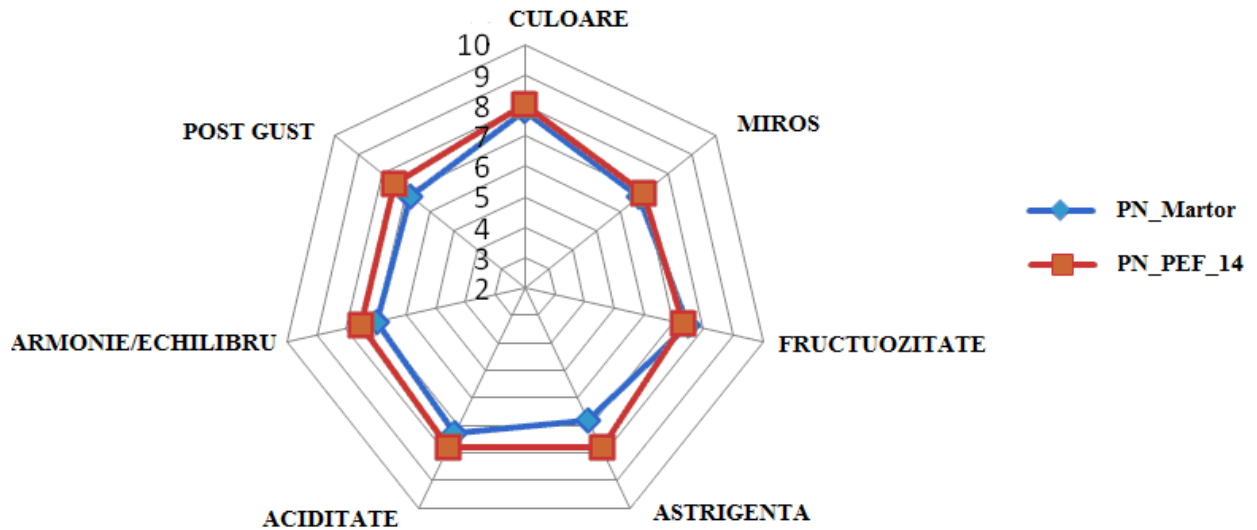


Figura IV.41.d. Rezultate comparative PN\_M și PN\_PEF\_14

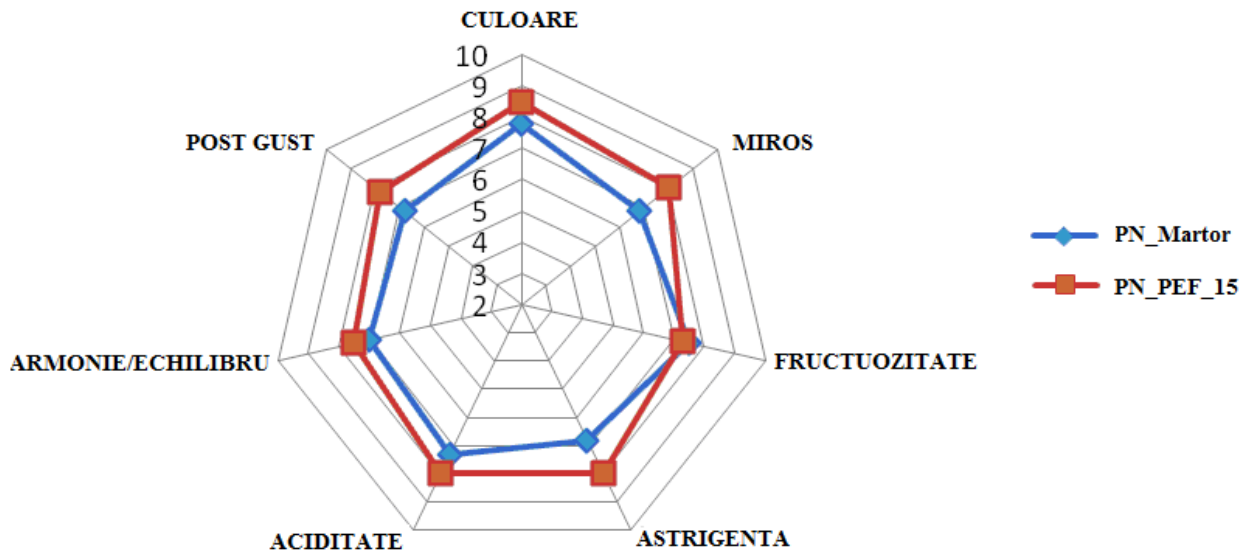


Figura IV.41.e. Rezultate comparative PN\_M și PN\_PEF\_15

Probele tratate PEF în comparație cu proba martor PN\_M din punct de vedere senzorial, vizual au un aport suplimentar de culoare ceea ce denotă un transfer de antociani mai consistent dar fructuozitatea, astringența și aciditatea sunt destul de apropiate de proba martor ceea ce sugerează un transfer echivalent rămânând în schimb un vin armonios. Probele tratate transferă mai puțini polifenoli (tanini), ceea ce crează un vin tânăr, mai armonios și în consecință poate fi valorificat ca vin proaspăt.

În **Tabelul IV.20.** sunt prezentate rezultatele evaluării pentru vinul provenit din soiul Merlot la 6 luni de la obținere.

**Tabelul IV.20.**

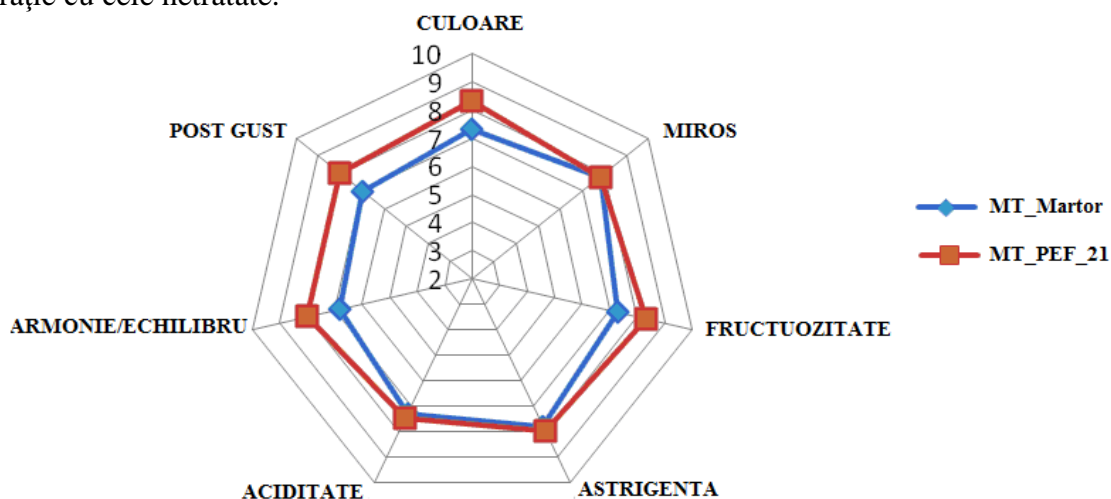
Rezultatele evaluării pentru vinul provenit din soiul Merlot la 6 luni de la obținere

Merlot_vin	Culoare	Miros	Fructo-zitate	Astringență	Aciditate	Armonie/Echilibru	Post Gust	Media
MT_M	7,3	7,8	7,3	7,8	7,3	6,8	7,0	7,3
MT_PEF_21	8,3	7,8	8,3	8,0	7,5	8,0	8,0	8,0
MT_PEF_22	8,5	7,8	7,3	8,3	7,0	7,8	7,8	7,8
MT_PEF_23	8,3	7,8	7,8	8,0	7,8	7,5	8,0	7,9
MT_PEF_24	8,5	8,3	8,5	8,5	8,3	8,0	7,8	8,3
MT_PEF_25	8,3	7,5	7,8	8,0	7,5	7,5	7,3	7,7



- **MT\_M**, se caracterizează prin:
  - vizual, limpede, intensitate medie, nuanță deschisă de roșu proaspăt de vișină;
  - olfactiv, miros mediu, cu fructozitate slabă de cireșe și zmeură cu nuanțe vegetale;
  - gustativ, fructe roșii, cu aciditate fără astringență cu structura medie și tipicitate de areal.
- **MT\_PEF\_21**, se caracterizează prin:
  - vizual, limpede roșu bine colorat cu nuanță deschisă;
  - olfactiv, intensitate medie fără fructozitate, miros de mirodenii, vegetal, persistent
  - gustativ, corp mediu, vegetal agresiv, plin, mure, zmeură, afine, cu caracter de soi și terroir.
- **MT\_PEF\_22**, se caracterizează prin:
  - vizual, limpede, destul de colorat, nuanță medie;
  - olfactiv, destul de neutral cu ușoare note florale, fructuos cu aromă persistentă;
  - gustativ, gust de fructe roșii de pădure, mure, zmeură, căpsuni, evoluat, aciditate mai rotundă și mai multă astringență, tipicitate și calitate de ansamblu medie.
- **MT\_PEF\_23**, se caracterizează prin:
  - vizual, limpede cu un roșu de intensitate medie și nuanță coloraăa medie;
  - olfactiv, miros proaspăt fără fructozitate cu nuanțe vegetale și mediu fenolic;
  - gustativ, plin, zmeură verde, mure, căpșune, ardei, aciditate evidentă, astringență medie, structură și tipicitate medie.
- **MT\_PEF\_24**, se caracterizează prin:
  - vizual, intensitate colorantă medie, limpede nuanța roșu viu
  - olfactiv, miros proaspăt intensitate medie, fructozitate, condimentat și fenolic
  - gustativ, fructe de pădure, cireșe zmeură, mure, aciditate medie, mai plin și corpulent, tipicitate și calitate bună.
- **MT\_PEF\_25**, se caracterizează prin:
  - vizual, limpede bine colorat, nuanța roșu de cireșe coapte
  - olfactiv, intensitate medie fără fructozitate, miros fenolic;
  - gustativ, gust de fructe de pădure, zmeură, mure, căpșuni, aciditate medie, puțin mai lung, nuanță ușoară de astringență cu tipicitate și structură medie.

În **Figurile IV.42.a – IV.42.e.** sunt prezentate rezultatele comparative sub formă grafică a probelor de vin provenite din soiul **Merlot**, la 6 luni de la obținere, tratate PEF în comparație cu cele netratate.



