

RAPORT ȘTIINȚIFIC ȘI TEHNIC

privind implementarea proiectului

“METODE ELECTROMAGNETICE PENTRU ÎMBUNĂȚIREA PROCEDEELOR VINICOLE”

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

170 din 01/07/2014

Etapa I /2014

**STUDII ȘI ANALIZE PRIVIND
TRATAREA ȘI MODELAREA
MATEMATICĂ A MUSTUELII/BOȘTINĂ
PRIN ELECTROPLASMOLIZĂ.
SOLUȚIE TEHNICĂ**

Cuprins

	Pag.
Etapa I. Studii și analize privind tratarea și modelarea matematică a mustuelii/boștinei prin electroplasmoliză. Soluție tehnică.....	3
1. Introducere.....	3
2. Experimentări (preliminare) tratarea mustuelii/bostinei la diferite forme de undă a curentului electric și intervale de expunere.....	4
3. Analizele fizico-chimice.....	5
4. Analize biochimice.....	7
5. Analiza senzorială.....	12
6. Tratarea mustuelii/boștinei în impulsuri de câmp electric.....	12
7. Model matematic pentru câmpul electric din zona celulei.....	13
7.1. Modelul celulei dreptunghiulare.....	13
7.2. Alte forme de celule.....	16
7.3. Soluționarea numerică a ecuației.....	16
8. Propunere de soluție tehnică.....	19
9. Măsuratori ai parametrilor electrici pentru boască.....	19
Bibliografie.....	22

RAPORT ȘTIINTIFIC ȘI TEHNIC
la contractul de finanțare nr. 170/2014,
Cod proiect: PN-II-PT-PCCA-2013-4-2225

“Metode electromagnetice pentru îmbunătățirea procedeelor vinicole” WINETECH

Etapa I: STUDII ȘI ANALIZE PRIVIND TRATAREA ȘI MODELAREA MATEMATICĂ A MUSTUELII/BOȘTINA PRIN ELECTROPLASMOLIZĂ. SOLUȚIE TEHNICĂ

1. Introducere

Prelucrarea strugurilor implică parcurgerea unui ansamblu de operații într-o anumită succesiune care asigură transformarea acestora în mustuală și must. Tehnologia de prelucrare trebuie să aibă loc în ziua recoltării, într-un timp cât mai scurt (cel mult 4 ore de la recoltare). Influența aerului și a temperaturii au o influență nefavorabilă asupra calității vinului [1].

Termomacerația sau macerația la cald se aplică vinurilor roșii. Prin încălzirea mustuelei la temperaturi apropiate de 70°C, timp de câteva minute urmată de separarea și răcirea mustului colorat are loc extragerea compușilor fenolici. În compoziția strugurilor se află substanțe a căror proporție variază în funcție de starea de maturitate. Apa este cea mai importantă componentă, când strugurii sunt verzi, ea poate să ajungă la 90% din greutatea ciorchinilor iar când sunt supracopți și țesuturile ciorchinilor lignificate, ea scade până la 30%. Celuloza este un *polizaharid cu grad mare de polimerizare*, ea alcătuiește pereții celulari ai țesuturilor ciorchinilor, se găsește în proporție de 5 până la 55% în funcție de starea de turgescență a celulelor, nu se regăsește în compoziția chimică a mustului deoarece ea rămâne în tescovină [2].

Celuloza acționează ca o substanță cristalină, având proprietatea de a absorbi la un moment dat pigmentii de tipul antocianilor, provocând astfel diminuarea culorii viitorului vin.

Cationii și anionii sunt substanțe minerale care se găsesc în proporție 5-6% din greutatea ciorchinilor, sărurile de potasiu reprezintă peste 50%. Abundența de substanțe minerale face ca acizii organici să se găsească mai ales sub formă de săruri (cca 1%). Această compoziție face ca pH-ul sucului obținut din ciorchini să fie mai mare (pH - 4).

Ciorchinii sunt bogați în compuși fenolici, într-un kg de struguri 20% din fenoli se află în ciorchini. Când vinul se prepară din struguri nedesciorchinați compușii fenolici determină o aciditate mai scăzută și o astringență mai pronunțată.

Pelița bobului sau epicarpul prin proporția sa puțin importantă are un aport substanțial la definirea specificității tipurilor de vin datorită compoziție chimice complexe [3]. În epicarp se găsește un ansamblu de compuși fenolici simpli - acizi fenolici, stilbeni și polifenoli - taninuri, antociani, flavone etc. Amarani și Glories, (1996), Park și colab., (1996), au stabilit cu ajutorul microscopului electronic că taninurile și antocianii sunt localizați în epicarp [1], [4]. Aceștia se găsesc în cantități diferite, funcție de localizarea straturilor celulare, se acumulează sub forma unor globule mici în exteriorul vacuolelor mari, migrează și condensează în interiorul lor.

2. Experimentări (preliminare) tratarea mustuelei/boștinei la diferite forme de undă a curentului electric și intervale de expunere

Pentru o mai bună înțelegere a comportamentului mustuelei/boștinei în timpul procesării în câmp de înaltă frecvență este necesară cunoașterea proprietăților dielectrice ale acesteia. Aceste proprietăți sunt definite de constanta dielectrică (ϵ') și factorul de pierderi (ϵ''). Constanta dielectrică ϵ' este o măsură a capacității unui material de a cupla cu energia de înaltă frecvență, în timp ce ϵ'' este o măsură a capacității unui material de a absorbi căldura 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 ϵ'' și cu tangenta de pierderi ϵ''/ϵ' , un indicator al capacității materialului de a genera căldură (Mudgett, 1990) [5]. 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.

Când nivelul de umiditate este foarte scăzut, apa este strâns legată și neafectată de câmpul de înaltă frecvență, căldura specifică devine factorul major în încălzire. Alimente bogate în carbohidrați, siropuri, zaharurile sunt principalii susceptori de energie (Mudgett, 1990) [5].

Experimentările preliminare pentru tratarea mustuelei/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 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.

Am considerat eşantioane având aceeași greutate (550 g), timpul de procesare fiind de (360 s), pentru toate probele studiate, temperatura fiind măsurată la intervale de 1 minut cu ajutorul unei camere termice model FLUKE Thermography. Procesarea s-a desfășurat astfel:

- în prima fază a procesării am utilizat o putere de 100 W, temperatura maximă atinsă în acest caz fiind cuprinsă între 38,4-39,5 (°C);
- în faza a doua am optat pentru o putere de 400 W, temperatura în acest caz variază între 90,2- 97,6 (°C). Creșterea bruscă a temperaturii conduce la degradarea produsului, deoarece temperatura maximă nu trebuie să depășească 70 (°C);
- în final am optat pentru o putere de 200 W, temperatura ajungând până la valori cuprinse între 67,4 - 68,8 °C, pentru fiecare soi de struguri fiind procesate 6 probe. În **Tabelul 1** sunt prezentate valori ale temperaturii pentru cele 3 eşantioane de struguri procesați în câmp de înaltă frecvență.

Tabelul 1

- Rezultate experimentale ale procesării strugurilor în câmp de înaltă frecvență (P = 200W)

Nr. eşantioane procesate	m _i [g]	t [s]	θ [°C]					
			Numărul eşantioanelor studiate					
			1	2	3	4	5	6
MUSCAT OTTONEL	550	0	22,0	22,2	22,2	22,3	22,3	22,3
		60	29,7	30,4	30,5	30,6	30,9	30,8
		120	38,9	39,0	39,2	39,3	39,5	39,7
		180	47,0	47,2	47,3	47,4	47,8	47,6
		240	55,5	55,4	55,6	55,9	55,6	55,8
		300	60,6	60,7	60,9	60,4	60,8	60,7
		360	67,4	67,5	67,8	67,6	67,8	67,6
PINOT NOIR	550	0	21,9	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0
		60	33,4	33,8	33,9	33,7	33,9	34,0
		120	43,3	43,7	43,8	43,6	43,7	43,0
		180	53,9	53,6	53,5	53,7	53,8	53,8
		240	58,5	58,4	58,2	58,5	58,6	58,7
		300	65,4	65,3	65,5	65,6	65,7	65,6
		360	68,5	68,6	68,7	68,6	68,8	68,7
MERLOT	550	0	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2	22,2
		60	31,9	31,8	31,7	31,8	31,9	32,0
		120	43,4	43,0	42,8	43,1	43,2	44,2
		180	49,8	49,9	49,8	49,9	49,8	49,9
		240	53,1	53,0	52,9	52,9	53,0	53,0
		300	61,2	60,9	60,8	61,0	61,1	61,6
		360	68,1	68,4	68,2	68,4	68,6	68,8

În **Figura 1.a.b.c**, sunt prezentate rezultate experimentale ale procesării celor trei soiuri de struguri în câmp de înaltă frecvență.

