

CZU: 663.22(478)

INFLUENȚA UTILIZĂRII PREPARATELOR ENZIMATICE ASUPRA COMPOZIȚIEI AROMATICE A VINURILOR DIN SOIURI AUTOHTONE

INFLUENCE OF ENZYMATIC TREATMENT ON THE AROMATIC COMPOSITION OF WINES FROM LOCAL GRAPE VARIETIES

¹MUSTEAȚĂ GR., ¹FURTUNA N., ²MARKOVSKIY M.

¹Universitatea Tehnică a Moldovei,

²Institutului Zonal de Cercetare Științifică a Viticulturii și Horticulturii din Caucazul de Nord al Academiei Agrare a Federației Ruse

Abstract: Cercetarea noilor axe de diversificare ale produselor din struguri de selecție autohtonă reprezintă o sarcină actuală pentru sectorul vitivinicol din Republica Moldova în vederea obținerii unui nou sortiment de vinuri specific și tipic țării noastre. Scopul cercetărilor a fost studierea utilizării enzimelor cu activitate pectolitică asupra eliberării substanțelor de aromă din struguri. În urma determinărilor fizico-chimice, senzoriale și gaz-cromatografice ale vinurilor rezultate din soiurile de struguri de selecție autohtonă Startovii, Viorica și Muscat de Ialoveni a fost determinată influența utilizării preparatelor enzimactice pectolitice asupra compoziției aromatice a vinurilor corespunzătoare. Prin asocierea macerării cu tratamentul enzimatic s-au obținut vinuri cu complexul aromatic mai bogat,

valorile compușilor terpenici crescînd cu 8 – 40 %, în dependență de soi. Studiul a demonstrat că utilizarea de preparate enzimatiche conduce la creșteri importante a terpenelor în vin, ele sînt mai bogate în esteri, au valori foarte mici ale conținutului de acetaldehidă și substanțe fenolice.

Cuvinte cheie: vin, enzime, aromă, soi autohton.

INTRODUCERE

Perfecționarea sortimentului de culturi autohtone în vederea racordării acestora la cerințele consumatorului constituie unul din obiectivele specifice ale strategiei naționale de dezvoltare, cercetare și inovare lansată de către Guvernul Republicii Moldova în anul 2002 și rezultă din prioritățile strategice de dezvoltare ale ramurii agro-alimentare (Gaina, B. 2011).

În acest context, cercetarea noilor axe de valorificare și de diversificare ale produselor din struguri de selecție autohtonă reprezintă o sarcină actuală pentru sectorul vitivinicol din Republica Moldova în vederea obținerii unui nou sortiment de vinuri cu caracteristici senzoriale sporite specifice și tipice țării noastre (Olari, T. et al. 2005; Gaina, B. 2011).

Aroma varietală provine din struguri și se formează în urma proceselor metabolice ale viței de vie, ca produși secundari. Ea constituie un potențial aromatic care este în mare parte responsabil de tipicitatea vinurilor. Conform unor autori (Bayonove, C. et al. 1998; Cacho, J. & Ferreira, V. 2010), potențialul aromatic se găsește în mare parte în pielițe, deși în soiurile aromate se pot găsi și în pulpă. Totuși, principala sursă de precursori ai aromei varietale sînt pielițele boabelor, îmbogățind musturile cu compuși terpenici, esteri, aldehide și alcooli (Ribereau-Gayon, P. et al. 2006).

În struguri se întîlnesc 4 enzime care participă la hidroliza precursorilor glicozidici: β -D-glucopiranozidaza, β -D-xilopiranozidaza sau apiozidaza, α -L-arabinofuranozidaza și α -L-ramnopironozidaza. Aceste enzime sînt în cantități mici, iar stabilitatea lor este mică datorită pH-ului acid al mustului și sînt repede inactivate. Hidroliza enzimatică a precursorilor de aromă se petrece în două etape (Maicas, S. & Mateo, J.J. 2005):

- în prima etapă se eliberează monoglucozidele terpenice, prin ruperea legăturii glicozidice de către enzime (o arabinozidază, ramnozidază sau apiozidaza);
- în a doua etapă se eliberează componenta aromatică (terpenolul), prin ruperea legăturii glucoză-aglicon de către enzima P-D-glucopiranozidază.