**Figura IV.42.a.** Rezultate comparative MT\_M și MT\_PEF\_21

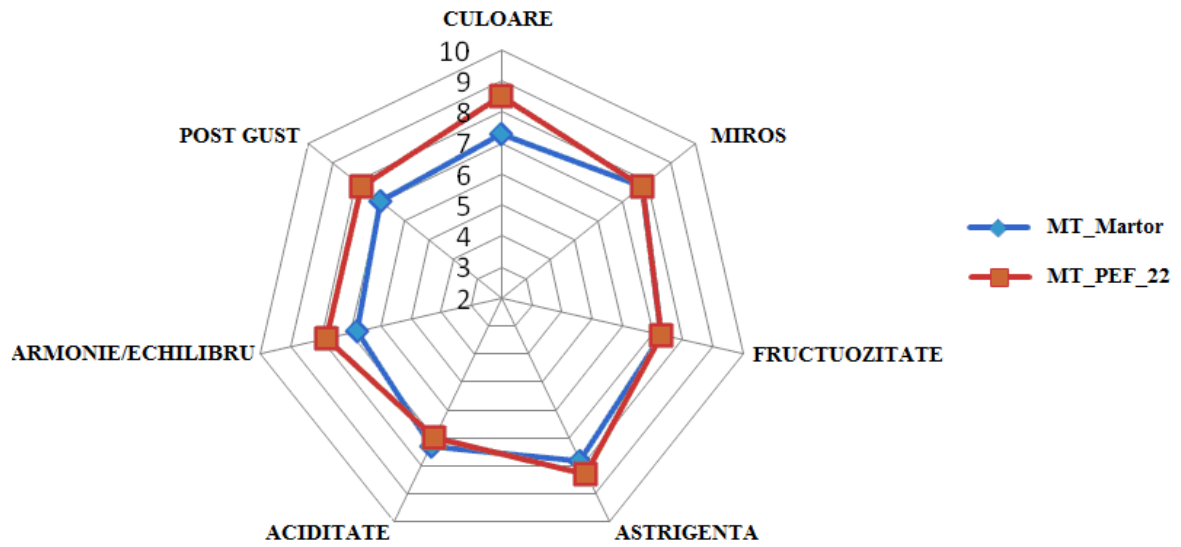


Figura IV.42.b. Rezultate comparative MT\_M și MT\_PEF\_22

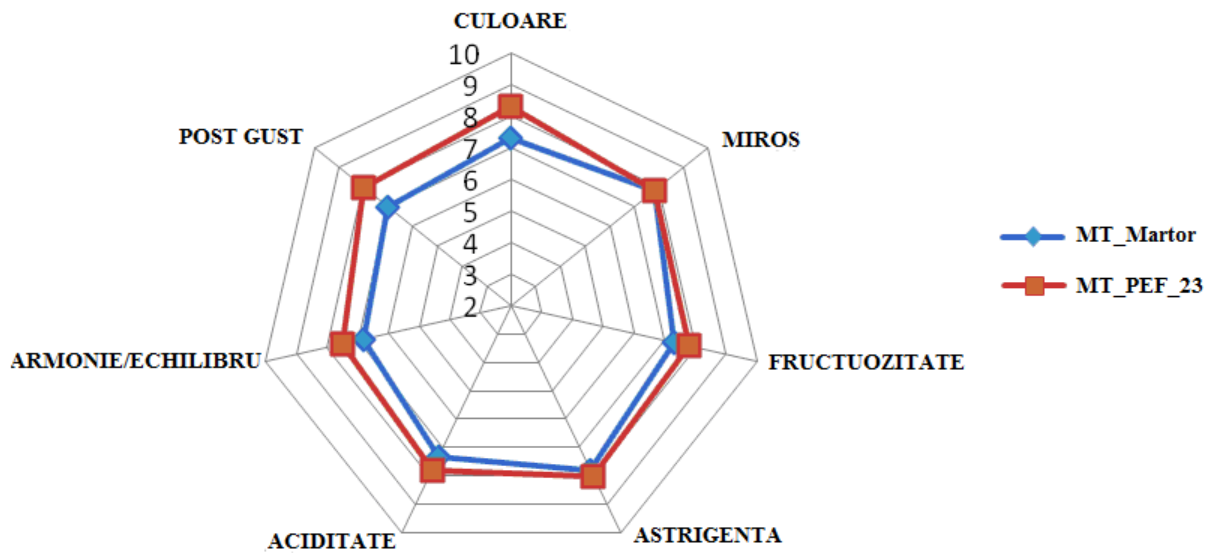


Figura IV.42.c. Rezultate comparative MT\_M și MT\_PEF\_23

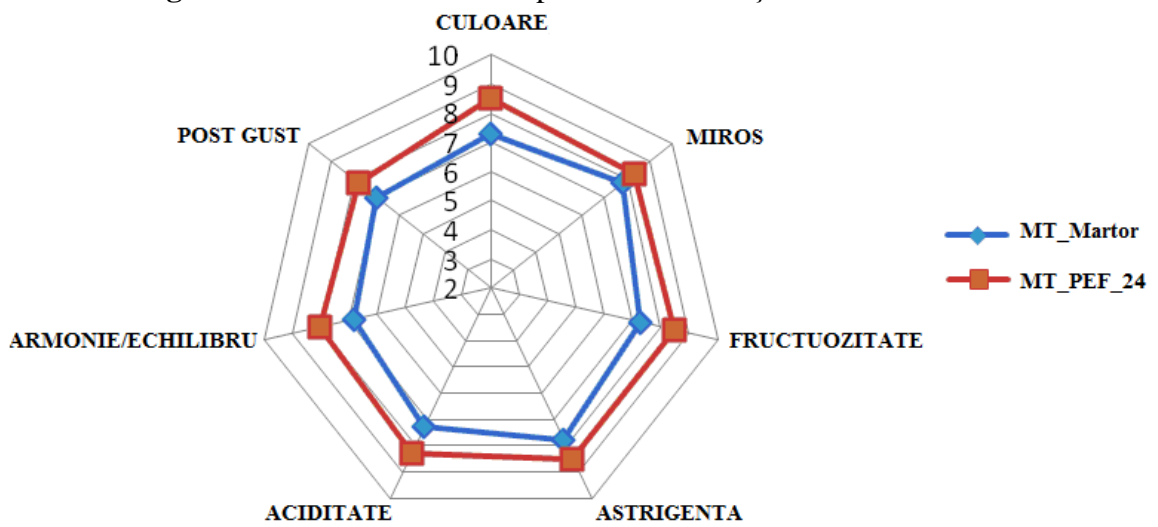


Figura IV. 42.d. Rezultate comparative MT\_M și MT\_PEF\_24

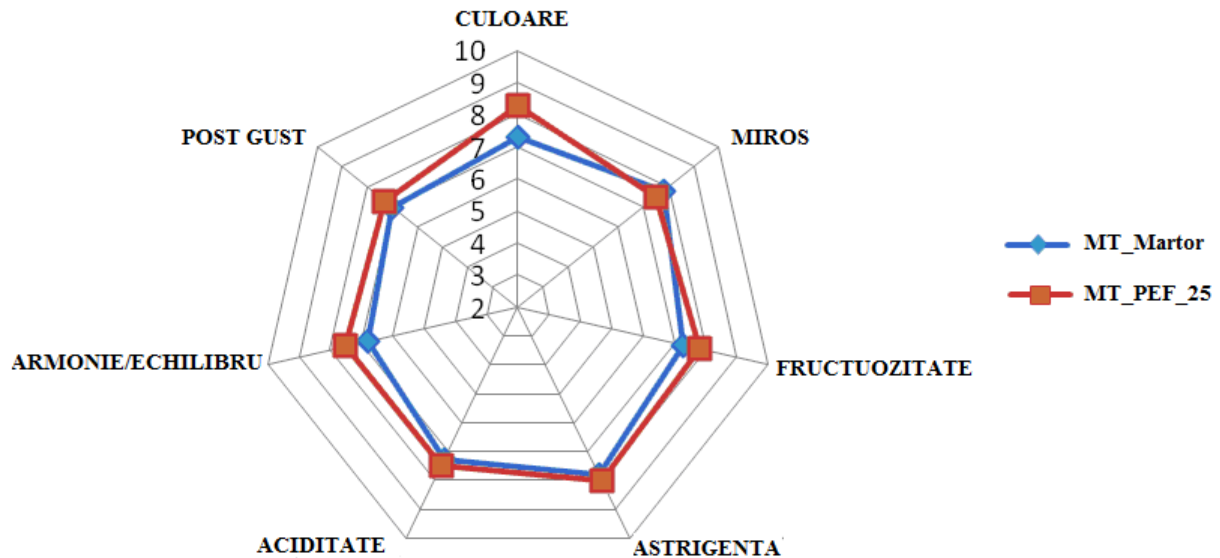


Figura IV.42.e. Rezultate comparative MT\_M și MT\_PEF\_25

Vinurile obținute în urma tratamentului PEF în comparație cu proba martor **MT\_M**, au o nuanță de culoare mai închisă, cu mai multă fructuozitate, cu astringență de același nivel ca și proba martor, dar cu o armonie, echilibru și post gust superior. În cazul probelor tratate cu câmp electric pulsatoriu (PEF) se observă, din punct de vedere senzorial, un transfer suplimentar de antociani, tanini, substanțe volatile, dar într-un registru echilibrat, ceea ce presupune că vinurile pot fi consumate tinere. Deoarece tratamentul este făcut la rece, cantitățile transferate din pielețe și semințe sunt într-un echilibru care asigură prospețimea și armonia vinului.

În concluzie tratamentul PEF este o tehnologie nouă, în curs de dezvoltare, aplicată în industria alimentară. Atenția sporită care i se acordă acestei tehnologii este datorită potențialului său de a spori operațiile de procesare convenționale precum și de a permite pasteurizarea la rece a produselor alimentare. Alimentele tratate în acest mod își păstrează aroma, gustul, aspectul, au o valoare nutritivă excelentă și o durată de păstrare bună.

Tehnologiile aplicate în vinificare, asupra strugurilor sau mustului nu trebuie să afecteze calitatea vinurilor roșii. Această calitate include numeroși factori printre care conținutul de polifenoli, capacitatea antioxidantă, conținutul de antociani, culoarea, aroma și numeroase proprietăți senzoriale.

Studiile făcute pe strugurii **Pinot Noir** și **Merlot**, asupra cărora s-a aplicat un câmp electric pulsatoriu (PEF) au arătat o creștere a intensității culorii, a conținutului de antociani și polifenoli totali în comparație cu proba martor. Prin urmare tehnologia PEF, prin capacitatea sa de a inactiva microorganismele, de a induce permeabilitate celulelor și fără a crește temperatura matricei produsului oferă aplicații potențiale în procesul de vinificare pentru a îmbunătăți calitățile vinului. Și în cazul mustului obținut în anul 2017 se constată o modificare în sensul pozitiv al parametrilor cromatici, senzoriali. Mustul obținut în cazul probelor tratate PEF decât în cazul celor netratate, fiind mai colorat, cu un miros mai evident de fructe negre și un iz ușor de zmeură la soiul **Merlot**. În cazul soiului **Pinot Noir** trata PEF, mustul a fost mai colorat, parfumul mai evident și gustul mai plin și mai astringent.

