



Universitatea Tehnică a Moldovei

STUDIUL STABILITĂȚII BIOLOGICE A VINURILOR UTM ȘI ARTIZANALE

Masterand:

Gr. CSPA-161 Doga(Tanasieva) Cristina

Conducator:

Dr.,conf.univ. Rubțov Silvia

Chisinău-2018

REZUMAT

Cercetările aferente tezei au fost desfășurate cu scopul de a studia stabilitatea vinului materie primă din diferite tipuri de soiuri de poamă: Cabernet Sauvignon, Saperavi, Chardonnay Sauvignon, Feteasca Neagră, Merlot. Pentru studiul biologic sau luat 6 probe de vin: patru de la UTM și două artisanale. Vinurile examinate au servit drept model pentru studierea stabilității biologice, acestea au fost produse din recolta anilor 2016 și examinate în anul 2017.

Cercetarile microbiologice și biochimice au fost efectuate:

- pe mediu de cultură standart Sabouraud pentru identificarea levurilor pe mediu nou PIKA WeihenstephanTM FastOrangeTM Yast Agar.

În urma cercetărilor efectuate s-au depistat microorganisme în toate probele de vin fapt care a permis efectuarea altor cercetări biochimice precum izolarea ADN-ului microorganismelor și determinarea cantitativă a ADN -ului prin metoda spectrofotometrică.

În urma cercetărilor efectuate am depistat microorganisme în toate probele de vin, deasemenea, cu succes s-a depistat și ADN -ul microorganismelor.

Metodele de izolare și identificare cantitativa a ADN -ului microorganismului sunt recent implementate la UTM.

RESUME

The research of the thesis was carried out in order to study the stability of the raw material of wine from different types of grapes: Cabernet Sauvignon, Saperavi, Chardonnay Sauvignon, Feteasca Neagra, Merlot. For the biological study were taken 6 samples of wine: four from TUM and two homemade. The wines examined served as a model for the study of biological stability, they were produced from the 2016 harvest and examined in 2017.

Microbiological and biochemical research was carried out:

- on Sabouraud standard culture medium for yeast identification;
- on new agar culture medium of PIKA WeihenstephanTM FastOrangeTM Yast.

As a result of the researches, were found out microorganisms in all wine samples, which allowed other biochemical researches such as DNA microorganism isolation and quantitative determination of DNA by spectrophotometric method.

As a result of the researches, we have detected microorganisms in all wine samples, and the DNA of microorganisms has also been successfully detected.

Methods of isolation and quantitative identification of DNA of the microorganism are recently implemented at TUM.

CUPRINS

INTRODUCERE

I. STUDIUL BIBLIOGRAFIC	10
1.1. Struguri materie primă pentru vinificație	10
1.2. Caracteristica generală a microorganismelor	13
1.2.1. Microorganismele în vinificație	17
1.3. Stabilitatea vinului	20
1.3.1. Stabilitatea microbiologică a vinului	22
1.3.2. Microbiota materiei prime	23
1.3.3. Microbiota mustului de struguri	24
1.3.4. Microorganismele care provoacă instabilitatea vinului	29
1.3.4.1. Instabilitatea produsă de drojzii	29
1.3.4.2. Instabilitatea produsă de bacterii	30
1.3.4.3. Instabilitatea produsă de mucegaiuri	33
1.3.5. Influența factorilor de mediu asupra metabolismului drojdiilor	34
1.3.5.1. Factorii intrinseci	34
1.3.5.2. Factorii extrinseci	35
1.3.5.3. Factorii implicați (biologici)	36
1.3.6. Multiplicarea și dezvoltarea drojdiilor	38
1.4. Procesele metabolice ale drojdiilor în vinificație.	39
1.5. Tehnologii generale de obținere a vinurilor	41
1.5.1. Tehnologia de obținere a vinurilor albe	41
1.5.2. Tehnologia de obținere a vinurilor roșii	47
1.6. Importanța alimentară a produselor viticole	52
Concluzii la capitolul I	53
II. MATERIALE ȘI METODE	54
2.1. Caracteristica materiei prime utilizate	56