Avînd în vedere stabilitatea slabă a glicozidazelor endogene datorată pH-ului redus și concentrației progresive a etanolului, se recomandă utilizarea enzimelor exogene. Astfel, ineficacitatea sistemelor enzimatiche ale strugurilor și levurilor poate fi suplinită prin folosirea preparatelor bogate în glicozidaze sau prin hidroliză acidă lentă în timpul maturării vinului (Maicas, S. & Mateo, J.J. 2005; Gomez-Plaza, E. et al. 2010).

MATERIAL ȘI METODĂ

Scopul cercetărilor a fost de a studia principalele efecte ale utilizării enzimelor cu activitate enzimatică pectolitică asupra eliberării substanțelor de aromă din struguri.

Experimentările s-au efectuat pe soiurile Startovîi, Viorica și Muscat de Ialoveni obținute la Institutul de Cercetări Științifice în Viticultură și Vinificație al Asociației Științifice de Producție „Vierul”, utilizînd la macerare enzime pectolitice din categoria pectinazelor ZYMOVARIETAL Aroma G (SODINAL, Franța) și levuri selecționate din specia *Saccharomyces cerevisiae* – sușa Rară Neagră-2 din CNMIO a Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare din Chișinău.

Inițial vinurile materie primă obținute au fost analizate organoleptic și fizico-chimic. Ulterior, a fost efectuată analiza cromatografică cuplată cu spectrometria de masă (GC-MS) în cadrul laboratorului „Tehnologia Vinului” al Institutului Zonal de Cercetare Științifică a Viticulturii și Horticulturii din Caucazul de Nord al Academiei Agrare a Federației Ruse.

Analiza a fost precedată de extracția fracției compușilor volatili din vinurile studiate.

Pentru extracția în fază solidă (SPE) s-au utilizat cartușe de tip ISOLUTE® C18/ENV+ (Biotage, Elveția), care conțin doi sorbenți: un copolimer hidroxilat de polistiren-divinilbenzen și suplimentar un strat adsorbant cu fază inversă.

Eluatul concentrat a fost injectat în cromatograful gazos cuplat la spectrometru de masă Clarus 600T (Perkin Elmer, SUA) echipat cu o coloană capilară de tip Elite-WAX ETR (50 m lungime, diametrul interior de 0,32 mm și 1 μm grosime, faza staționară - polietilen glicol) (Perkin Elmer, SUA). Temperatura inițială a ciclului de programare a fost 75°C, având o rampă de mărire a temperaturii de 4°C/min până la temperatura finală de 225°C. Spectrometrul de masă a funcționat în modul EI (impact de electroni), 70 eV. Iar analiza cantitativă a avut loc în modul SCAN: domeniul 20-300 u.a.m. În total analiza a durat 60 minute (Furtuna, N. 2015).

Identificarea picurilor cromatografice a fost efectuată conform bibliotecii generale a spectrelor de masă NIST.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Vinurile materie primă obținute au fost analizate organoleptic și fizico-chimic, valorile fiind indicate în tabelul 1, din care se poate constata că utilizarea enzimelor pectolitice nu influențează semnificativ variația parametrilor pentru fiecare soi în parte.