Rezultatele obținute arată faptul că parametri instalației PEF realizată în anul 2017 produc un proces de electroporare cu eficiență mai mare decât unele tratamente PEF din 2016. În cazul mustului rezultat din strugurii **Pinot Noir** rezultatele sunt mai bune decât în cazul celui realizat din strugurii **Merlot**.

### Bibliografie

1. Ayala F., Echavarri, J. F., & Negueruela, A. I., (1997) - *A new simplified method for measuring the color of wines. I. Red and Rosewines*. American Journal of Enology and Viticulture, 48: 357–363.
2. Bénédicte L., Isabelle Ky., Laurent P., and Pierre-Louis T., (2013) - *Evolution of Analysis of Polyphenols from Grapes, Wines, and Extracts*. Molecules (18), p. 1076-1100.
3. Cliff Margaret A., King Marjoire C., Schlosser Jimmy (2007) - *Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines*. Food Research International, 40, p. 92–100.
4. Diago Maria-Paz, Correa Christian, Millán Borja, Barreiro Pila, Valero Constantino and Tardaguila Javier (2012) - *Grape vine Yield and Leaf Area Estimation Using Supervised Classification Methodology on RGB Images Taken under Field Conditions*. Journal sensors p. 20-25.
5. Gonzalez-San Jose M.L., Santa-Maria G., Diez C., (1990) – *Anthocyanins as parameters for differentiating wines by grape variety, winw-growing region, and wine-making methods*. J. Food Composit Anal 3: 54-66.
- 6.
7. Heredia, F.J.; Francia-Aricha, E.M.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Vicario, I.M.; Santos-Buelga (1998) – *Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes - I. pH effect*. Food Chem. p. 29-39.
8. Jens Priewe (2011) - *Grundkurs Wein: Alles, was man über Wein wissen sollte Gebundene Ausgabe*. Bestseller Nr. 1.
9. Prior R.L., Wu X., Schaich K., (2005) - *Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements*. J. Agric. Food Chem. 53, p. 4290-4302.
10. Puértolas, E., López, N., Condón, S., Álvarez, I., & Raso, J., (2010) - *Potential applications of pulsed electric fields on Cabernet Sauvignon grape berries and on the characteristics of wines*. Food and Bioprocess Technology, 7, 426–436.
11. Vicaș Simona I. (2011) - *HPLC fingerprint of bioactive compounds and antioxidant activities of Viscum album from different host trees*. Not Bot Hort Agrobot Cluj, 2011, 39 (1), 48-57.

#### IV.4. Testare și definitivare Pachet programe WINETECH de soluționare a problemei de câmp electromagnetic în mustuală/boștină cuplate cu problema de difuzie termică

În fazele anterioare ale contractului au fost prezentate proceduri de determinare a valorilor parametrilor fizici ai bostinei, necesari soluționării problemelor de câmp electromagnetic și difuzie termică (vezi **Tabelul III.2.1 din raportul științific. III**). Nu a fost luată în considerare mișcarea boștinei antrenată de rotația tamburilor.

În această fază se analizează influența mișcării boștinei, sunt elaborați algoritmi de soluționare a problemei de câmp electromagnetic și difuzie termică, ținând cont de această mișcare și sunt elaborate programe de calcul numeric.

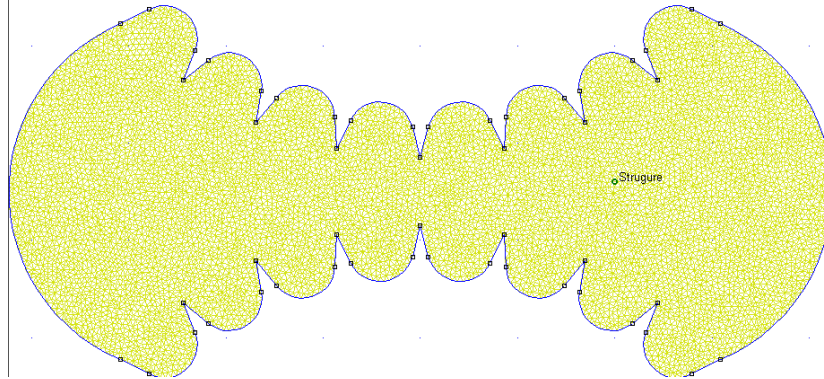
##### IV.4.1. Soluționarea problemei de câmp electromagnetic

Problema de câmp electromagnetic descrisă de regimul cvasistaționar anamagnetic al câmpului electromagnetic ( $\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} = 0$ , în legea inducției electromagnetice).

În fazele anterioare s-a dovedit că soluția asimptotică este obținută foarte rapid, deci, cu o bună aproximație se poate adopta regimul electrocinetic (soluția asimptotică). A fost adoptat domeniul de calcul din **Figura IV.43.**, care detaliază doar zona din vecinătatea dinților cei mai

apropiați. În **Figura IV.43**, pozițiile tamburilor corespund dinților opozabili (simetrie), dar cele ce urmează a fi prezentate sunt valabile și pentru alte poziții, de ex. dinte opus canalului. Geometria 2D și rețeaua de triunghiuri a fost construită cu programul FEMM. Apoi a fost importat fișierul ce conține:

- coordonatele nodurilor;
- conexiunea triunghiuri-noduri;
- condiții de frontieră;
- material.



**Figura IV.43.** Domeniul de calcul

Condițiile de frontieră sunt:

- pe dantura superioară  $V=0$ ,
- pe dantura inferioară  $V=100$ ,
- condiții Neumann omogene pe arcele laterale  $-\sigma \frac{\partial V}{\partial n} = 0$  (componenta nulă a densității de curent).

Pentru soluționarea problemei nu a fost folosit solverul FEMM, ci a fost elaborat un program bazat pe Metoda Elementului Finit (FEM). Aceasta deoarece elemente din programul electrocinetic au fost folosite și la programul de difuzie termică. În plus, a fost folosită conductivitatea complexă și a fost testată corectitudinea neglijării părții imaginare. Soluția se scrie ca serie de funcții de formă de ordinul 1,  $\varphi_k$  :

$$V = V_0 + \sum_{k=1}^N \alpha_k(t) \varphi_k \quad (\text{IV.1})$$

unde:  $V_0 = 100$  pe dantura superioară:

$$V_0 = 100 \sum_{f=1}^{N_f} \varphi_f \quad (\text{IV.2})$$

unde:  $f$  este indice de nod de pe frontiera superioară, iar  $N_f$  este numărul acestor noduri.

Expresia funcției de formă  $\varphi_k$  este:

$$\varphi_k = \begin{cases} \dots \\ 1 + \mathbf{T}_i \cdot \mathbf{r}, \text{ in } \omega_i \\ \dots \end{cases} \quad (\text{IV.3})$$

cu:

$$\mathbf{T}_i = \frac{\mathbf{k} \times \mathbf{r}_{i,i+1}}{2S_i} \quad (\text{IV.4})$$

unde:  $\omega_i$  este domeniul ce conține nodul  $k$ ,  $\mathbf{r}_{i,i+1} = \mathbf{r}_{k,i+1} - \mathbf{r}_{k,i}$  și  $\mathbf{k}$  este versorul axei Oz (vezi RTS-2016). Funcțiile  $\varphi_k$  sunt nule pe frontierele Dirichlet.

Avem:

$$\nabla\varphi_k = \begin{cases} \dots \\ \mathbf{T}_i, \quad [n\omega_i \\ \dots \end{cases} \quad (IV.5)$$

Ecuția potențialului electric este:

$$-\nabla \cdot \sigma \nabla V = 0 \quad (IV.6)$$

Proiectând relația (IV.6) pe funcțiile test  $\varphi_n$  alese egale cu funcțiile de formă, și integrând prin părți rezultă:

$$\int_{\Omega} \sigma \nabla \varphi_n \cdot \nabla V ds = - \int_{\Omega} \sigma \nabla \varphi_n \cdot \nabla V_0 ds \quad (IV.7)$$

Sau, mediul fiind omogen,

$$\sigma \sum_{k=1}^N \alpha_k \int_{\Omega} \nabla \varphi_n \cdot \nabla \varphi_k ds = \sigma V_0 \sum_{k_f=1}^{N_f} \alpha_k \int_{\Omega} \nabla \varphi_n \cdot \nabla \varphi_{k_f} ds \quad (IV.8)$$

unde:  $k_f$  este indice de nod de pe frontieră Dirichlet. Termenul din dreapta al relației de mai sus este nenul doar dacă nodul  $n$  (interior) este vecin cu nodul  $k_f$ , adică mărginesc aceeași latură (cu capetele în nodurile  $n$  și  $k_f$ ). Deci

$$\sum_{k=1}^N a_{n,k} \alpha_k = c_n \quad (IV.9)$$

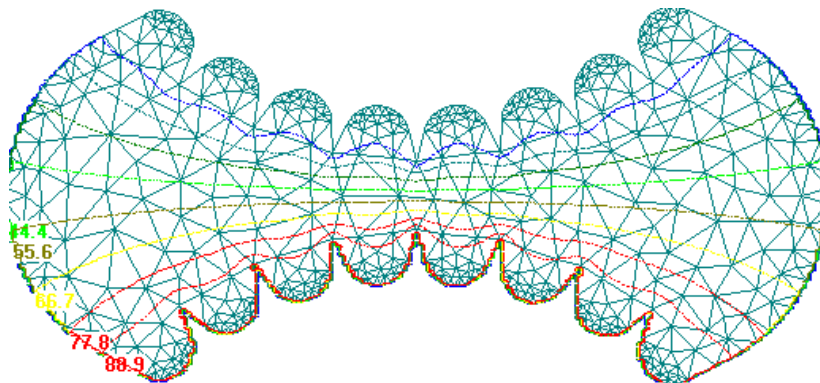
unde

$$a_{n,k} = \int_{\Omega} \nabla \varphi_n \cdot \nabla \varphi_k ds; \quad c_n = V_0 \sum_{k_f=1}^{N_f} \int_{\Omega} \varphi_n \varphi_{k_f} ds \quad (IV.10)$$

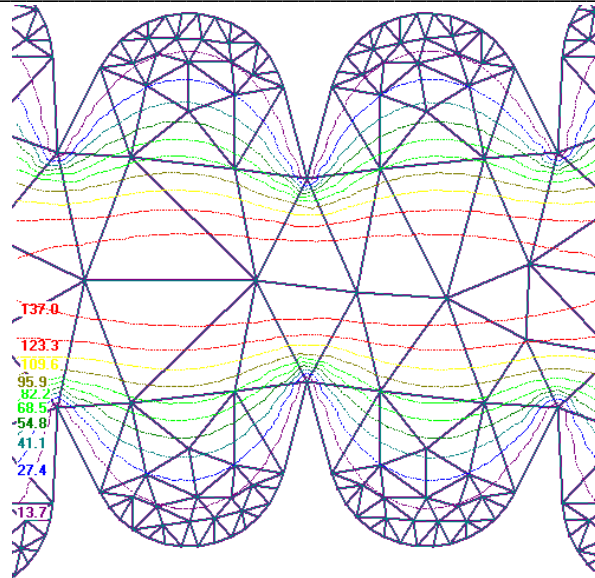
Matricea sistemului (IV.9) este simetrică și diagonal dominantă. În programele elaborate în cadrul acestui proiect, sistemul a fost soluționat cu procedura iterativă Gauss-Seidel, folosind suprarelaxarea.