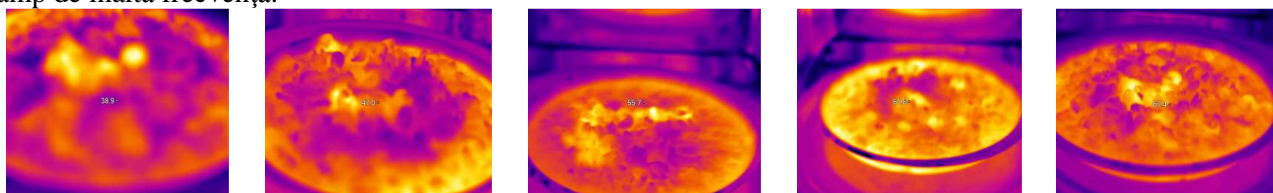


Figura 1.a. Rezultate experimentale ale procesării eşantioanele de struguri din soiul **MUSCAT OTTONEL** în câmp de înaltă frecvență

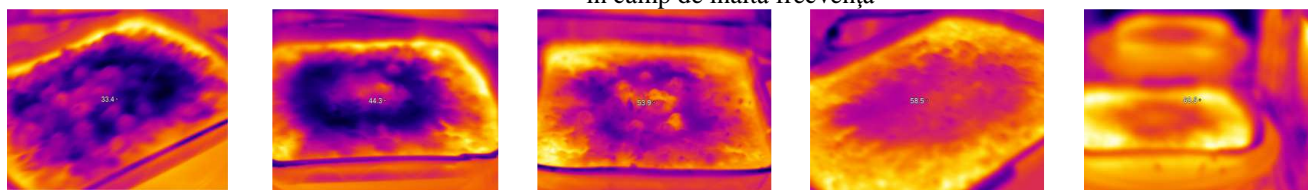


Figura 1.b. Rezultate experimentale ale procesării eşantioanele de struguri din soiul **PINOT NOIR** în câmp de înaltă frecvență

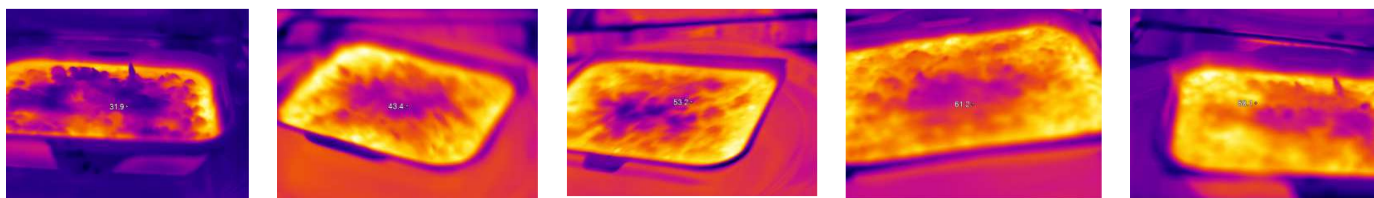


Figura 1.c. Rezultate experimentale ale procesării eșantioanele de struguri din soiul **MERLOT** în câmp de înaltă frecvență

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 [6]. Schema fluxului tehnologic de producere a vinului alb, respectiv a vinului roșu este prezentată în **Figura 2**.

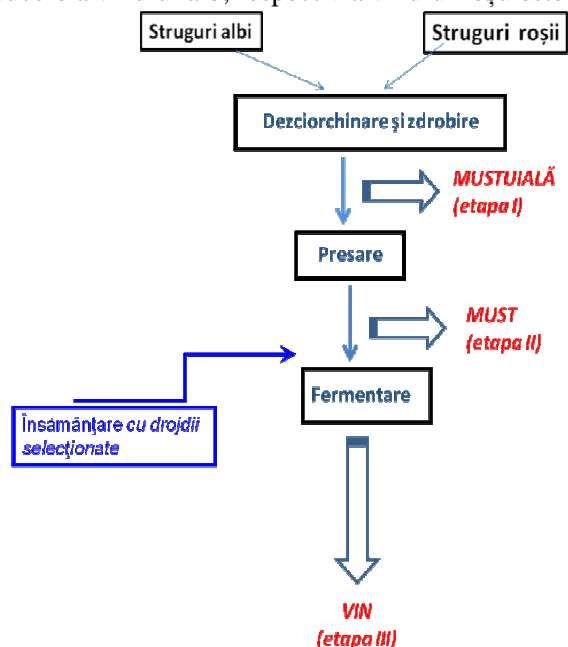


Figura 2. Schema simplificată de obținere a vinului

Cele trei etape din care s-au recoltat probele pentru diferite analize au fost:

- mustuiala (etapa I);
- must (etapa II);
- vin (etapa III).

În etapa I, boabele de struguri au fost dezciorchinate și zdrobite cu ajutorul unui dezbrobonitor-zdrobitor, rezultând mustuiala, care a fost împărțită în două părți. O parte a fost tratată în câmp de înaltă frecvență iar cealaltă parte a rămas netratată. Din această etapă s-au colectat probe pentru analizele biochimice și fizico-chimice. Mustuiala provenită de la boabele de struguri albi atât tratați cât și netrați în câmp de înaltă frecvență au fost apoi presați cu ajutorul unei prese manuale cu șurub, iar din mustul rezultat (etapa II) s-au colectat probe, după care mustul a fost însămânțat cu drojdiile selecționate **Saccharomyces cerevisiae EC1118** [7].

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 drojdiile 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.

3. Analizele fizico-chimice

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 2**.

- **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 ($F=0.9527$). Rezultatele obținute sunt exprimate în g/L acid tartric, conform relației (I.1.1.) și sunt prezentate prezentate în **Tabelul 2**.

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

unde, V_p – reprezintă volumul de NaOH 0,1M folosit la titrarea probelor; F factorul soluției de NaOH 0,1M (0,9527).

Corelația dintre indicele de refracție (nD) și indicele Brix, pentru toate probele de mustuială, must și vin sunt prezentate în **Tabelul 2.a**.

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 tartric/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	84.5666	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	142.00	4.30E-3
	Vin MW*	24	2.890	6.288	1.9900	1.117	11.21	1.334700	138.00	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	104.00	2.70E-3
	Vin MW*	24	2.900	6.645	2.0800	2.100	21.08	1.336183	151.00	2.00E-3

MW* – procesare în câmp de înaltă frecvență

Tabelul 2.a.

Regresie Liniară: Metoda Robustă Bx% vs. nD	
Panta a:	0.0014719
Intersecție ordonată b:	1.3331
r:	0.99925
r ² :	0.99851
t statistic:	103.41
p:	4.88E-24
Permutat. p:	0.0001
Intervale de confidență (metoda Bootstrap) 95%	a: [0.00135; 0.001488] b: [1.333; 1.334]

În **Figurile 3.a.b.c** sunt prezentate spectrele UVVIS ale probelor de vin (diluție 1:10) pentru cele 3 soiuri de struguri netratate și tratate în câmp de înaltă frecvență.

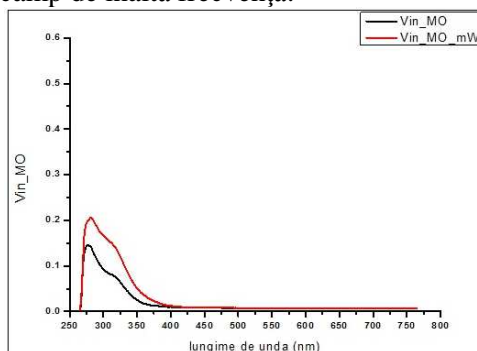


Figura 3.a. Spectrele UVVIS ale probelor de vin (diluție 1:10) Muscat Ottonel fără și tratat în câmp de înaltă frecvență

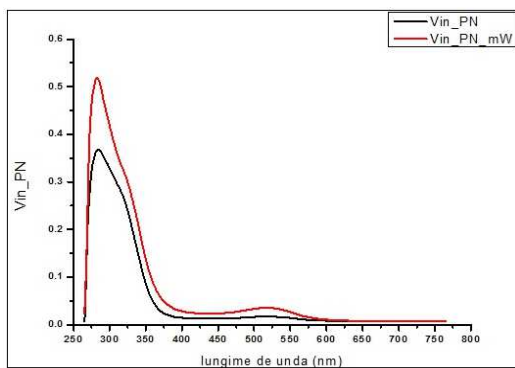


Figura 3.b. Spectrele UVVIS ale probelor de vin (diluție 1:10) Pinot Noir fără și tratat în câmp de înaltă frecvență

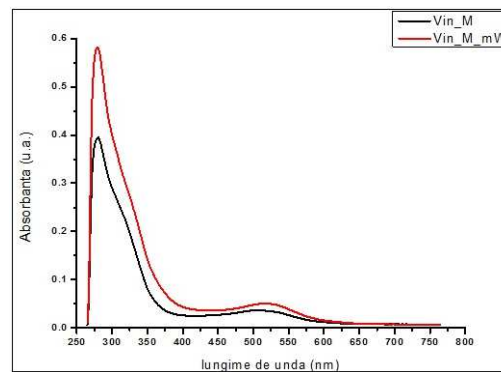


Figura 3.c. Spectrele UVVIS ale probelor de vin (diluție 1:10) Merlot fără și tratat în câmp de înaltă frecvență

- **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 2**.