Tabelul 1. Indicii fizico-chimici ai vinurilor obținute (proba martor și cu adaos de enzime)

Nr. d/o	Denumirea indicilor fizico-chimici	Startovii		Viorica		Muscat de Ialoveni	
		martor	enzime	martor	enzime	martor	enzime
1	Concentrația alcoolică, % vol.	13,5 ± 0,1	13,4 ± 0,1	12,8 ± 0,1	12,8 ± 0,1	12,7 ± 0,1	12,8 ± 0,1
2	Concentrația în masă a acizilor titrabili, g/dm ³	6,7±0,10	6,5±0,09	6,1±0,11	5,9±0,10	6,9±0,10	6,7±0,08
3	Concentrația în masă a acizilor volatili, g/dm ³	0,33±0,03	0,33±0,03	0,33±0,04	0,33±0,04	0,40±0,03	0,40±0,03
4	pH	3,28±0,01	3,34±0,01	3,23±0,01	3,29±0,01	3,17±0,01	3,28±0,01
5	Potențialul E _H , mV	198 ± 10	195 ± 10	220 ± 12	218 ± 10	215 ± 10	209 ± 10

Vinurile obținute din variantele de must au fost analizate și senzorial, criteriile de apreciere fiind: intensitatea olfactivă, calitatea purității aromatice, fructuozitate, carcter floral, vegetal, persistența gustativă, precum și descrierea aromei în dependență de tipul acesteia. Analizând notele organoleptice obținute la degustare, se pot evidenția mostrele obținute cu adaos de preparat enzimatic la macerare, care permite ameliorarea calității organoleptice a vinurilor din soiuri de selecție autohtonă. Rezultatele obținute sînt prezentate în Figura 1.

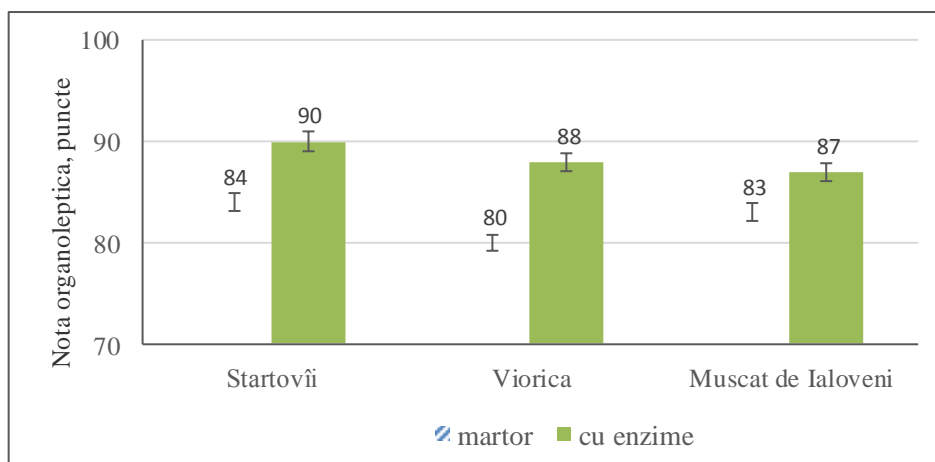


Figura 1. Variația comparativă a notelor pentru analiza organoleptică în vinurile obținute din soiurile Startovii, Viorica și Muscat de Ialoveni cu și fără adaos de enzime

Profilul aromatic al vinurilor rezultate din mustuiala mator și din mustuiala tratată cu enzime ZYMOVARIETAL Aroma G (2 g/hL), fermentate cu levuri selecționate (sușa Rară Neagră-2) în urma analizei senzoriale este reprezentat în diagrama radar din Figura 2.

S-a constatat că vinurile din soiurile Startovii și Muscat de Ialoveni se deosebesc printr-o aromă intensă de fructe (caise, piersici, ananas, banane) și florală, iar soiul Viorica preponderent prin arome florale (flori de câmp, sulfină, tei) și vegetale.