2.2.	Metode de cercetare	57
2.2.1.	Analiza senzorială a vinurilor	58
2.2.2.	Izolarea și identificarea levurilor și pe mediu de cultură Sabouraud	58
2.2.3.	Determinarea levurilor și bacteriilor mediu nutritive PIKA Weiherstephan™ FastOrange™ Yeast Agar.	59
2.2.4.	Izolarea ADN-ului microorganismelor din probele de vin.	61
2.2.5.	Determinarea cantitativă a ADN-ului prin metoda spectrofotometrică	63
III.	REZULTATELE CERCETĂRII	65
3.1.	Analiza organoleptică a vinului	65
3.2.	Analiza metodei de izolare și identificare a levurilor pe mediu de cultură Sabouraud.	67
3.2.1.	Evaluarea microbiologică	67
3.2.2.	Evaluarea microscopică	68
3.3.	Evaluarea prezenței levurilor	71
3.4.	Izolarea ADN-ului și analiza spectrofotometrică	73
	CONCLUZII	74
	BIBLIOGRAFIE	75
	ANEXE	

INTRODUCERE

„, Strugurii sunt poama vieții, iar vinul cu certitudine,
este socotit ca cea mai nobilă bautură.,, (Louis Pasteur)

Alimentele și alimentația reprezintă o problemă deosebit de importantă în orice societate, cu consecințe economico-sociale și efecte asupra mediului și sănătății umane. Piața globală de mărfuri și produse este complexă și în permanență mișcare dar și foarte deschisă celor ce reacționează prompt la cerințele și la preferințele consumatorului în raport cu calitatea și tipul produsului comercializat. O soluție de a rămâne în competiție fără a pierde uniformitatea produselor constă în plasarea unui produs calitativ, cu proprietăți curative majore, iar raportul preț/calitate la o valoare constantă.

Numeroase materii prime și produse alimentare se alterează sau își pierd stabilitatea biologică ușor, diminuând considerabil durata lor de păstrare. Prelungirea acestei durate este necesară pentru eliminarea caracterului sezonier al consumului, creșterea disponibilității către consumatori și reducerea pierderilor de produse alimentare. În acest sens, se recurge la utilizarea unor procedee de stabilizare relativă a proprietăților alimentelor – diverse metode de conservare.

Unul din produsele alimentare utilizate frecvent în alimentația umană este vinul [3], care reprezintă un sistem dispers complex cu o stabilitate fizico-chimică limitată în timp.

Compozițional vinul este constituit din peste 1500 compuși chimici, care provin din material primă, procesul de fermentare, maturare și stabilizare complexă [4]. O serie dintre substanțele identificate în vin se găsesc în stare coloidală, iar caracteristicile senzoriale, compoziția chimică, limpiditatea și calitatea sunt parametri ce depind de conținutul coloizilor, forma și nivelul de stabilitate a acestora. Procesele de stabilizare și limpezire a vinurilor sunt dificil de realizat, fiind necesară accelerarea proceselor biologice și chimice (hidroliza, polimerizarea, oxidarea, precipitarea, etc.) ce au loc, în termen de câteva luni de la producerea lor. Sistemul coloidal al acestora se opune limpezirii, stabilizării și prezintă un aspect lăptos prin prezența compușilor constituenți sau formați în decursul fermentării alcoolice (pectine, glucani, proteine, polizaharide, polifenoli, săruri organice și minerale,

etc.). Reducerea excesivă a conținutului acestor componente din vinuri generează diminuarea acțiunii lor fiziologice, curative și caracterului aromat

Obținerea vinului este un proces de lungă durată, care necesită o îngrijire deosebită, începând de la recoltarea strugurilor și până la învechirea, condiționarea și îmbutelierea produsului. Materia primă destinată obținerii vinului o constituie strugurii.

Un vin stabil este acel vin îmbuteliat în sticlă ale cărui caracteristici organoleptice evoluează în mod pozitiv de-a lungul timpului, vinul nesuferind deprecieri de gust, miros sau să aibă depuneri, de orice natură. Ca să puteți păstra un vin mai mult timp, este de preferat să țineți butelia culcată la 90 de grade, astfel încât dopul să fie în permanență umed. Feriți butelia de razele solare și păstrați-o într-un dulap, de preferabil într-o cameră cu temperatura constantă. Deasemenea stabilitatea unui vin pe durata lungă de timp este foarte mult influențată de tratamentele de stabilizare și de calitatea realizării lor. Stabilitatea constă în capacitatea vinului de a nu realiza depuneri după ce a fost îmbuteliat. Analizând toate tipurile de tehnologii de vinificație care s-au utilizat și se utilizează, precipitățile pot fi de natură proteică, tartrică, ferică, casare neagră sau albă.

Valoarea biologică a strugurilor și vinului a făcut ca vița de vie să fie cultivată pe o suprafață mare, precum și datorită așezării geografice și reliefului variat al țării noastre cea sigură condiții naturale dintre cele mai favorabile culturii viței de vie și obținerii vinurilor de calitate. Vinul conține o serie de substanțe ușor asimilabile (glucide, alcool, acizi organici), în cantitate mică compuși biologici activi (vitamine, enzime) indispensabile alimentației organismului uman..