- **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 mustuală, 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 $R_2 = 0,99851$. 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.

4. Analize biochimice

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 $R^2 = 0,995$ [9]. Cantitatea de compuși fenolici totali a fost exprimată în mg echivalenți acid galic (GAE)/L probă și sunt prezentate în **Tabelul 3**.

- ✓ **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_2 (5%). Probele au fost lăsate în repaus pentru 5 minute după care s-a adăugat 0,3 ml AlCl_3 (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 3**.

- ✓ **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 3**:

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

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; ϵ = absorbivitatea molară a cianidin 3-glucozida în soluție apoasă acidă (26,900 M⁻¹cm⁻¹); L = drumul optic (1 cm).

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

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

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 antioxidanților 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 4**.

✓ **Metoda FRAP** (*Ferric Reducin Antioxidant Power*), metoda simplă spectrofotometrică care testează puterea antioxidantă a probelor luate în studiu, și se bazează pe reducerea complexului tripiridiltriiazina ferică (Fe(III)-TPTZ) la complexul tripiridiltriiazina 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 Fe₂(SO₄)₃·H₂O 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 R² = 0,9900. Rezultatele au fost exprimate în mmol echivalenți Trolox/L probă. Rezultatele obținute sunt prezentate în **Tabelul 4**.

✓ **Metoda TEAC** (*Trolox Equivalents Antioxidant Capacity*) se bazează pe abilitatea antioxidanților 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 ± 0,02 la 734 nm. După adăugarea a 25 μl probă la 2500 μl soluție ABTS⁺, amestecul se vortex-ează 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 R²=0,986. Rezultatele obținute sunt prezentate în **Tabelul 4**.

✓ c) Caracterizarea culorii probelor a fost făcută utilizând două metode: metoda scanării directe a probelor nediluate cu ajutorul microplate-urilor (**Figura 4**), 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.

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

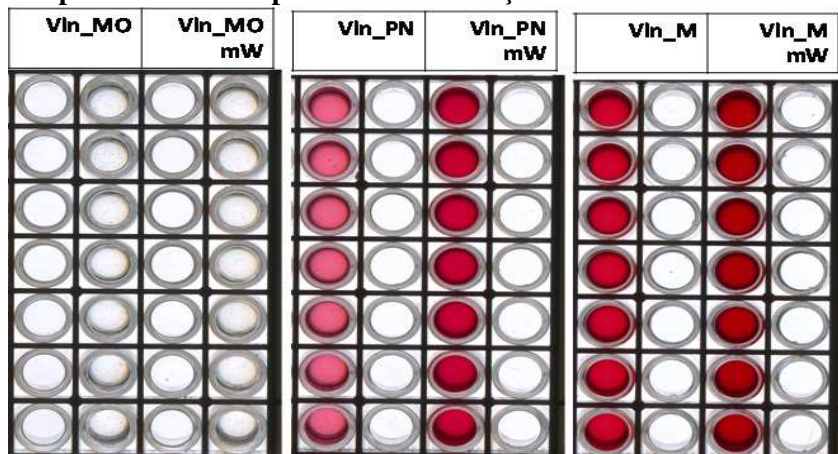


Figura 4. Rezultatul scanării probelor de vin pentru cele trei soiuri de struguri

Rezultatele cromatice date de scanările directe ale probelor de vin sunt prezentate în Tabelul 5, împreună cu diferența de culoare, ΔE , 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.

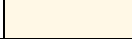





Tabelul 5.

Vin	Tratament	R	G	B	Culoare	L*	a*	b*	ΔE
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 (Figura 5), 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°) prescrise de standardul CIE 1964. Coordonatele cromatice XZY

se transformă în RGB și Respectiv CIE L*a*b*1992 cu algoritmi prezentăți anterior. Rezultatele sunt date în **Tabelul 6**.

Tabelul 6.

Sortiment Vin	Tratament	R	G	B	Culoare	L*	a*	b*	ΔE
Muscat Ottonel (MO)	netratat	255	248	230		99.30	6.47	12.19	2.05
Muscat Ottonel (MO_MW)	tratat	255	244	228		98.41	8.20	11.56	
Pinot Noir (PN)	netratat	245	68	102		56.59	68.41	21.87	19.72
Pinot Noir (PN_MW)	tratat	202	0	46		42.11	69.30	35.21	
Merlot (M)	netratat	205	0	35		42.63	68.92	42.43	16.45
Merlot (M_MW)	tratat	163	0	0		31.63	62.38	52.77	

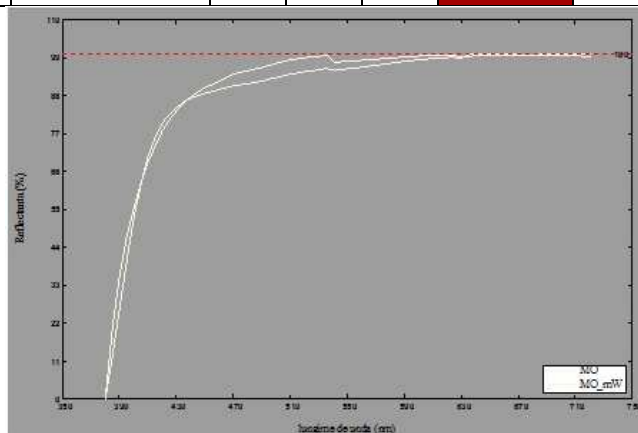


Figura 5. Spectrele VIS ale probelor de vin **Muscat Ottonel** (nediluat) în varianta netratată și tratată în câmp de înaltă frecvență

Sortimentele de vin roșu și roz (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 roz 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 roz 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 probele tratate în câmp de înaltă frecvență, sunt cele pentru care absorbanța (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 roz și roșu, se va aplica predicția de tip *Burg*. Rezultatele acestor predicții sunt prezentate grafic 3D în **Figura 6.a.b** și **Figura 7.a.b**, și numeric în **Tabelul 6**. Algoritmi de calcul sunt identici cu cei din cazul probelor de vin alb Muscat Ottonel.

Rezultatele cromatice ce provin din analiza spectrofotometrică a tuturor probelor de vin (**Tabelul 6**): prezența atât a unei diferențe mici de culoare, pentru vinul al Muscat Ottonel, cât și diferențe de culoare mari pentru sortimentele de vin roșu, ΔE , 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 CIE L*a*b*.

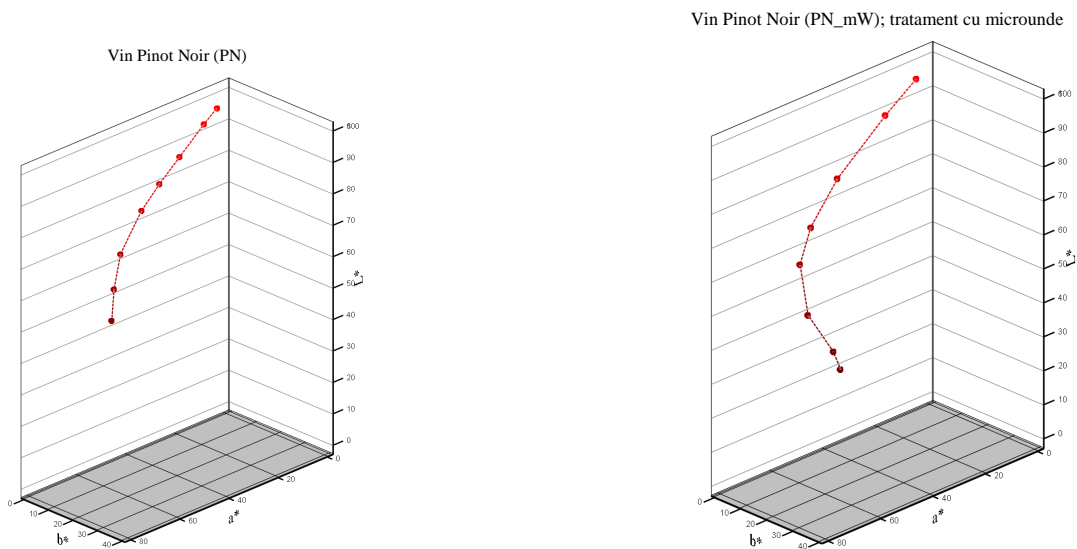


Figura 6. a. b. Curbele de variație a coordonatelor cromatice în spațiul CIEL*a*b*, pentru probele de vin **Pinot Noir** la concentrațiile propuse și predicția pentru varianta nediluată (extremitatea cu luminanța cea mai mică)