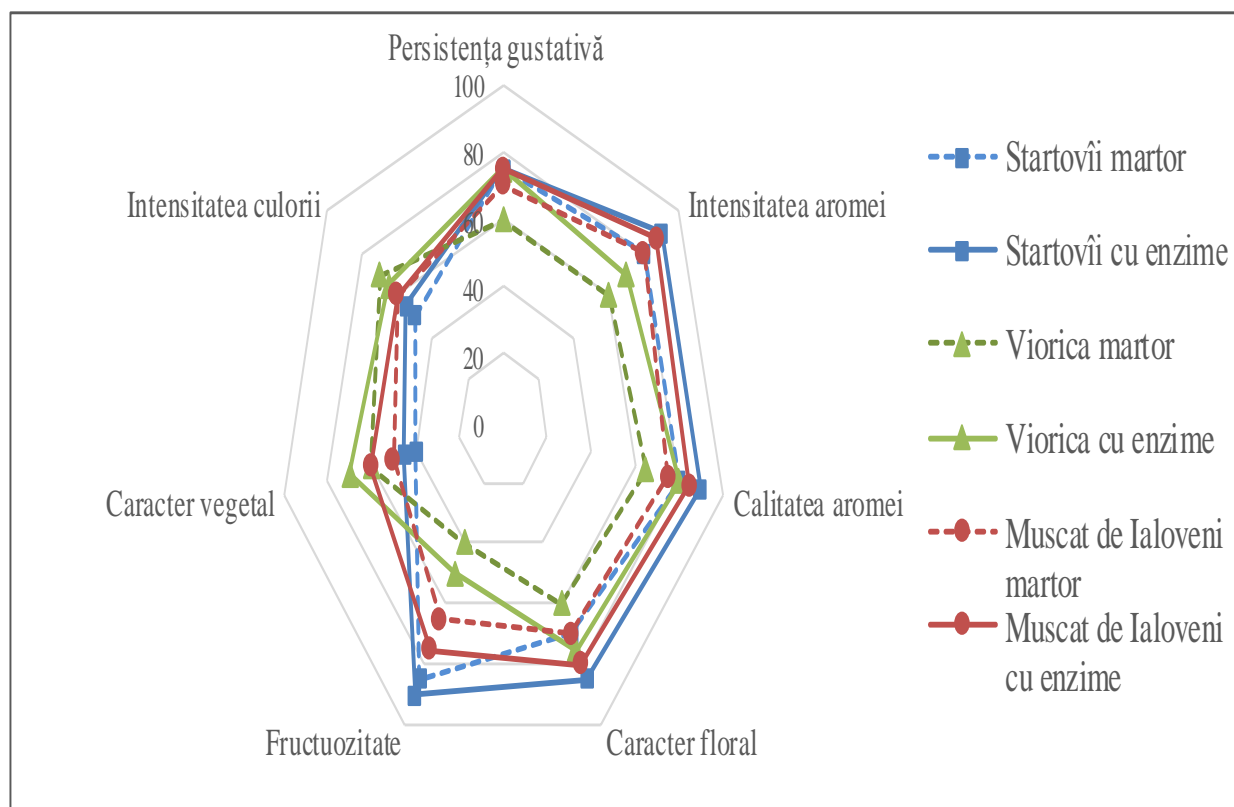


Figura 2. Profilul organoleptic al vinurilor obținute din soiurile Startovii, Viorica și Muscat de Ialoveni cu și fără adaos de enzime

Vinurile obținute din mustul tratat cu preparat enzimatic ZYMOVARIETAL Aroma G prezintă caracteristici senzoriale superioare variantelor mator. Analiza rezultatelor arată că, în cazul utilizării enzimelor la macerarea pe boștină, s-au obținut note cu 10-15 % mai mari, în special pentru aspectele legate de intensitatea și calitatea aromelor, dar și prezența aromelor florale și de fructe.