După ce se obțin potențialele nodurilor, se determină intensitatea câmpului electric din fiecare triunghi și apoi pierderile specifice, constante în fiecare triunghi (**Figura IV.44**):

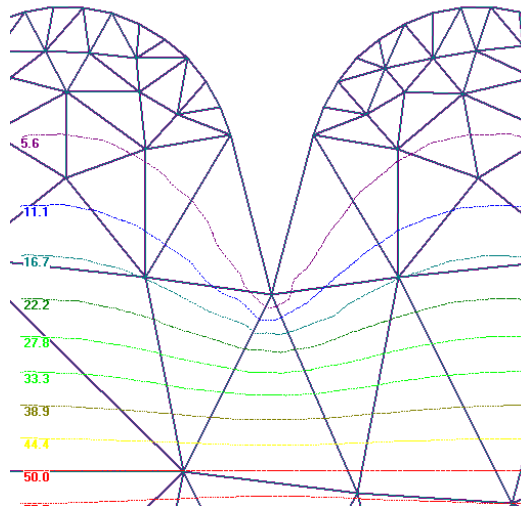
$$p = \sum_{k=1}^N p_k(t) \varphi_k \quad (IV.11)$$



**Figura IV.44.** Linii echipotențiale în problema electrocinetică: poziția inițială



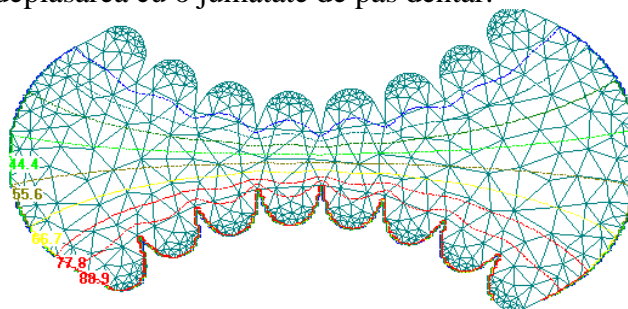
**Figura IV.45.** Detaliu privind liniile echipotențiale în problema electrocinetică: poziție inițială



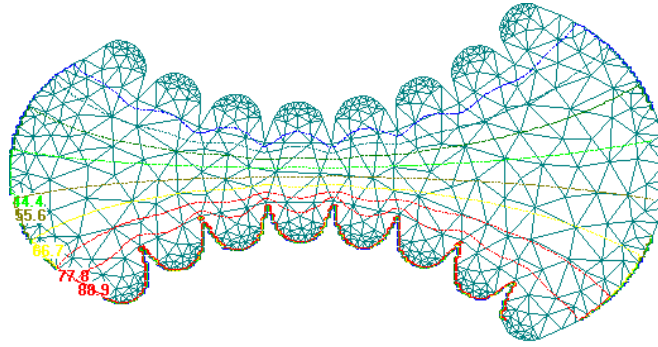
**Figura IV.46.** Alt detaliu privind liniile echipotențiale în problema electrocinetică: poziție inițială. În vecinătatea intelului central aparținând creștăturii superioare, cu potențial nul

Soluția problemei de câmp electrocinetic este ilustrată în **Figura IV.44**. Rețeaua FEM este cea din **Figura IV.43**., dar, pentru a putea distinge liniile echipotențiale, în posprocesorul elaborat în UPB, a fost aleasă o rețea mult mai rară. Detalii privind liniile echipotențiale sunt prezentate în **Figura IV.45** și **Figura IV.46**.

Față de analizele făcute în faza anterioară, în această fază este studiată problema de câmp electromagnetic cuplată cu cea de difuzie termică în timpul rotației pinioanelor. În **Figura IV.47**, sunt desenate liniile echipotențiale după ce pinioanele s-au deplasat cu un sfert de pas dentar, iar în **Figura IV.48**, după deplasarea cu o jumătate de pas dentar.



**Figura IV.47.** Liniile echipotențiale în problema electrocinetică: 1/4 pas dentar



**Figura IV.48.** Linii echipotențiale în problema electrocinetică: 1/2 pas dentar

#### IV.4.2. Difuzia termică

Ecuția difuziei termice este:

$$-\nabla\lambda\nabla T + c\frac{\partial T}{\partial t} = p \quad (\text{IV.12})$$

unde:  $p$  sunt pierderile specifice ce rezultă din soluționarea problemei de câmp electric (IV.11). Discretizarea spațială a ecuației (IV.12) se face tot prin metoda elementului finit. Domeniul este cel din **Figura IV.44**, în care condițiile de frontieră sunt:

- pe dantura superioară temperatura este nulă;
- pe dantura inferioară temperatura este nulă;
- pe arcul de cerc lateral stanga,
- pe arcul de cerc lateral dreapta, fluxul termic este nul:  $-\lambda\frac{\partial T}{\partial n} = 0$

Menționăm că în faza precedentă a contractului, pe ambele arce de cerc laterale a fost adoptată condiția de frontieră Neumann nulă. In această fază, în care se studiază cazul în care boștina se deplasează datorită rotației pinioanelor, se consideră că mustuiala intră pe suprafața laterală din stânga și iese prin dreapta.

Se scrie temperatura ca funcție liniară de funcțiile de formă  $\varphi_k$ , pe care le alegem funcții nodale de ordinul 1, pentru toate nodurile diferite de frontierele Dirichlet:

$$T = \sum_{k=1}^N \beta_k(t)\varphi_k \quad (\text{IV.13})$$

Domeniul de calcul și mediul omogen permit adoptarea aceluiași funcții de formă ca și în cazul problemei de electrocinetică.

Proiectând relația (IV.13) pe funcțiile test  $\varphi_n$  și integrând prin părți, rezultă:

$$\int_{\Omega} \lambda \nabla \varphi_n \cdot \nabla T ds + \int_{\Omega} c \varphi_n \frac{\partial T}{\partial t} ds = \int_{\Omega} \varphi_n p ds \quad (\text{IV.14})$$

Sau

$$\lambda \sum_{k=1}^N \beta_k \int_{\Omega} \nabla \varphi_n \cdot \nabla \varphi_k ds + c \sum_{k=1}^N \frac{d\beta_k}{dt} \int_{\Omega} \varphi_n \varphi_k ds = \sum_{k=1}^N p_k \int_{\Omega} \varphi_n \varphi_k ds \quad (\text{IV.15})$$

Forma numerică a ecuației difuziei (IV.13) este:

$$\lambda \sum_{k=1}^N a_{n,k} \beta_k + c \sum_{k=1}^N b_{n,k} \frac{d\beta_k}{dt} = c_n \quad (\text{IV.16})$$

unde:



$$a_{n,k} = \int_{\Omega} \nabla \varphi_n \cdot \nabla \varphi_k ds; \quad b_{n,k} = \int_{\Omega} \varphi_n \varphi_k ds; \quad c_n = \sum_{k=1}^N p_k \int_{\Omega} \varphi_n \varphi_k ds \quad (IV.17)$$

Remarcăm faptul că avem aceiași coeficienți  $a_{n,k}$  ca în problema electrocinetică.

Integrarea numerică în domeniul timp se face prin metoda trapezelor:

$$\lambda \left( \sum_{k=1}^N a_{n,k} \beta_k(t_{i+1}) + \sum_{k=1}^N a_{n,k} \beta_k(t_i) \right) \frac{1}{2} + \frac{c}{\Delta t_i} \sum_{k=1}^N b_{n,k} (\beta_k(t_{i+1}) - \beta_k(t_i)) = c_n \quad (IV.18)$$

unde:  $\Delta t_i = t_{i+1} - t_i$  este pasul de timp, care se poate corecta în timpul calculului, în funcție de variația de temperatură (dacă este prea mare, se micșorează, iar dacă este prea mică se mărește). Am presupus că pierderile specifice sunt constante în timp (vezi problema de câmp electrocinetic). Este mult mai precis ca la fiecare pas de timp să se determine diferența de temperatură:  $\Delta T_i = T_{i+1} - T_i$ , deci diferențele  $\Delta \beta_k = \beta_k(t_{i+1}) - \beta_k(t_i)$ , folosind sistemul de ecuații:

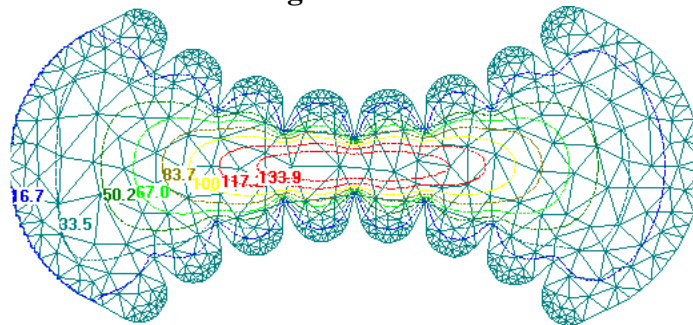
$$\frac{1}{2} \sum_{k=1}^N a_{n,k} \Delta \alpha_k + \frac{1}{\Delta t_i} \sum_{k=1}^N b_{n,k} \Delta \alpha_k = c_n - \sum_{k=1}^N a_{n,k} \alpha_k(t_i) \quad (IV.19)$$

Apoi:

$$\beta_k(t_{i+1}) = \Delta \beta_k + \beta_k(t_i) \quad (IV.20)$$

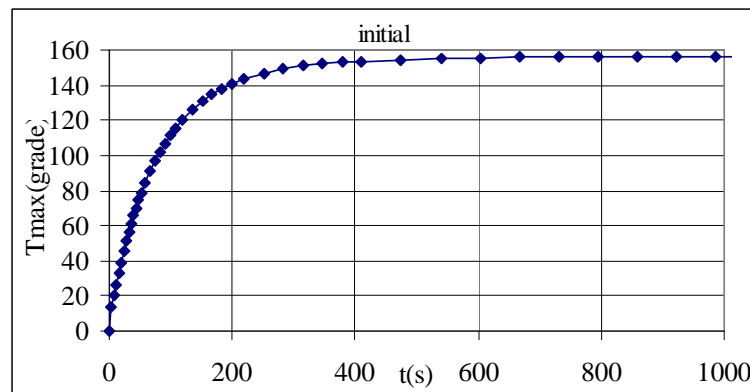
La  $t=0$ , se ia  $T_0 = 0$ .