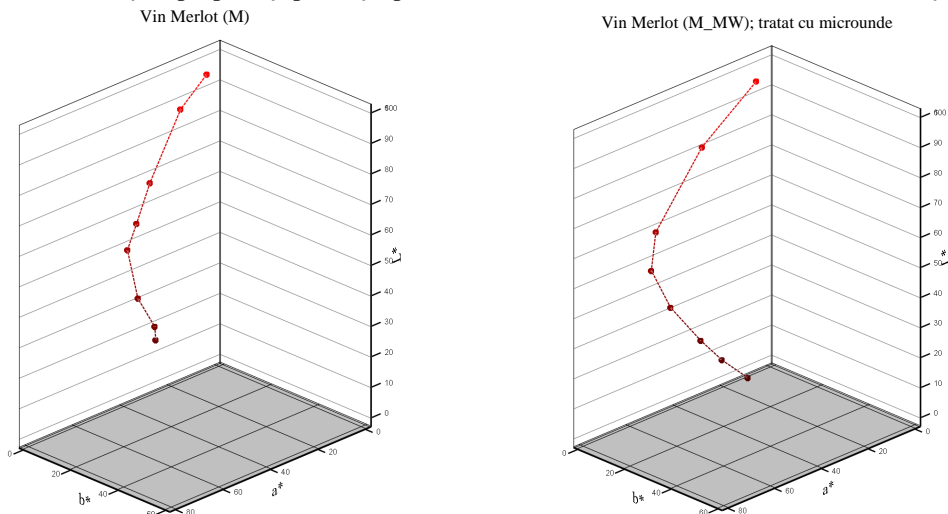


Figura 7.a.b. Curbele de variație a coordonatelor cromatice în spațiul CIEL*a*b*, pentru probele de vin **Merlot** la concentrațiile propuse și predicția pentru varianta nediluată (extremitatea cu luminanța cea mai mică)

Reprezentarea grafică a efectului tratamentului în câmp de înaltă frecvență pentru probele de vin Muscat Ottonel (MO), Pinot Noir (PN) și Merlot (M), sunt prezentate graphic 3D în **Figura 8.** și 2D în planul cromatic a*b*. Din aceste grafice se pot remarca, pe lângă concluziile desprinse anterior, faptul că 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.

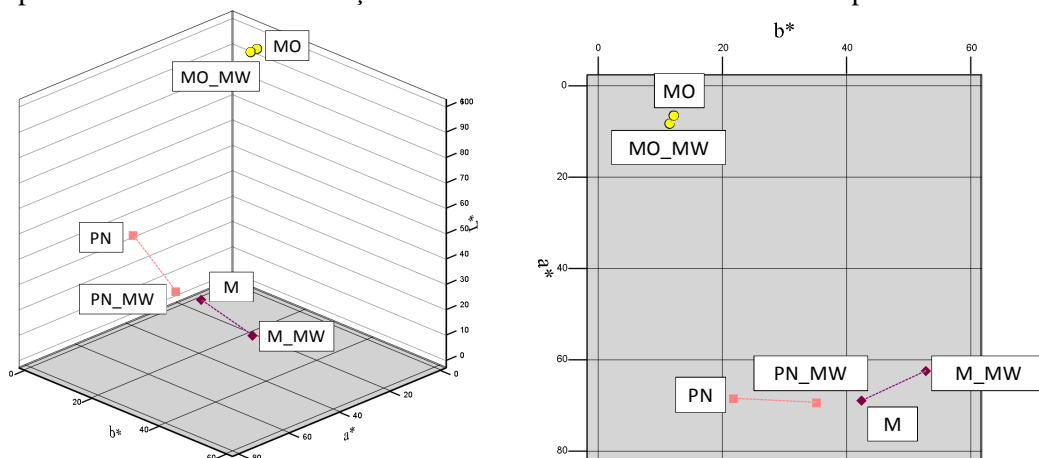


Figura 8. Reprezentarea grafică a parametrilor din spațiul cromatic CIEL*a*b* pentru probele de vin în variantele fără și cu tratament în câmp de înaltă frecvență

5. 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 - 69.

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 evoluată 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.

6. Tratarea mustuelii/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 [13], [14], [15]. Menționăm că ridicarea temperaturii poate conduce la deteriorări nedorite dar și la modificări ale conținutului de substanțe și fermenți utili producerii vinului.

Metodele electromagnetice promit a fi cele mai eficiente proceduri de îmbunătățire a separării lichid-solid. Injectarea unui curent continuu, a fost studiată în literatură (ex. [16], [17]), 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 [18], de mere [19], [20], de sfeclă de zahăr [21]. Rezultatele arată că

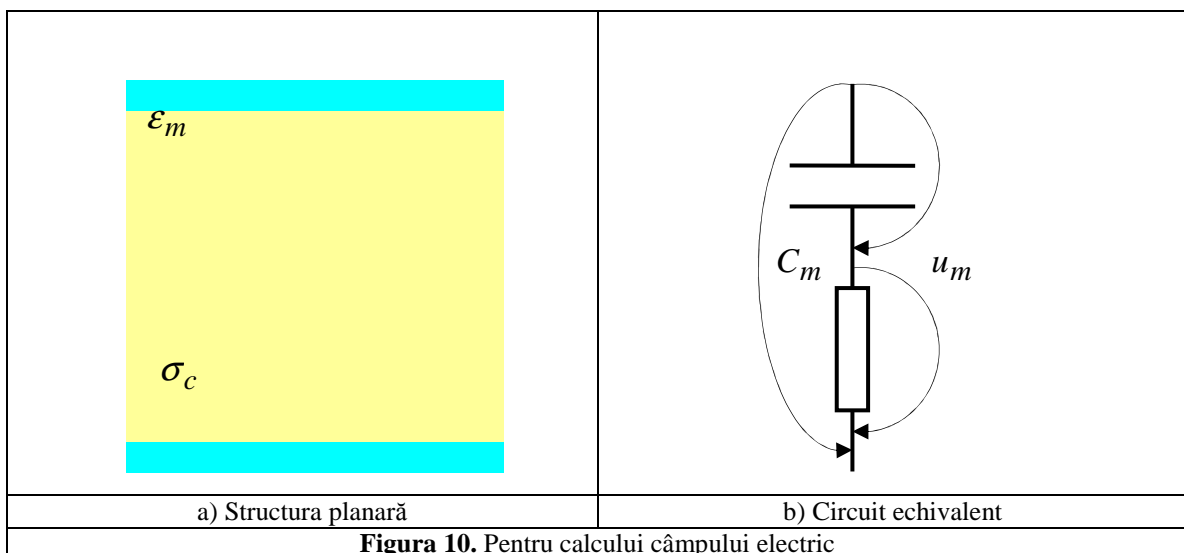
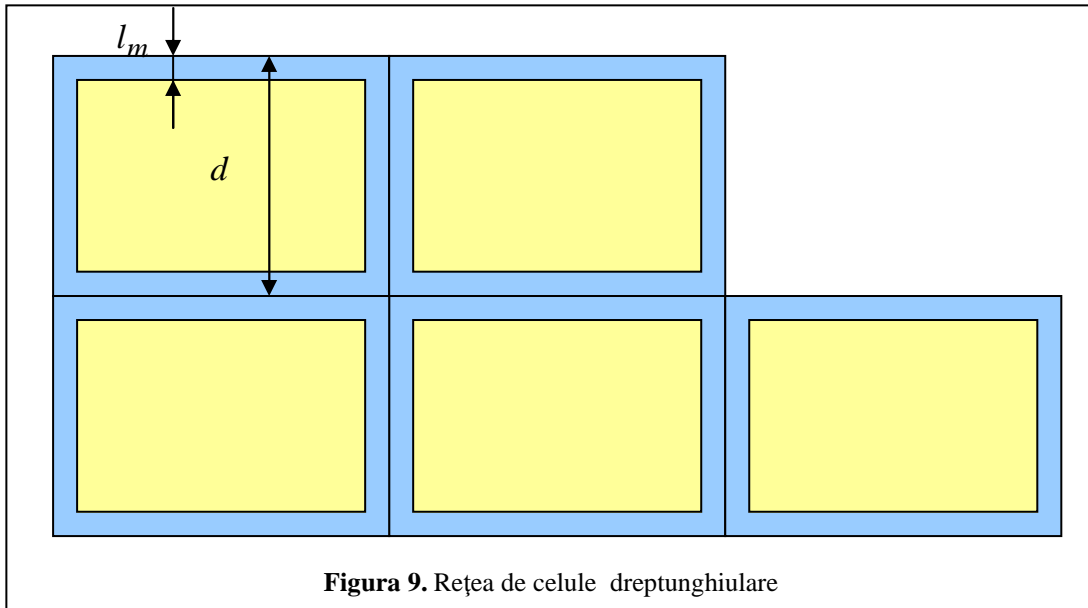
electroplasmoliza produce o drastică îmbunătățire a extragerii lichidului intracelular. În plus, creșterea de temperatură este neglijabilă iar o parte din microorganisme sunt inactivate.