Intensitatea aromatică se accentuează prin utilizarea acestui preparat enzimatic, care conține concentrații mari atât în pectinazele ce acționează în prima etapă a mecanismului enzimatic, cât și în β -glucozidaza ce acționează în a doua etapă a mecanismului enzimatic de eliberare a constituenților aromatici. De aceea, din punct de vedere senzorial, vinurile obținute cu ajutorul enzimelor de macerare sînt mai armonioase, mai expresive, mai echilibrate și dovedesc cea mai bună intensitate și tipicitate a aromei. Vinurile obținute din mustuială macerată fără adaos de enzime, prezintă o aroma varietală mai atenuată, aroma de fermentație fiind mai evoluată și mai evidentă decît aromele varietale.

Avînd în vedere diferențele senzoriale înregistrate și în scopul determinării compușilor responsabili de aceste variații, vinurile au fost supuse analizei GC-MS. Rezultatele globale au fost înregistrate în tabelul 2. Analizînd datele din tabel, constatăm o creștere a conținutului total

de compuși volatili la utilizarea enzimelor de macerare, cea mai mare diferență fiind înregistrată pentru soiul Muscat de Ialoveni (circa 12 % mai mult).

Celelalte două soiuri au acumulat cantități mai mici de compuși volatili per total, în schimb observăm diferențe importante pentru fiecare clasă de compuși separat. Astfel, la adăugarea enzimelor pectolitice, vinul din soiul Viorica a înregistrat cantități cu peste 50 % mai mari decât în proba martor. Rezultate asemănătoare au fost observate și în cazul norizoprenoidelor (62 % mai mult), terpenelor și tiolilor (cu circa 40 % mai mult decât proba martor).

Tabelul 2. Conținutul substanțelor odorante volatile în vinurile obținute (proba martor și cu adaos de enzime), mg/dm³

Denumirea compusului volatil	Startovii			Viorica			Muscat de Ialoveni		
	martor	enzime	Δ , %	martor	enzime	Δ , %	martor	enzime	Δ , %
Alcooli superiori	215,124	244,277	+13,55	206,108	226,073	+9,69	200,304	234,057	+16,85
Esteri	67,823	78,545	+15,81	61,682	93,850	+52,15	68,863	82,620	+19,98
Acizi	296,927	314,283	+5,85	265,919	271,684	+2,17	271,518	292,128	+7,59
Terpene	2,722	2,947	+6,58	0,926	1,286	+38,92	2,398	2,665	+11,12
Norizoprenoide	0,030	0,036	+18,73	0,011	0,017	+62,05	0,015	0,021	+38,30
Tioli	0,189	0,256	+35,74	0,155	0,212	+36,25	0,388	0,502	+29,51
Aldehide	40,188	32,487	-19,16	58,897	42,736	-27,44	32,982	30,855	-6,45
Compuși fenolici volatili	0,473	0,447	-5,64	0,291	0,258	-11,29	0,305	0,284	-7,08
Lactone	0,640	0,833	+30,13	0,568	0,725	+27,82	0,804	0,819	+1,87
Total compuși volatili	635,539	664,088	+4,49	604,491	626,905	+3,71	575,564	645,963	+12,23

Notă: "+" semnifică creșterea valorii, iar "-" scăderea valorii comparativ cu proba martor

Având în vedere că soiul Viorica este un soi potențial aromat, adică majoritatea compușilor de aromă se găsesc sub formă de precursori, aceste rezultate au un rol foarte important pentru alegerea tehnologiei de vinificare.

Totodată, din tabelul 2, în cazul vinurilor cu adaos de enzime la macerare, se remarcă o scădere a conținutului de compuși fenolici volatili și aldehydelor (în special aldehida acetică), care sînt cunoscuți pentru aromele fenolice și de condimente și, respectiv, miros înțepător.

Vinul obținut din mustuală tratată cu preparatul enzimatic ZYMOVARIETAL Aroma G (2 g/hl), a prezentat un conținut mai mare în terpene, această creștere datorîndu-se eliberării lor din formele legate în timpul fermentației alcoolice, datorită activității enzimactice reziduale a strugurilor sau a activității enzimactice a levurilor de fermentație (Bartowsky, E.J. & Pretorius, I.S. 2009; Lambrechts, M. G., & Pretorius, I. S. 2000). Pe de altă parte creșterea concentrației în citronelol se datorează metabolismului drojdiilor capabile să-l sintetizeze din nerol și geraniol (Cordente, A.G. et al. 2012).