Pentru cele 3 poziții ale pinoanelor, la care a fost determinat câmpul electric, a fost calculat și câmpul termic. Valoarea asimptotică a câmpului termic, pentru poziția inițială a pinoanelor este redată de izotermele din **Figura IV.49**.



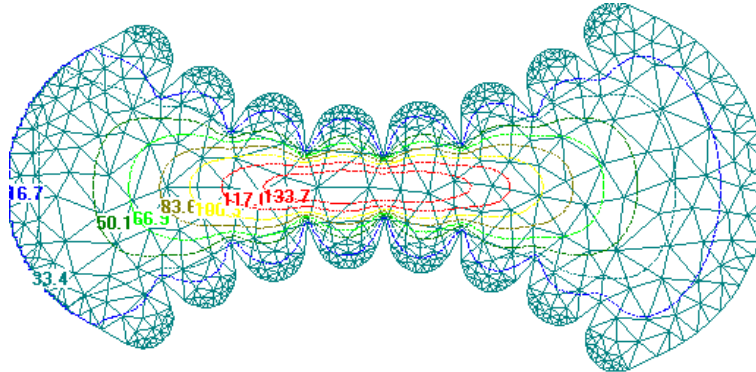
**Figura IV.49.** Izoterme în soluția asimptotică a problemei de difuzie termică: poziție inițială, după 315s,  $T_{max}=150^{\circ}C$  (raportat la temperatura ambiantă  $0^{\circ}C$ ).

Evoluția în timp a temperaturii maxime este descrisă în **Figura IV.50**.



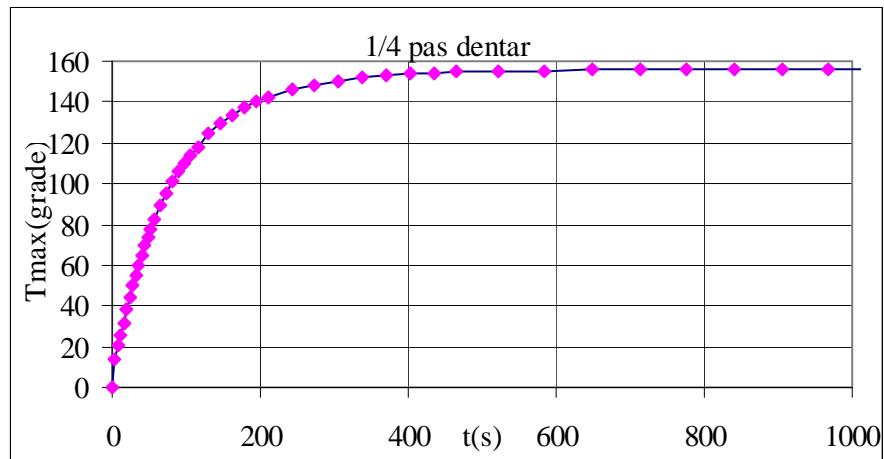
**Figura IV.50.** Evoluția în timp a temperaturii maxime, poziție inițială

Valoarea asimptotică a câmpului termic, pentru o rotație a pinioanelor cu un sfer de pas dentar este redată de izotermele din **Figura IV.51**, iar evoluția în timp a temperaturii maxime este descrisă în **Figura IV.52**.

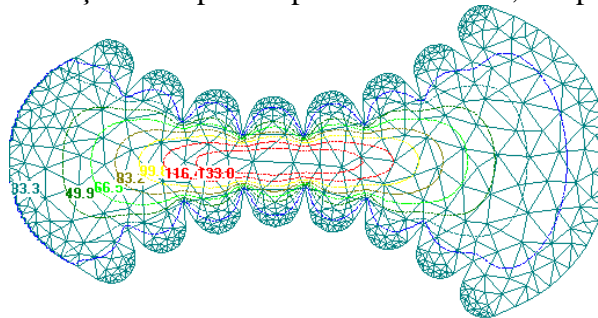


**Figura IV.51.** Izoterme în soluția asimptotică a problemei de difuzie termică:  
1/4 pas dentar, după 306s,  $T_{max}=150^{\circ}C$

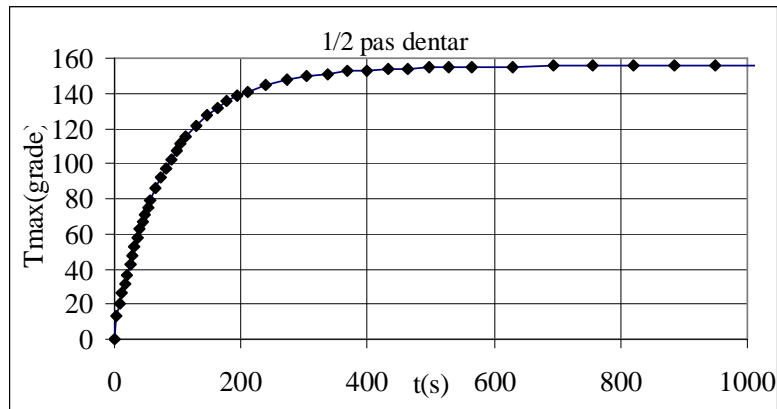
Pentru o jumătate de pas dentar, aceleași rezultate sunt prezentate în **Figura IV.53**, și **Figura IV.54**.



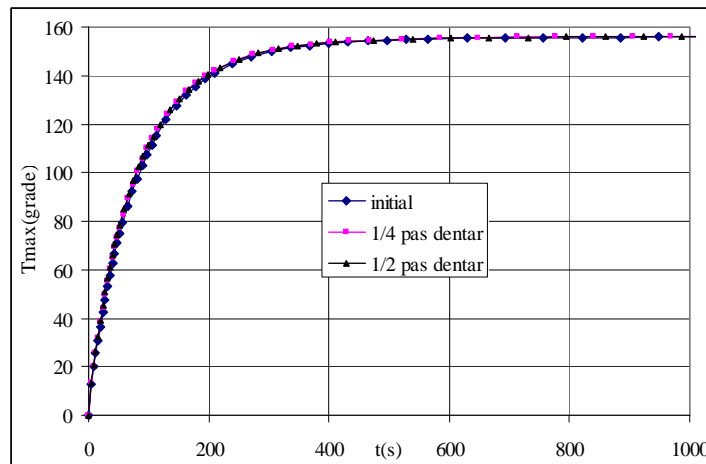
**Figura IV.52.** Evoluția în timp a temperaturii maxime, 1/4 pas dentar



**Figura IV.53.** Izoterme în soluția asimptotică a problemei de difuzie termică:  
1/2 pas dentar, după 304s,  $T_{max}=150^{\circ}C$



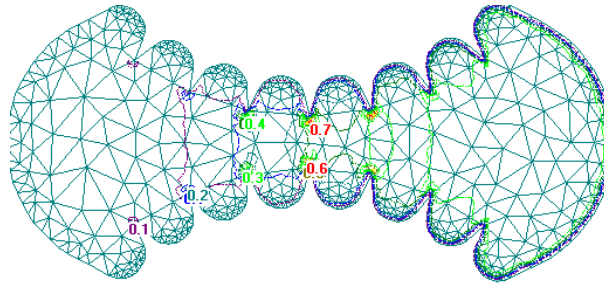
**Figura IV.54.** Evoluția în timp a temperaturii maxime, 1/2 pas dentar



**Figura IV.55.** Evoluția în timp a temperaturii maxime

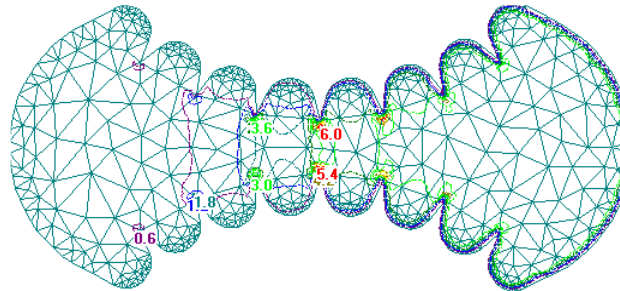
Rezultatele analizelor mai sus prezentate arată că temperaturile asimptotice sunt deosebit de mari. Deci, în ipoteza că se opresc pinioanele de antrenare a boștinei, aceasta va fierbe, distrugând toate componentele utile în producția vinului. Este interesant că temperatura nu crește amenințător, chiar dacă pinioanele se rotesc cu viteza mică. La o stagnare de 4s în dreptul dinților cei mai apropiați, temperatura crește cu doar 1,3 °C. Diferențele de temperatură între diferite poziții ale pinioanelor sunt foarte mici. Acest fapt este prezentat și în **Figura IV.55**. De aici rezultă că timpul petrecut în vecinătatea dinților apropiați conduce la o creștere a temperaturii de cel puțin 3 ori mai mare (>cca.4°C). Este deci util să se elaboreze un algoritmi însoțiti de programe de calcul care să țină cont de mișcarea pinioanelor și a boștinei. Luarea în considerare a unor mici poziții succesive ale pinioanelor, complică inutil calculele față de alegerea unei singure poziții: este generată o singură dată rețeaua FEM și calculul electromagnetic se face o singura dată. Influența mișcării boștinei asupra temperaturii este deosebit de importantă. Din păcate, masa boștinei este neomogenă și anizotropă din punctul de vedere al câmpului de viteze. De aici rezultă că se poate alege un model de calcul simplificat, dar eficient. Se împarte domeniul de calcul în subdomenii despărțite de liniile verticale ce unesc doi dinți pereche (alegem poziția inițială). După o perioadă dentară, boștina din subdomeniul din stânga ia locul celei din subdomeniul alăturat din dreapta, ducând și valoarea inițială a temperaturii. Deci, la fiecare pas de timp perioada dentară, se determină temperatura medie din nodurile interioare fiecărui subdomeniu și este apoi transferată ca temperatură inițială în subdomeniul alăturat din dreapta.

La tensiunea de 100V între pinioane și turatia de 30 rot/min, distribuția de regim permanent a temperaturii este prezentată în **Figura IV.56**.



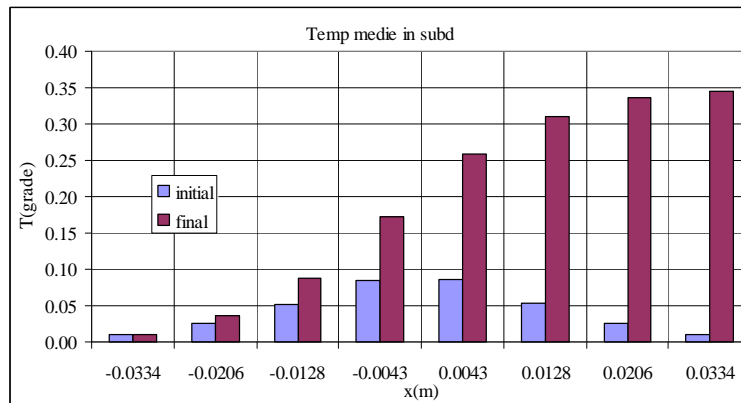
**Figura IV.56.** Tensiune 100V, 30 rotații/min, 30 dinți, Tmax=0.73132

Temperatura maximă are valori foarte mici. Ca urmare, poate fi ridicată valoarea tensiunii de alimentare. Turația poate fi micșorată, în limita cerută de productivitate. De exemplu, dacă tensiunea este de 200V, iar turația de 12 rot/min, izotermele sunt prezentate în **Figura IV.57**.