7. 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.

7.1. Modelul celulei dreptunghiulare

Cel mai simplu model aproximează, consideră celula de formă dreptunghiulară [13], [22], [23] (**Figura 9**), cu grosimea membranei l_m mult mai mică decât dimensiunea celulei d .



În ipoteza aplicării potențialului u pe un strat de celule, analiza câmpului electric se face imediat, folosind o schema RC (**Figura 10**). Luând în considerare o suprafață unitară pentru celulă, avem:

$$C_m = \epsilon_m \frac{l_m}{2} \tag{4}$$

$$R_c = \frac{(d - 2l_m)}{\sigma_c} \cong \frac{d}{\sigma_c} \tag{5}$$

unde: ϵ_m este permitivitatea membranei, σ_c este conductivitatea lichidului din celula. Intensitatea medie a câmpului electric pe o celulă este

$$E = \frac{u_m + u_c}{d} \quad (6)$$

iar intensitatea câmpului electric în membrană este:

$$E_m = \frac{u_m}{2l_m} \quad (7)$$

Ecuția tensiunii membranei u_m rezultă imediat:

$$R_c C_m \frac{du_m}{dt} + u_m = u \quad (8)$$

La impuls de tensiune dreptunghiular, care, pe durata în care acționează produce o tensiune constantă pe celulă, ecuația (8) are soluția:

$$u_m = u(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}) \quad (9)$$

unde constanta de timp τ este:

$$\tau = R_c C_m \quad (10)$$

Din (5) și (7) rezultă:

$$E_m = \frac{u}{2l_m} (1 - e^{-\frac{t}{\tau}}) \quad (11)$$

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 strângere $E_m > E_{str}$. Pentru a evita refacerea membranei, sunt recomandate 2 căi:

- i) Realizarea unei valori $E_m > E_{str}$ pe durata impulsului. Se poate face marind amplitudinea impulsului și/sau marind durata impulsului (de ex. **Figura 11**, din [22], în cazul roșiilor).
- ii) Repetarea impulsurilor (de ex. **Figura 12**, din [22])

Apariția electroporilor este însoțită de creșterea curentului absorbit.

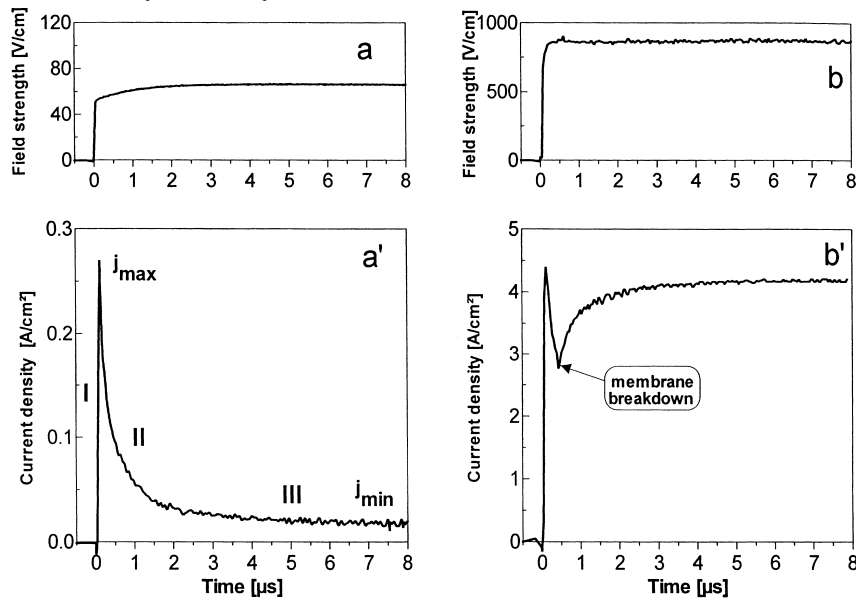


Figura 11. Intensitatea câmpului electric E pe celulă și densitatea de curent. În cazul b apar electroporii [22]

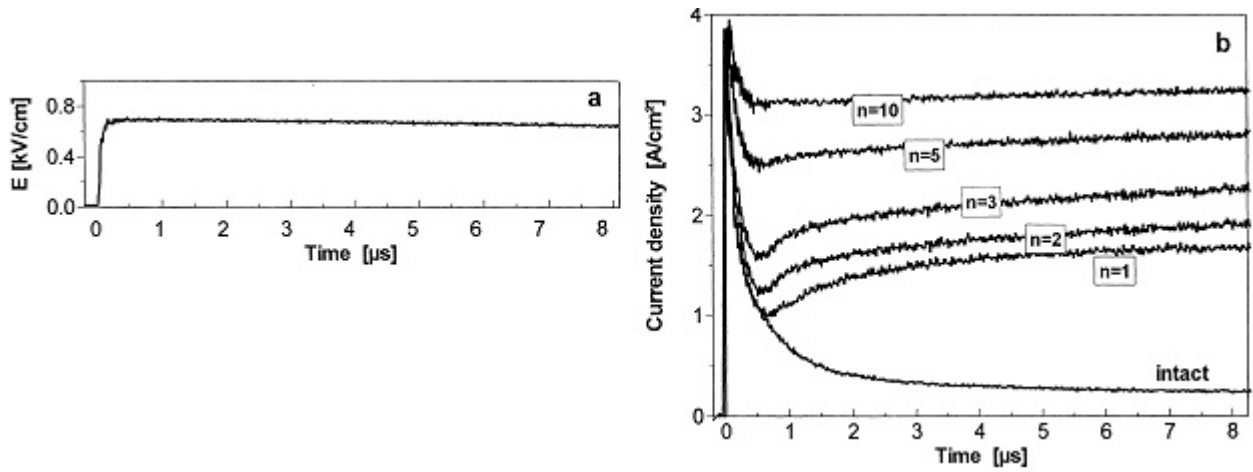


Figura 12. Dependența densității de curent în funcție de numărul de impulsuri. Frecvența impulsurilor este 1Hz [22]

În [23] se utilizează modelul celulelor dreptunghiulare pentru a genera o rețea rezitivă echivalentă capabilă să ofere o soluție a câmpului electric în cazul în care acesta nu are o distribuție uniformă (**Figura 13**). Este o schema de tip diferențe finite și soluția se obține printr-o tehnică Gauss-Seidel cu relaxare. Evident, propunerea din [23] presupune ca membrana are o rezistență care devine nulă atunci când apar electroporii:

$$r = r_m + r_c \quad (12)$$

unde rezistențele corespunzătoare membranei și lichidului din interiorul celulei sunt:

$$r_m = \frac{l_m}{\sigma_m d} \quad (13)$$

și

$$r_c = \frac{1}{\sigma_c} \quad (14)$$

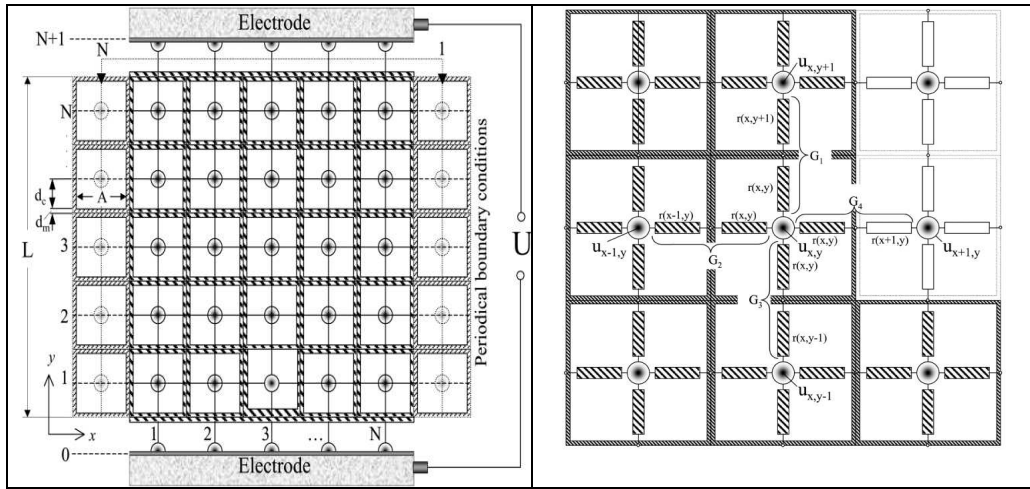


Figura 13. Rețea de calcul de tip diferențe finite [23]

7.2. Alte forme de celule

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 mustaială, sau în produsul ce rezultă la o primă compresie (**Figura 14**).