Ciclizarea nerolului, geraniolului și a linalolului în mediu acid duce la obținerea de α -terpineol, iar ciclizarea în mediu acid cu eliminarea unei molecule de apă a 2,6-dimetil-3,7-octadien-2,6-diol conduce la obținerea de hotrienol.

În Figura 3 este reprezentată grafic concentrația comparativă a celor mai importante terpene din punct de vedere cantitativ și, respectiv olfactiv.

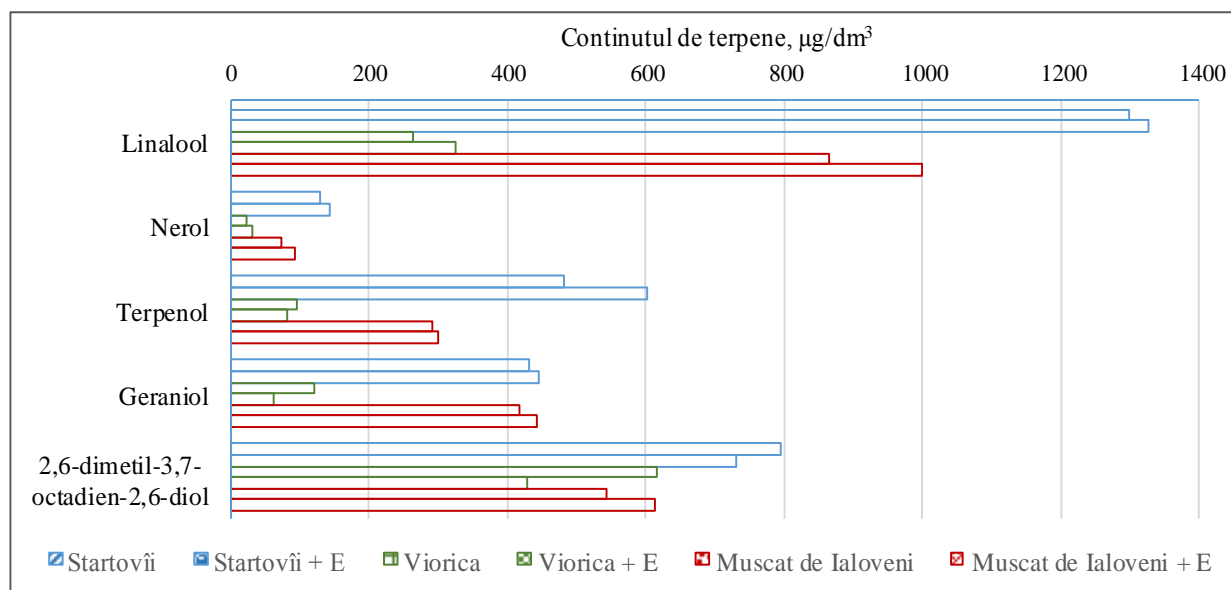


Figura 3. *Influența enzimelor asupra concentrației terpenelor (proba martor și cu adaos de enzime)*

Din determinările efectuate reiese că mustuielile netratate cu enzime au o concentrație cu circa 7–40 % mai scăzută de terpenă comparativ cu mustuielile macerate cu enzime pectolitice. Conținutul de α -terpineol crește în medie cu 20-25% în vinul cu adaos de enzime comparativ cu martorul. Linaloolul crește în vinul din soiul Viorica cu 20% față de proba martor. Vinurile din soiul Muscat de Ialoveni înregistrează o creștere de 14 %, fiind urmat de vinurile din soiul Startovii cu cea mai mică creștere a valorii (5 %).