**Figura IV.57.** Tensiune 200V, 12 rotații/min, 30dinti, Tmax=6.6

Distribuția temperaturilor medii din subdomenii, pentru momentul inițial al pornirii instalației și valorile asimptotice (regimul permanent) sunt prezentate în **Figura IV.58**.



**Figura IV.58.** Distribuția temperaturilor medii din subdomenii

#### IV.5. Demonstrarea funcționalității și utilității modelului funcțional. Diseminarea rezultatelor

În această etapă au fost procesați struguri din soiurile **Pint-Noir**, **Merlot** recoltați din podgoria Crișana-Sântimreu (47°14'55"N 22°2'42"E 47°14'55"N 22°2'42"E), din producția anului 2017 utilizând echipamentul prezentat în **Figura IV.32**.

Prin utilizarea modelului experimental realizat în cadrul acestui proiect se obține o îmbunătățire a calității produselor vinicole, în special în cazul vinurilor provenite din strugurii roșii. Astfel, în cazul soiului **PINOT NOIR** vinificat prin desciochinare, zdrobire și presare s-au obținut 34 de litri de vin (din 50 de kg de struguri vinificați în condiții de laborator), ceea ce reprezintă 68 %, iar în cazul soiului **MERLOT** vinificat prin desciochinare, zdrobire și presare s-au obținut 36 de litri reprezentând 72 % (din 50 de kg de struguri vinificați în condiții de laborator).

În toate cazurile studiate se obține o creștere a intensității culorii vinului obținut, a conținutului de antociani și polifenoli totali în comparație cu proba martor. Prin utilizarea tehnologiei PEF se obține o inactivare a microorganismelor, fără a crește temperatura matricei produsului, produsul final având calități net superioare față de probele netratate.

Vinurile obținute în urma tratamentului PEF au fost analizate după 1 lună de la procesare, respectiv după 6 luni, fiind comparate cu proba martor, au o culoare mai închisă, cu mai multă fructuozitate, cu astringență de același nivel ca și proba martor, dar cu o armonie, echilibru și post gust superior. În cazul probelor tratate (PEF) se observă, din punct de vedere senzorial, un transfer suplimentar de antociani, tanini, substanțe volatile, dar într-un registru echilibrat, ceea ce presupune că vinurile pot fi consumate tinere. Deoarece tratamentul este făcut la rece, cantitățile transferate din pielețe și semințe sunt într-un echilibru care asigură prospețimea și armonia vinului.

În concluzie tratamentul PEF este o tehnologie nouă, în curs de dezvoltare, care poate fi aplicată în industria alimentară.

### **Concluzii**

Modelul experimental realizat în cadrul acestui proiect reprezintă o nouă tehnologie utilizată pentru obținerea unor vinuri de calitate. Prin utilizarea modelului experimental se obține un transfer mai mare de antociani, substanțe volatile într-un registru echilibrat, o creștere a intensității culorii vinului obținut.

Atât în cazul probelor tratate în anul 2016 cât și în cazul celor tratate în 2017, tratamentele PEF, se diferențiază de cele martor/netratate, grupurile acestora se situează la o distanță finită de grupul martor. În anul 2017 distanțarea grupurilor probelor PEF este mai pronunțată decât în cazul anului 2016, se obține o eficiență mai mare la electroporare deoarece au conținuturile/nivelele parametrilor %RED, a\*, CI, C\*, b\* cele mai ridicate și iluminanțele cele mai mici, L\*.

Analiza multivariată PCA demonstrează că diferențele tipurilor de matrici moleculare influențează semnificativ efectul de electroporare prin tratamente PEF a musturilor de tip **Pinot Noir** și **Merlot**.

Pachetul de programe WINETECH de soluționare a problemei de câmp electromagnetic în mustuală/boștină cuplate cu problema de difuzie termică elaborat în cadrul acestui proiect oferă o imagine clară asupra modului de proiectare, realizare și utilizare al echipamentului. Influența mișcării boștinei asupra temperaturii este deosebit de importantă, masa boștinei este neomogenă și anizotropă din punctul de vedere al câmpului de viteze. De aici rezultă că se poate alege un model de calcul simplificat, dar eficient. Se împarte domeniul de calcul în subdomenii despărțite de liniile verticale ce unesc doi dinți pereche. După o perioadă dentară, boștina din subdomeniul din stânga ia locul celei din subdomeniul alăturat din dreapta, ducând și valoarea inițială a temperaturii. La fiecare pas de timp se determină temperatura medie din nodurile interioare fiecărui subdomeniu și apoi se transferată ca temperatură inițială în subdomeniul alăturat din dreapta.

### **Diseminarea rezultatelor**

În perioada de derulare a proiectului echipa de implementare a participat la următoarele manifestări științifice:

- International Conference on Engineering of Modern Electric Systems (EMES) Oradea, Romania June 01-02, 2017;
- 40 Years of Horticulture Education in Cluj-Napoca” Cluj-Napoca, September 27, 2017;

A publicat un număr însemnat de lucrări în reviste indexate ISI Thomson, Proceeding ISI, BDI.

În activitatea de cercetare au fost implicați și studenți. Aceștia au participat alături de membri din echipa de implementare a proiectului la următoarele sesiuni de comunicări științifice:

- **Vicas Simona Ioana**, Coman Simina Madalina - *ANTIOXIDANT CAPACITY OF RED WINES OBTAINING BY GREEN TECHNOLOGIES USING CUPRAC ASSAY*. 1st Scientific Conference for Ph.D. Students and Students Life Sciences, Iwonicz Poland, 27-28 April 2017.
- **Vicas Simona Ioana**, Memete Adriana Ramona - *EFFECT OF PULSED ELECTRIC FIELD AND WINE AGING ON TOTAL PHENOLS CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF RED WINES* - Innovativa" VI<sup>th</sup> Edition National Student Conference, Galati, 17th - 20th May 2017.
- **Alin Cristian TEUȘDEA**, Edmond Marius CHIPURICI - *EFFECT OF PULSED ELECTRIC FIELD AND WINE AGING ON COLOUR OF RED WINES* - Sesiunea de comunicări Științifice Studentești Facultatea de Inginerie Alimentară, Turism și Protecția Mediului Arad, Ediția a XIV-a, 18-19 Mai 2017.

#### Lucrări publicate sau în curs de publicare

##### 2014

1. Flonta Ioana, Assoc. Prof. Bandici Livia, PhD, Assoc. Prof. Vicas Simona Ioana, PhD - *THE INFLUENCE OF THE HIGH-FREQUENCY FIELD ON THE TOTAL ANTHOCYANIN CONTENT IN RED WINE*. The paper has been accepted and presented at the Second international "Innovativa" Conference that has been held in Oradea on the 28<sup>th</sup> of November 2014. Lucrarea urmează să fie publicată pe site-ul: <http://www.innovativa.ro>

##### 2015

1. **Bandici, Livia; Leuca, Teodor; Vicas, Simona; Bandici, Gheorghe Emil** - *The influence of the high frequency electromagnetic field on grape processing*. ENGINEERING OF MODERN ELECTRIC SYSTEMS (EMES), 2015. 13TH INTERNATIONAL CONFERENCE. DOI: 10.1109/EMES.2015.7158400. Publication Year: 2015, Pages: 1-4, IEEE, Conference Publications. **Lucrare indexată ISI.**

2. **Bandici, Livia, Vicas, Simona, Bandici, Gheorghe Emil, Teusdea, Alin Cristian, Popa, Dorin** - *Physical-chemical, biological, and sensory analyses in grape processing using the high frequency electromagnetic field*. ENGINEERING OF MODERN ELECTRIC SYSTEMS (EMES), 2015. 13TH INTERNATIONAL CONFERENCE. DOI: 10.1109/EMES.2015.7158406. Publication Year: 2015, Pages: 1-6, IEEE, Conference Publications. **Lucrare indexată ISI.**

3. Vasilescu, G.-M.; **Maricar, M.**; Drosu, O.M., Costea, M.-A., **Hantila, F.I.**; Stanculescu, M. - *The study of the electric field in electroporation*. ENGINEERING OF MODERN ELECTRIC SYSTEMS (EMES), 2015. 13TH INTERNATIONAL CONFERENCE. DOI: 10.1109/EMES.2015.7158418. Publication Year: 2015, Pages: 1-6, IEEE Conference Publications. **Lucrare indexată ISI.**

4. **Mihai Maricar, Member, IEEE**, Stelian Marinescu, Marilena Stanculescu, Paul Cristian Andrei, and **Florea I. Hantila Member, IEEE** - *Equipment for the Magnetization Characteristic Evaluation of a Ferromagnetic Body*. ENGINEERING OF MODERN ELECTRIC SYSTEMS (EMES), 2015. 13TH INTERNATIONAL CONFERENCE. DOI: 10.1109/EMES.2015.7158419. Publication Year: 2015, Pages: 1-4, IEEE Conference Publications. **Lucrare indexată ISI.**

5. Ion BARSAN, Marius-Aurel COSTEA, **Mihai MARICARU**, **Valer TURCIN**, George-Marian VASILESCU - *Pulsed Electric Field Analysis for an Efficient Intracellular Fluid Extraction Using Electroporation*. ELECTROTEHNICA, ELECTRONICA, AUTOMATICA, vol. xx (2015), Nr. X. ISSN: 1582-5175.

6. **Bandici Gheorghe Emil**, **Vicaș Simona**, **Bandici Livia**, **Teușdea Alin**, **Popa Dorin** - *The influence of the high frequency electromagnetic field on the organoleptic properties of wine*. Simpozionul Internațional Factori de Risc pentru Mediul Înconjurător și Siguranță Alimentară, 6-7.11.2015, Facultatea de Protecția Mediului Oradea.

7. **Bubău Ruben**, Timofte Adrian Ioan - *Some aspects regarding the tillering capacity in two acacia varieties*. Simpozionul Internațional Factori de Risc pentru Mediul Înconjurător și Siguranță Alimentară, 6-7.11.2015, Facultatea de Protecția Mediului Oradea.