Spațiul intercelular are conductivitatea σ și permitivitatea ϵ . 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:

$$V = u_{electrod} \frac{L}{D_{electrozi}} \quad (15)$$

unde: $u_{electrod}$ este tensiunea dintre electrozi si $D_{electrozi}$ este distanta dintre electrozi.

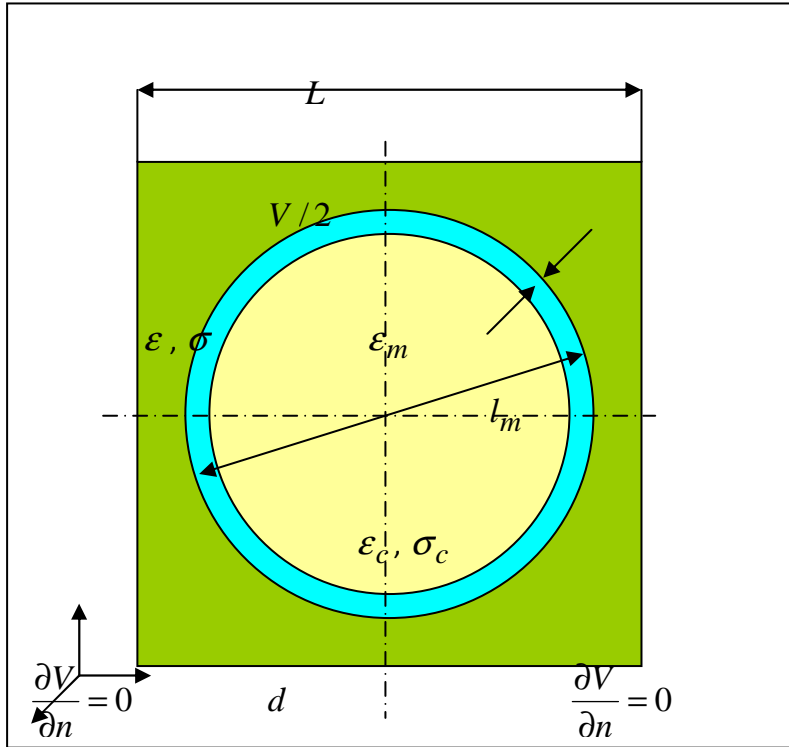


Figura 14. Celula sferică

Câmpul electromagnetic este în regimul cvasistaționar anamagnetic.

Regimul cvasistaționar anamagnetic al câmpului electromagnetic presupune neglijarea derivatei în timp a inducției magnetice [24]. Ca urmare, din legea inducției electromagnetice rezultă:

$$\mathbf{E} = -\nabla V \quad (16)$$

Dacă în legea circuitului magnetic:

$$\nabla \times \mathbf{H} = \mathbf{J} + \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} \quad (17)$$

înlocuim relațiile constitutive

$$\mathbf{D} = \epsilon \mathbf{E} \quad (18)$$

$$\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E} \quad (19)$$

si aplicand operatorul $\nabla \cdot$, rezulta ecuatia potentialului electric scalar:

$$\nabla \sigma \nabla V + \frac{\partial (\nabla \epsilon \nabla V)}{\partial t} = 0 \quad (20)$$

7.3. Soluționarea numerică a ecuației (20)

A. Discretizarea spațială

Folosim metoda elementului finit (FEM). Scriem:

$$V = V_0 + \sum_{k=1}^N \alpha_k(t) \Phi_k \quad (21)$$

unde Φ_k sunt funcții de formă liniar independente, având condiția de frontieră Dirichlet nulă: $\Phi_k = 0$, la $z = \pm L/2$. Funcția V_0 care preia condiția de frontieră Dirichlet: $V_0 = \pm V/2$, la $z = \pm L/2$, respectiv. Coeficienții $\alpha_k(t)$ sunt funcții de timp necunoscute. Proiectăm ecuatia (20) pe N funcții test liniar independente, având condiția de frontieră Dirichlet nulă. Cel mai comod este ca să luăm tot funcțiile Φ_k ca funcții test. Prin proiectare pe funcția Φ_i și integrare prin părți, relația (19) devine:

$$\int_{\Omega} \sigma \nabla V \nabla \Phi_i dv + \int_{\Omega} \varepsilon \frac{\nabla \partial V}{\partial t} \nabla \Phi_i dv = 0 \quad (22)$$

unde Ω este domeniul de calcul. Inlocuind (21) în (20), rezultă:

$$\begin{aligned} & \sum_{k=1}^N \alpha_k \int_{\Omega} \sigma \nabla \Phi_k \nabla \Phi_i dv + \sum_{k=1}^N \frac{d\alpha_k}{dt} \int_{\Omega} \varepsilon \nabla \Phi_k \nabla \Phi_i dv \\ & = - \int_{\Omega} \sigma \nabla V_0 \nabla \Phi_i dv - \int_{\Omega} \varepsilon \frac{\nabla \partial V_0}{\partial t} \nabla \Phi_i dv, \quad i=1,2,\dots,N \end{aligned} \quad (23)$$

Dacă notăm:

$$a_{i,k} = \int_{\Omega} \sigma \nabla \Phi_k \nabla \Phi_i dv \quad (24)$$

$$b_{i,k} = \int_{\Omega} \varepsilon \nabla \Phi_k \nabla \Phi_i dv \quad (25)$$

$$c_i = - \int_{\Omega} \sigma \nabla V_0 \nabla \Phi_i dv \quad (26)$$

$$d_i = - \int_{\Omega} \varepsilon \frac{\nabla \partial V_0}{\partial t} \nabla \Phi_i dv \quad (27)$$

ecuația (21) se mai scrie:

$$\sum_{k=1}^N a_{i,k} \alpha_k + \sum_{k=1}^N b_{i,k} \frac{d\alpha_k}{dt} = c_i + d_i \quad (28)$$

B. Discretizarea în timp

Cel mai convenabil este să se folosească o tehnică Crank-Nicholson cu factor 0.5, (metoda trapezelor). Se împarte intervalul de timp pe care dorim să obținem soluția în subintervale $[t_{n-1}, t_n]$, în care funcțiile α_k și V_0 au variație liniară. Integrând relația (28) pe $[t_{n-1}, t_n]$, rezultă:

$$\begin{aligned} & \sum_{k=1}^N a_{i,k} \frac{\alpha_{k,n} + \alpha_{k,n-1}}{2} \Delta_n + \sum_{k=1}^N b_{i,k} (\alpha_{k,n} - \alpha_{k,n-1}) \\ & = \frac{c_{i,n} + c_{i,n-1}}{2} \Delta_n + d_{i,n} - d_{i,n-1}, \quad i=1,2,\dots,N \end{aligned} \quad (29)$$

unde

$$\begin{aligned} \Delta_n &= t_n - t_{n-1} \\ c_{i,n} &= - \int_{\Omega} \sigma \nabla V_0(t_n) \nabla \Phi_i dv \\ d_{i,n} &= - \int_{\Omega} \varepsilon \nabla V_0(t_n) \nabla \Phi_i dv \end{aligned}$$