CONCLUZII

În urma determinărilor fizico-chimice, senzoriale și gaz-cromatografice ale vinurilor rezultate din soiurile de struguri de selecție autohtonă Startovii, Viorica și Muscat de Ialoveni a fost determinată influența utilizării preparatelor enzimatice asupra compoziției aromatice a vinurilor corespunzătoare.

Prin asocierea macerării cu tratamentul enzimatic s-au obținut vinuri cu complexul aromatic mai bogat, ceea ce duce la optimizarea procesului de majorare a conținutului aromelor primare, avînd drept consecință vinuri cu caracteristici senzoriale superioare, valorile compușilor terpenici crescînd cu 8 – 40 %, în dependență de soi.

Totodată, studiul a demonstrat că utilizarea de preparate enzimatice conduce la creșteri importante a terpenelor în vin, ele sînt mai bogate în esteri, au valori foarte mici ale conținutului de acetaldehidă și substanțe fenolice.

Astfel, putem concluziona că utilizarea enzimelor la macerarea peliculară a condus la o eficiență sporită datorită creșterii conținutului în compuși răspunzători de profilul și tipicitatea aromatică a vinurilor obținute din struguri soiurilor Startovii, Viorica și Muscat de Ialoveni, ceea ce se concretizează printr-o creștere valorică reală a calității vinurilor.

BIBLIOGRAFIE

1. BARTOWSKY, E.J., PRETORIUS, I.S. *Microbial formation and modification of flavour and off-flavour compounds in wine*, In: *Biology of Microorganismes on Grapes, in Must and in Wine*, Berlin: Springer-Verlag, 2009, p 209-231.

2. BAYONOVE, C., BAUMES, R., CROUZET, J., GUNATA, Z., *Arômes*. In : Œnologie-fondements scientifiques et technologiques. Paris: Tec & Doc Lavoisier, 1998, p. 163-235.
3. CACHO, J.F., FERREIRA, V. *The Aroma of Wine*. In: Handbook of Fruit and Vegetable Flavors, New York: John Wiley & Sons Inc., 2010, p. 303-312.
4. CORDENTE, A.G., CURTIN, C.D., VARELA, C., Pretorius I.S. Flavour-active wine yeasts, In: Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 96 (3), p. 601–618.
5. FURTUNA, N. *Valorificarea potențialului aromatic al soiurilor de struguri Startovii, Viorica și Muscat de Ialoveni*. Teză de doctor în tehnică. Chișinău, 2015. 170 p.
6. GAINA, B. Sarcini prioritare în cercetare/dezvoltare din complexul vitivinicol al Moldovei, In: Conferința științifico–practică cu participare internațională ”Vinul în mileniul III–probleme actuale în vinificație”: tezele conferinței, Chișinău, 2011, p. 25 - 28.
7. GOMEZ-PLAZA, E., ROMERO-CASCALES, I., BAUTISTA-ORTÍN, A.B. *Use of Enzymes for Wine Production*. In: Enzymes in Fruit and Vegetable Processing Chemistry and Engineering Applications, London: CRC Press, 2010. 405 p.
8. LAMBRECHTS, M. G., PRETORIUS, I. S. Yeast and its importance to wine aroma. In: South African Journal of Enology and Viticulture, 2000, 21, p. 97–129.
9. MAICAS, S., MATEO, J.J. Hydrolysis of terpenyl glycosides in grape juice and other fruit juices: A review. In: Applied Microbiology and Biotechnology, 2005, 67, p. 322-335.
10. OLARI, T., COGÎLNICEANU, I. Soiuri noi de viță de vie omologate în Republica Moldova. In: Culegere de Lucrări Științifice către jubileul de 95 de ani al INVV, Chișinău, 2005, p.24-26.
11. RIBEREAU-GAYON, P. et al. *Handbook of Enology, Volume 2: The Chemistry of Wine and Stabilization and Treatments*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2006. 442 p.