## 2016

1. **Livia Bandici**, **Gheorghe Emil Bandici** - *Grape Processing Techniques in a High Frequency Electromagnetic Field*. Nonconventional Technologies Review 2016, pp. 36-40, ISSN 1454-3087, [http://www.revtn.ro/pdf1-2016/006\\_Livia%20Bandici.pdf/](http://www.revtn.ro/pdf1-2016/006_Livia%20Bandici.pdf/).

2. **Livia Bandici**, **Simona Ioana Vicas**, **Gheorghe Emil Bandici**, **Alin Cristian Teusdea**, Simona Cavalu - *Bioactive Compounds Diffusion from Grapes to Wines under High Frequency Electromagnetic Field Treatments*. International Seminar on Biomaterials and Regenerative Medicine, BIOREMEDI 2016, pp. 289-295. Trans Tech Publications Ltd. Churerstrasse 20, CH-8808 Pfaffikon Switzerland. <http://www.ttp.net/>. Volume 695 of Key Engineering Materials 2016, ISSN print 1013-9826 ISSN cd 1662-9809 ISSN web 1662-9795.

3. **Cornelia Gyorodi**, Robert Gyorodi, Alexandra Stefan, **Livia Bandici** - *A Comparative Study of Databases With Different Methods of Internal Data Management*. (IJACSA) International Journal of Advanced Computer Science and Applications, Vol. 7, No. 4, 2016, pp.266-271.

4. Robert Gyorodi, **Cornelia Gyorodi**, Anamaria Tontea, **Livia Bandici** - Automatic Parameter Configuration for an Elite Solution Hyper-Heuristic Applied to the Multidimensional Knapsack Problem. 6th International Conference on Computers Communications & Control (ICCCC) - Preprint Hotel President, Băile Felix- Oradea, Romania May 10-14, 2016, pp.210-216, ISBN 978-1-5090-1735-5, 2016 IEEE.

5. **Simona Vicaș**, **Livia Bandici**, **Alin Teușdea**, **Gheorghe Emil Bandici** - *Extraction of Bioactive Compounds from Two Grape Varieties Using Pulsed Electric Field (PEF)*. The 15<sup>th</sup> International Symposium Prospects for the 3<sup>rd</sup> Millennium Agriculture 29 -1 octomber 2016, Cluj-Napoca, Romania. Bulletin UASVM Food Science and Technology 73(2)/2016 ISSN-L 2344-2344; Print ISSN 2344-2344; Electronic ISSN 2344-5300, pp.85-95.

6. **Simona Ioana Vicaș**, **Alin Teușdea**, **Dorin Popa**, **Gheorghe Bandici**, **Livia Bandici** - *Obtaining High Quality White and Red Wines by Homogenization and Treating Grapes with Pulsed Electric Field*. XVI International Conference RISK FACTORS OF FOOD CHAIN 19 - 21 September 2016, Rzeszow, Poland.

## 2017

1. **Simona Vicaș**, **Livia Bandici**, **Alin Cristian Teușdea**, **Valer Turcin**, **Dorin Popa**, **Gheorghe Emil Bandici** - *The bioactive compounds, antioxidant capacity, and color intensity in must and wines derived from grapes processed by pulsed electric field*. CyTA - Journal of Food. Volume 15, 2017, pp.1-10 ISSN: 1947-6337. 15(4), pp. 553-562. Impact Factor 2016: 1,180. <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2017.1317667>.

2. **Livia Bandici**, **Simona Vicaș**, **Gheorghe Emil Bandici**, **Alin Cristian Teusdean**, **Dorin Popa** - *The Effect of Pulsed Electric Field (PEF) Treatment on the Quality of Wine*. 14th

International Conference on Engineering of Modern Electric Systems (EMES) Oradea, Romania June 01-02, 2017, (7980372), pp. 17-22.

<http://ieeexplore.ieee.org/search/searchresult.jsp?newsearch=true&queryText=Livia%20Bandici>

3. **Alin Cristian Teușdea, Simona Vicaș, Livia Bandici, Gheorghe Emil Bandici** - *The Use of the High-Frequency Electromagnetic Field (MW) and of the Pulsed Electric Field (PEF) for the Extraction of Bioactive Compounds from Grapes*. 14th International Conference on Engineering of Modern Electric Systems (EMES) Oradea, Romania June 01-02, 2017. (7980375), pp. 33-36. <http://ieeexplore.ieee.org/search/searchresult.jsp?newsearch=true&queryText=Livia%20Bandici>

4. **Livia Bandici, Simona Ioana Vicaș, Alin Cristian Teușdea, Gheorghe Emil Bandici, Dorin Popa** - *Microwave-Assisted Extraction as a Method of Improving the Quality of Wines*. The Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy (JMPEE) 2017, 51(3), pp. 161-177. **Impact Factor: 0,575**. <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/08327823.2017.1350313/>

5. **Alin C. Teusdea, Livia Bandici, Rafał Kordiaka, Gheorghe E. Bandici, Simona I. Vicas** - *The Evaluation of Different Pulsed Electric Field Treatments to Produce High Quality Red Wines Using Chemometric Analysis*. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca Vol 45, No 2 (2017), pp. 540-547, Print ISSN 0255-965X; Electronic 1842-4309 Not Bot Horti Agrobo, 2017, 45(2): pp.540-547. DOI:10.15835/nbha45210890. **Impact Factor: 0,480**.

6. **Alin Teusdea, Livia Bandici, Gheorghe Emil Bandici, Simona Vicaș** –THE effect of Pulsed Electric Field and Wine Aging on Total Phenol Content and Colour of Red Wines. *Scien. Tech. Bull-chem. Food sci. Eng.*, Arad, vol. 14(xv), 2017, 1, pp. 38-44.



## VI. Manual de utilizare model funcțional

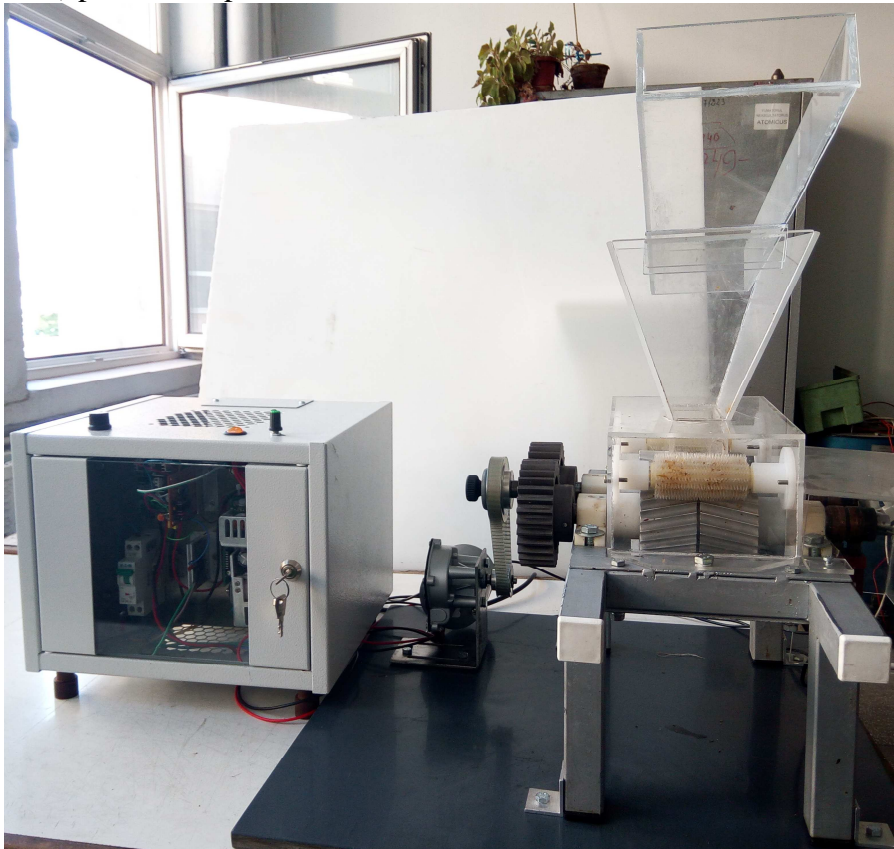
Manualul conține informații referitoare la instalarea și funcționarea echipamentului.

Schema tehnologică de prelucrare a strugurilor este determinată de tipul de vin ce urmează să-l obținem, de respectarea cerințelor oenologice specifice vinificației, cât și de factorii economici.

Schemele optime sunt cele care transformă strugurii în must în minimum de timp, care dau musturi suficient de limpezi cu burbă puțină și rezistență la oxidare. Ținând seama de aceste considerente, la obținerea vinurilor de consum curent, apare rațională schema: zdrobirea - desciorchinarea - pomparea - scurgerea mecanică - presarea continuă iar pentru vinurile de calitate superioară: zdrobirea - desciorchinarea - pomparea - presarea discontinuă - presarea continuă.

Metodele electromagnetice permit a fi cele mai eficiente proceduri de îmbunătățire a separării lichid-solid. Injectarea unui curent continuu a fost studiată în literatură, conducând la concluzia unei eficiențe crescute, datorită combinației dintre efectul presiunii și electroosmoză. Aplicarea unei tensiuni alternative de diferite forme (cel mai adesea în impulsuri) înlătură acest dezavantaj și are ca efect spargerea celulei, fenomen numit electroplasmoliză. Eficiența aplicării impulsurilor de câmp electric (PEF) depinde de: tipul celulei, amplitudinea impulsului, durata impulsului, numărul impulsurilor, etc.

În **Figura VI.1.** este prezentat echipamentul destinat procesării strugurilor (tratării mustuelii/boștinei) prin electroplasmoliză.