Având valoarea inițială a potențialului V , deci a coeficienților $\alpha_{k,0}$, ecuația (29) permite determinarea $\alpha_{k,n}$ succesivă a coeficienților $\alpha_{k,n}$, $n=1,2,\dots$. O stabilitate mai bună la rezolvarea ecuației (29) se obține dacă se determină diferențele

$$\delta_{k,n} = \alpha_{k,n} - \alpha_{k,n-1}$$

cu ecuația ce rezultă din (28):

$$\sum_{k=1}^N a_{i,k} \delta_{k,n} + \sum_{k=1}^N 2 \frac{b_{i,k}}{\Delta_n} \delta_{k,n} = c_{i,n} - c_{i,n-1} + \frac{2}{\Delta_n} (d_{i,n} - d_{i,n-1})$$

$$-2 \sum_{k=1}^N a_{i,k} \alpha_{k,n-1} + 2c_{i,n-1}, \quad i=1,2,\dots,N \quad (30)$$

Observatii:

- i) Relația (30) pune în evidență diferența dintre regimul staționar și cel variabil în timp.
- ii) In primul interval de timp, V_0 creștere liniar de la 0 la valoarea maximă.
- iii) Date fiind planele de simetrie, domeniul de calcul poate fi redus la primul octand $\{x, y, z | x \geq 0, y \geq 0, z \geq 0\}$, condițiile de frontieră pe planele de simetrie fiind:
- iv)

$$V = 0, \text{ pt. } z=0, \quad \frac{\partial V}{\partial n} = 0, \text{ pt. } x=0, \quad \frac{\partial V}{\partial n} = 0, \text{ pt. } y=0$$

C. Funcțiile de formă

Cel mai convenabil este să folosim ca funcții de formă, elemente nodale de ordinul 1. Impărțim domeniul Ω în subdomenii tetraedrale. Pentru fiecare nod k definim funcția φ_k cu variație liniară în toate subdomeniile tetraedrale, având valoarea 1 în nodul k și nulă în restul nodurilor:

$$\varphi_k = \begin{cases} \dots \\ 1 - \mathbf{T}_{kj} \cdot \mathbf{r}, & \text{in subdomeniul } \omega_j \text{ ce contine nodul } k \\ 0, & \text{in subdomeniile ce nu contin nodul } k \end{cases} \quad (31)$$

unde:

$$\mathbf{T}_{kj} = \frac{\mathbf{S}_{kj}}{3v_j} \quad (32)$$

j este indice de tetraedru ce conține nodul P_k , \mathbf{S}_{kj} este suprafața orientată spre exterior, din tetraedrul j , opusă nodului P_k , iar v_j este volumul tetraedrului j .

Se vede imediat că:

$$\nabla \varphi_k = \begin{cases} \dots \\ -\mathbf{T}_{kj} = -\frac{\mathbf{S}_{kj}}{3v_j}, & \text{in subdomeniul } \omega_j \text{ ce contine nodul } k \\ 0, & \text{in subdomeniile ce nu contin nodul } k \end{cases} \quad (33)$$

Deci, conform relației (24) și (25), avem:

$$a_{i,k} = \sum_{j \in \{k\} \cap \{i\}} \sigma_j \frac{\mathbf{T}_{kj} \cdot \mathbf{T}_{ij}}{9v_j} \quad (34)$$

$$b_{i,k} = \sum_{j \in \{k\} \cap \{i\}} \varepsilon_j \frac{\mathbf{T}_{kj} \cdot \mathbf{T}_{ij}}{9v_j} \quad (35)$$

unde $\{k\}$ și $\{i\}$ sunt mulțimile tetraedrelor ce conțin nodurile k , respective i , iar $j \in \{k\} \cap \{i\}$ sunt tetraedrele ce conțin ambele noduri. Când $k=i$, suma (34) se face pe toate tetraedrele ce conțin nodul k . Evident, $a_{i,k} = a_{k,i}$.

Potențialul V_0 poate fi și el descris cu ajutorul funcțiilor de formă nodale:

$$V_0 = \sum_{k=1}^{N_f} V_{k_f}(t) \Phi_{k_f} \quad (36)$$

unde $V_{k_f}(t)$ sunt potențialele din cele N_f noduri k_f de pe frontiera Dirichlet, iar Φ_{k_f} sunt funcțiile de formă nodale. Rezultă:

$$c_{i,n} = \sum_{k_f=1}^{N_f} a_{i,k_f} V_{k_f}(t_n) \quad (37)$$

$$d_{i,n} = \sum_{k_f=1}^{N_f} b_{i,k_f} V_{k_f}(t_n) \quad (38)$$

8. Propunere de soluție tehnică

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

➤ Extragere a lichidului intracelular prin tehnica **compresie-PEF-compresie** sugerată în [13]. Pelițele din boască sunt separate de lichid și, trecute prin valturi, 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 [25] sau microunde.

➤ Lichidul intracelular este eliminat prin încă o compresie.

9. Măsurători ai parametrilor electrici pentru boască

Pentru determinarea conductivității electrice și a permitivității complexe, a fost preparată, prin zdrobire manuală, o cantitate de boască (fără ciorchini) 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 15).



Figura 15. Vasul cu boască și electrozii

A fost adoptat modelul regimului cvasistationar anamagnetic și, în ipoteza unui câmp electric uniform, legea conservării sarcinii electrice este (Figura 16):

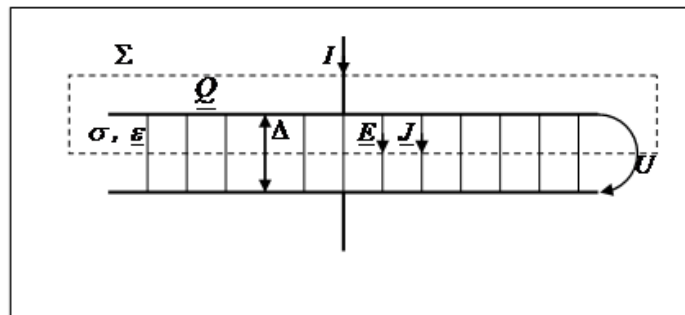


Figura 16. Pentru determinarea σ și ϵ

$$\int_{\Sigma} \underline{J} \cdot n dS = -j\omega \underline{Q} \quad (39)$$

unde \underline{Q} este sarcina electrica adunata pe armature din interiorul suprafetei inchise Σ . In afara armaturilor

$$\int_S \underline{J} \cdot n dS = -\underline{I}, \text{ iar intre armaturi}$$

$$\underline{J} = \sigma \underline{E} = \sigma \frac{U}{\Delta} \quad (40)$$

Pe armatură, sarcina electrică este distribuită uniform și avem:

$$\underline{Q} = S \underline{D} = S \epsilon \underline{E} = S \epsilon \frac{U}{\Delta} \quad (41)$$

Rezultă:

$$-\underline{I} + S \sigma \frac{U}{\Delta} = -j \omega S \epsilon \frac{U}{\Delta} \quad (42)$$

Deci:

$$\underline{Y} = \frac{\underline{I}}{\underline{U}} = \frac{S}{\Delta} [(\sigma + \omega \epsilon_r \text{tg } \delta) + j \omega \epsilon_r] \quad (43)$$

Din puterea activă P absorbită de electrozi rezultă:

$$P = \frac{1}{T} \int_0^T u i dt = U^2 \text{Re}(\underline{Y}) = U^2 \frac{S}{\Delta} (\sigma + \omega \epsilon_r \text{tg } \delta) \quad (44)$$

si apoi, din (43) avem:

$$\omega \epsilon_r = \sqrt{Y^2 - \frac{P^2}{U^4}} \quad (44)$$

Relațiile (43) permite determinarea permitivitatii ϵ_r . Relația (44), scrisă pentru mai multe frecvențe, permite determinarea conductivității σ și a tangentei de pierderi $\text{tg } \delta$.

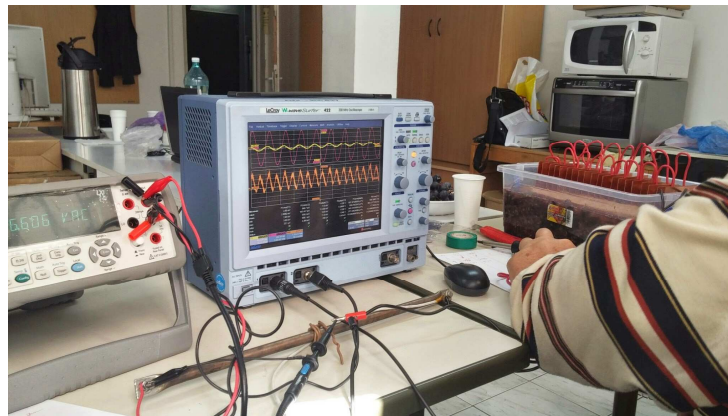


Figura 17. De la stânga la dreapta: sursa de tensiune, șuntul coaxial, osciloscopul, sarcina

S-a folosit o sursa de tensiune sinusoidală cu frecvențe între 50 Hz și 22 MHz, tensiunea fiind măsurată pe unul din canalele unui osciloscop (**Figura 17**). 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 (42) este făcută de osciloscop.

Dependențele admitanței Y , a părților ei reale G și imaginare – B sunt prezentate în **Figurile 18, 19, 20**.

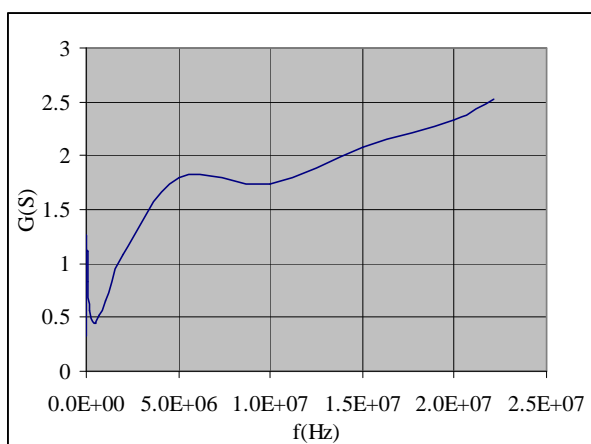
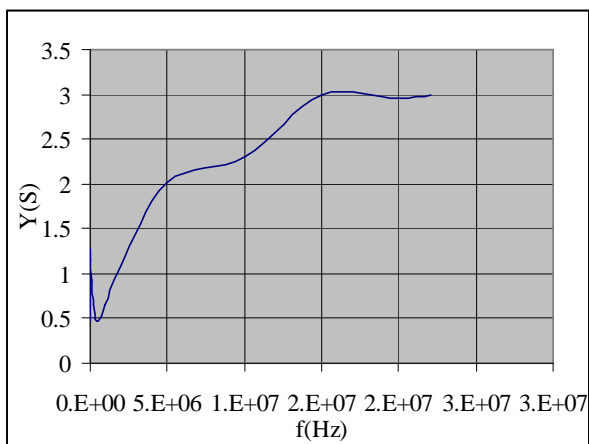


Figura 18. Dependenta de frecventa a admitantei **Figura 19.** Dependenta de frecventa a partii reale a admitantei

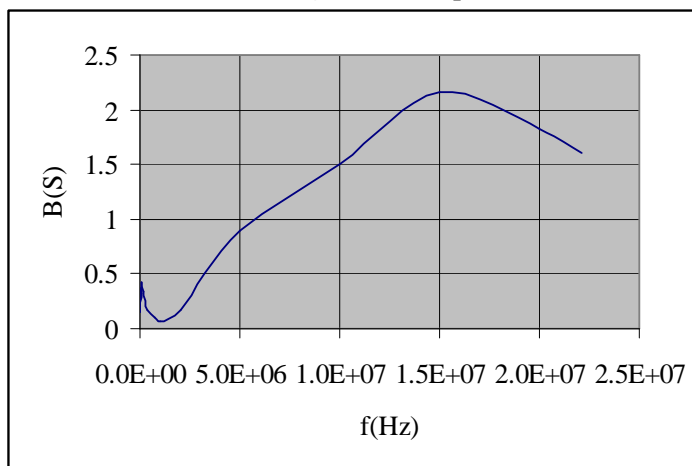


Figura 20. Dependenta de frecventa a partii imaginare a admitantei

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 σ și $\underline{\epsilon}$ depend de frecvența. Este necesar sa adaugam masuratorile asemanatoare 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 incadrul măsurătorilor a fost verificată dependența de tensiune a parametrilor de material. In **Tabelul 7** sunt prezentate dependentele de tensiune ale admitantei Y , a partilor ei reale G si imaginare $-B$, la diferite frecvente.

Tabelul 7.
Dependenta de tensiune a admitantei

f	U	Y	G	B'
(Hz)	(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] Ș. Oprea, D. Popa, Mariana Popovici – *Oenologie*. Editura Academic Print, Cluj Napoca, 2012.
- [2] N. Pomohaci, I. Namalosanu și colab. *Oenologie*. Editura Ceres București 2000.
- [3] V.V.Cotea, V.D.Cotea - *Tehnologii de producere a vinurilor*. Editura Academiei Române, 2006.
- [4] C. Banu și colab. - *Manualul inginerului de industria alimentară*. Editura Tehnică București 1999.
- [5] T.N. Tulasidas, G.S. Raghavan, F. van de Voort, and R. Girard – *Dielectric Properties of Grapes and Sugar Solutions at 2,45 GHz*. Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy – Vol. 30, No.2, 1995, pp.117-123.
- [6] Bénédicte Lorrain, Isabelle Ky, Laurent Pechamat, Pierre-Louis Teissedre, - *Evolution of Analysis of Polyphenols from Grapes, Wines, and Extracts*. Molecules, 18, 2013, pp.1076-1100.
- [7] I. Anghel și colab - *Biologia și tehnologia drojdiilor*. Editura Tehnică București 1991.
- [8] Lee J., Durst R., Wrolstad R. E.,- *Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study*. Journal Of Aoac International Vol. 88, No. 5, 2005, pp.1269-1278.
- [9] En-Qin Xia, Gui-Fang Deng, Ya-Jun Guo and Hua-Bin Li, - *Biological Activities of Polyphenols from Grapes*. Int. J. Mol. Sci., 11, 2010, pp.622-646.
- [10] Stanciua G., Lupsora S., Sava C., Zagan S,- *Spectrophotometric study on stability of anthocyanins extracts from black grapes skins*. Ovidius University Annals of Chemistry , 21, (1), 2010, pp.101-104.
- [11] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C - *Use of free radical method to evaluate antioxidant activity*. Lebensm. Wiss. Technology, 28, 1995, pp.25–30.
- [12] Özge Algan Cavuldak, R. Ertan Anlı, Nilüfer Vural, - *Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Some Red Wines from Turkey*. International Journal of Food Science and Nutrition Engineering 2013, 3(3): 2013, pp.40-47.
- [13] Hazem Bouzrara, Eugene Vorobiev - *Solid liquid expression of cellular materials enhanced by pulsed electric field*. Chemical Engineering and Processing 42 (2003) pp. 249-257,
- [14] S. Nagy, C.S. Chen, P.E. Shaw - *Fruit Juice Processing Technology*. Agscience Inc, 1992.
- [15] 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.
- [16] V. Orsat, G.S. Raghavan, E.R. Norris - *Food processing waste dewatering by electro-osmosis*. Can. Agric. Eng. 38 (1996) pp. 63.
- [17] H. Yoshida, M. Iwata, H. Igami, T. Murase - *Combined operation of electroosmotic dewatering and mechanical compression*. J.Chem. Eng. Jpn. 3 (1991) pp. 399.
- [18] D. Knorr, M. Geulen, T. Grahl, W. Sitzmann - *Food application of high electric field pulses*. Trends Food Sci. Technol. 5 (1994) pp. 71.
- [19] M. Bazhal, E. Vorobiev - *Electrical treatment of apple cossettes for intensifying juice pressing*. J. Sci. Food Agric. 80 (2000) pp. 1668.
- [20] M.R. McLellan, R.L. Kime, L.R. Lind - *Electroplasmolysis and other treatments to improve apple juice yield*. J. Sci. Food Agric.
- [21] H. Bouzrara, E. Vorobiev - *Beet juice extraction by pressing and pulsed electric fields*. Int. Sugar J., CII 1216 (2000) 194. 57 (1991) pp. 303.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] F.Hanțilă, M.Vasiliiu - *Câmpul electromagnetic variabil în timp*. Editura Electra București, 2005.
- [25] 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.

PARTENERI PROIECT



CO – UNIVERSITATEA DIN ORADEA, cu sediul în ORADEA, str. Universitatii nr. 1, tel: 0259-408113, fax: 0259-432.789, e-mail: rektorat@uoradea.ro.
Responsabil de proiect: **Prof.dr.ing. Gheorghe Emil BANDICI**



P2 - 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, Web site: <http://www.magnat.pub.ro>,

Responsabil de proiect partener: **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, web site <http://www.icpe.ro>,
Responsabil de proiect partener : **ing. Valer TURCIN**

Diseminare lucrari

în etapa I 2014

“Metode electromagnetice pentru îmbunătățirea procedeelelor vinicole”

Nr. proiect PN-II-PT-PCCA-2013-4-2225/ 170 din 01/07/2014

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 28th of November 2014. Lucrarea urmează să fie publicată pe site-ul: <http://www.innovativa.ro>

Director proiect,

Prof.dr.ing. Gheorghe Emil Bandici

A handwritten signature in blue ink that reads 'G Bandici'.