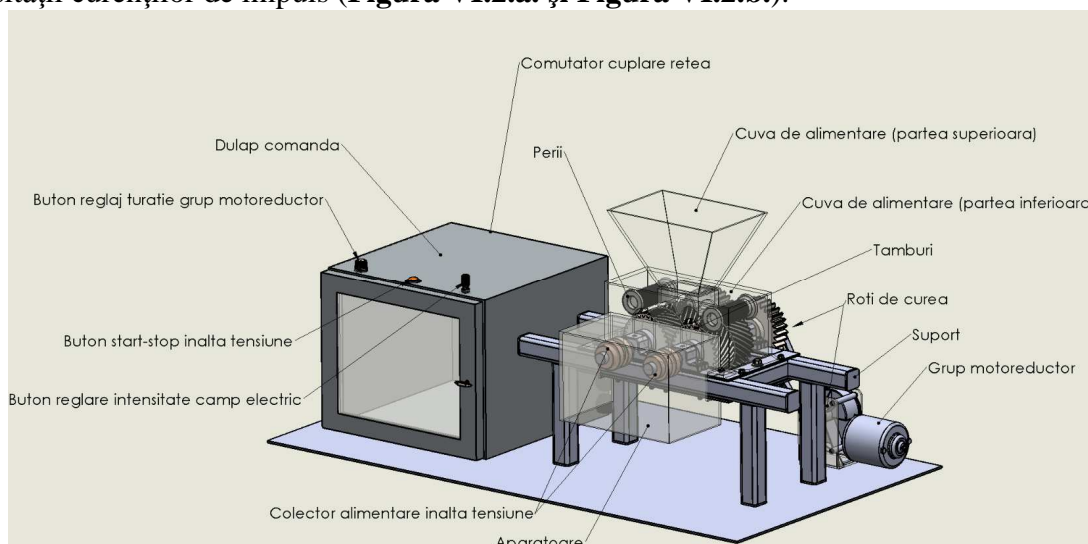


**Figura VI.1.** Echipament procesare struguri prin electroplasmoliză

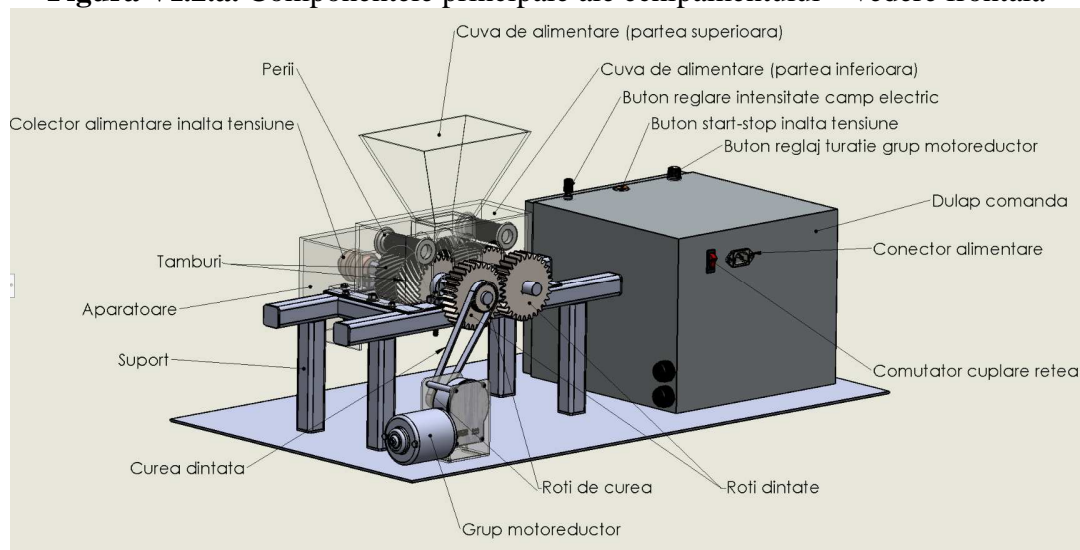
Echipamentul este destinat procesării mustuelii/boștinei prin aplicarea câmpurilor electrice pulsatorii în vederea obținerii unui randament crescut în ceea ce privește extractivitatea mustului, în același timp fiind păstrate cantități apreciabile de componente valoroase precum polifenoli, flavonoide sau catechine în materialul rezultat. Principalele părți componente:

- Agregat procesare prin electroplasmoliză;
- Bloc alimentare și comandă;
- Grup motoreductor pentru acționarea tamburilor în mișcare de rotație.

Ansamblul de acționare (rotire) a tamburilor cu roți dințate, asigură rotirea în sens contrar a celor 2 perechi de tamburi. Rotirea se poate realiza manual cu o manivelă fixată pe axul conducător sau cu un sistem electromecanic. Sistemul electromecanic are în componență următoarele elemente: un grup motoreductor (24V, 45A, cc), un sistem de transmitere a mișcării de rotație la arborele conducător (roți de curea RC 21 T5 20 dinți și RC21 T5 40 dinți, curea dințată T5/400) care angrenează arborele condus prin intermediul unui sistem cu roți dințate ( $z=41$ ,  $m^2$ ). Pe cei doi arbori se află montați 4 tamburi cu canale construite după o geometrie specială (30 canale la 12 grade), astfel încât distanța dintre vârfurile tamburilor să se păstreze constantă la 5 mm în timpul mișcării de rotație. Tamburii sunt alimentați continuu (printr-un ansamblu colector port perii-perii) de la sursa de tensiune înaltă și frecvență variabilă, materialul (boștina) trecând printre tamburi, aici obținându-se efectul de electroplasmoliză prin aplicarea unor impulsuri electrice. Sistemul este susținut de o structură metalică suport construită din țevă cu profil rectangular 30 mm x 30 mm de 3 mm grosime, suport prevăzut cu tampoane de cauciuc pentru limitarea efectelor nedorite date de vibrații. Dulapul de comandă conține elemente ce asigură siguranța din punct de vedere electric precum și elemente de reglaj a turației sau a intensității curenților de impuls (**Figura VI.2.a. și Figura VI.2.b.**).



**Figura VI.2.a.** Componentele principale ale echipamentului – vedere frontală



**Figura VI.2.b.** Componentele principale ale echipamentului – vedere spate

În **Tabelul VI.1.** sunt prezentate datele tehnice ale echipamentului.

**Tabelul VI.1.**

Caracteristica	U.M.	Valoare
Puterea electrică maximă a echipamentului	W	1000
Tensiune	V	230V/50Hz
Greutate	Kg	20
Lungime	mm	853 ± 5
Lățime	mm	404 ± 5
Înălțime	mm	414 ± 5
Capacitate	kg/h	100
Nivel de zgomot	dB/A	<70

Echipamentul este proiectat să realizeze strict operațiile de procesare a strugurilor fiind interzisă utilizarea echipamentului în alte scopuri decât cel pentru care a fost proiectat. Se utilizează în laboratoare sau în gospodării pentru tratarea mustuelii (boștinei) prin electroplasmoliză.

Periodic, echipamentul trebuie verificat din punct de vedere al integrității și al bunei sale funcționări. Orice operație ordinară sau extraordinară de întreținere trebuie executată după ce echipamentul a fost decuplat de la alimentarea cu energie electrică. Orice operație de întreținere sau de reparație trebuie executată de către personal specializat. Reparațiile sau operațiile de întreținere efectuate prost prezintă pericole importante pentru utilizator.

Echipamentul nu trebuie utilizat în medii unde umiditatea depășește 80%, nu trebuie scufundat în apă sau alte lichide, nu trebuie expus unor factori atmosferici.

Echipamentul a fost conceput și construit astfel încât nivelul zgomotului să fie maxim 60 db. Este prevăzut cu o serie de elemente, fixe și mobile, de protecție cu microcontacte, este dotat cu elemente de siguranță care delimitează zonele de lucru ale utilizatorului pentru a se garanta siguranța acestuia. În unele zone există riscul de a fi expus electrocutărilor. În timpul proiectării a fost imposibilă eliminarea sau delimitarea prin acoperire a acestor riscuri datorită sistemului particular de funcționare a echipamentului. Acest risc există în timpul efectuării operațiilor de întreținere, fiecare operator trebuie să cunoască existența acestui risc pentru a preveni posibilele accidente.

Dacă echipamentul nu va fi folosit un interval mare de timp, acesta se va păstra într-un loc uscat, protejat împotriva prafului și a substanțelor agresive.

Personalul care va executa instalarea echipamentului trebuie să fie calificat și trebuie să aibă o pregătire tehnică adecvată și experiență pentru a aborda diferitele operații cu abilitatea necesară.

Locul de amplasare va fi stabilit după studiul posibilităților optime de amplasare (dimensiuni spațiu, curenți de aer, gradul de impurificare a aerului).

Agregatul de procesare prin electroplasmoliză se amplasează deasupra unui vas în care se colectează materia primă procesată (boștina).

Blocul de alimentare și comandă se amplasează cât mai aproape de unitatea de procesare, astfel încât să se permită conectarea echipamentului.

Pentru punerea în funcțiune se parcurg următoarele etape:

a) Se amplasează agregatul de procesare deasupra unui vas de colectare de unde materia primă procesată poate fi colectată prin intermediul unui jgheab de scurgere într-un butoi (putină) cu capacitate minim 50 L (butoi, putină);

b) Se conectează dulapul de comandă prin acționarea comutatorului aflat pe spatele dulapului în poziția ON;

c) Se acționează potențiometrul 1 în sensul inscripționat pentru pornirea grupului motoreductor și începerea mișcării de angrenare a tamburilor;

d) Se alimentează cuva cu struguri prin intermediul unui jgheab de alimentare situat deasupra cuvei;

e) Se acționează butonul 2 în poziția ON pentru conectarea tamburilor la înaltă tensiune și inițierea procesului de electroplasmoliză;

f) Se acționează potențiometrul 3 pentru reglajul intensității câmpului electric în funcție de cantitatea și viteza cu care se face alimentarea cu mustială/boștină;

Pentru oprire ordinea operațiilor este inversă.

De asemenea trebuie avute în vedere și următoarele aspecte:

- dacă în timpul funcționării se blochează tamburii, se oprește alimentarea cu energie electrică și se curăță echipamentul;

- dacă se observă orice anomalie în timpul funcționării, activitatea va fi întreruptă imediat și va trebui găsită și corectată cauza defecțiunii. Defecțiunea se repară într-un centru de service autorizat. Mașina va fi utilizată doar de un personal calificat.

- în momentul alimentării este interzisă cu desăvârșire atingerea tamburilor;

- între tamburii aflați în mișcare nu trebuie să ajungă nici un obiect în afara materialului de prelucrat;

După fiecare utilizare echipamentul se curăță, se șterge și se depozitează.

#### **PARTENERI PROIECT**



CO – UNIVERSITATEA DIN ORADEA, cu sediul în ORADEA, str. Universitatii nr. 1, tel: 0259-408113, fax: 0259-432.789, e-mail: [rectorat@uoradea.ro](mailto:rectorat@uoradea.ro). Web site: <http://www.wine-tech.ro>. Director de proiect: **Prof.dr.ing. Gheorghe Emil BANDICI**



P1 - UNIVERSITATEA POLITEHNICA BUCUREȘTI- Centrul de Magnetism tehnic aplicat (MAGNAT), cu sediul **București, str. Splaiul Independenței nr.313, sector 6, tel: 021/4029144, fax: 021/4029144, e-mail [hantila@elth.pub.ro](mailto:hantila@elth.pub.ro), Web site: <http://www.magnat.pub.ro>,**

Responsabil de proiect partener P1: **Conf. dr. ing. Mihai MARICARU**



P2- ICPE BUCUREȘTI, cu sediul în Bucuresti, str. Splaiul Unirii, nr.313, sector 3, tel. 0215893300, fax. +40215893434, e-mail [office@icpe.ro](mailto:office@icpe.ro). Web site: <http://www.icpe.ro>, Responsabil de proiect partener P2: **ing. Valer TURCIN**

**Director Proiect**

**Prof.univ.dr.ing. Gheorghe Emil Bandici**