Unul dintre cei mai importanți indicatori de calitate ai vinurilor cu implicații directe în imprimarea proprietăților fizico-chimice, valorii igienico-alimentare dar mai ales în asigurarea tipicității și autenticității, este gustul (aroma) – prima însușire cu care consumatorul avizat intră în contact. Ea constituie un criteriu de selecție imediată a vinurilor și depinde de o serie de factori, astfel: - soiul de struguri vinificați;

- gradul de maturare al strugurilor;
- condițiile de cultură a viței de vie;
- tehnologia de vinificație adoptată și condițiile de păstrare a vinului.

Vinurile moldovenești sunt apreciate atât de consumatorii interni cât și de cei externi obținând de-a lungul anilor numeroase premii și medalii la concursurile mondiale.

Scopul și obiectivele tezei:

Scopul abordat constă în studierea stabilității biologice a vinurilor produse de Universitatea Tehnică a Moldovei din soiurile de viță de vie Chardonay, Sauvignon Blanc, Cabernet Sauvignon, Saperavi precum și a vinurilor artizanale Bacioi.

Obiectivele lucrării sunt:

- Studiul bibliografic a tehnologiilor generale de producere a vinurilor materie primă albe și roșii,
- Studiul stabilității microbiologice a vinurilor precum și gradul de degradarea produsă de diferite tipuri de microorganisme din materia primă, must;
- Aprecierea stabilității vinului prin diferite metode.
 - pe mediu de cultură standart Sabouraud pentru identificarea levurilor;
 - pe mediu nou PIKA Weihenstephan™ FastOrange™ Yast Agar.
- Izolarea ADN-ului microorganismelor din probele de vin și determinarea catitativă a AND-ului prin metoda spectrofotometrică;

BIBLIOGRAFIE

1. ANTOCE O. Oenologie. Chimie și analiză senzorială. Ed. universitară, Craiova, 2007, 8 p
2. ARHIP V., SCLIFOS A., SCUTARU A. Analiza structurii fizico-chimice a strugurilor la soiurile pentru strugurii de vin omologați în Republica Moldova. Chișinău: UTM, 2012, - 40 p.
3. BALANUȚĂ A., RUSU E., DRAGAN V. Vinificația secundară. Chișinău: Tip. AȘM, 2016, 360
4. BALANUȚĂ A., CRUDU S., SANDU IU., NAZARIA A. Ghid metodic pentru lucrările de laborator „Biotehnologii alimentare”. Chișinău: UTM, 2016, - 36 p.
5. BAHRIM G., NICOLAU A., Memorator drojdii Galați 1995, 65 p.
6. BOGDAN, A., ȚOGOE, I., CÎMPEA, G., IVAN, S., ENACHE, T ., POPESCU, A. Microbiologia alimentelor. Vol.I. Editura Asclepius, București, 2011.-294 p.
7. CLEMANSĂ T. Microbiologie alimentară. București: Agir, 2004. - 296 p.
8. COTEAV. D., ZĂNOAGĂ C., COTEA V. V. Tratat de Oenochimie. Volumul I și II București: Editura Academiei Române, 2009. - 684 p.
9. COTEA V. D. Tehnologii de producere a vinurilor. București: Editura Academiei Române, 2006. - 465 p.
10. COSTACHE M. Biologie moleculară. București: Editura AGIR, 2009.78 p.
11. DUMANOV V. Compoziția chimică a vinurilor albe obținute din soiurile noi de selecție autohtonă Viorica și Legenda.”Pomicultura, Viticultura și Vinificația”, 2012, nr.6, p.16-17.

12. DUMANOV V., RUSU E., OBADA L. Însușirile biologice ale vinurilor albe din soiuri noi de selecție moldovenească și conținutul lor în cationi. *Viticultura și Vinificația în Moldova*, 2012, nr.4,p.16-17; nr.5, p. 8.
13. GAINA B. *Biotehnologii ecologice viti-vinicole*. Chișinău: AȘM, 2007. - 264 p.
14. GAINA B. Sarcini prioritare în cercetare/dezvoltare din complexul viti-vinicol al Moldovei, Conferința științifico – practică cu participare internațională, ”Vinul în mileniul III – problem actuale în vinificație”, Chișinău 2011, p. 25 - 28.
15. GAINA B., BEJAN V., PRIDA A., PUECH J.L. *Uvologie și oenologie*. Ch., Tip. AȘM, 2006. - 443 p.
16. GAINA B., LAFON-LAFOURCADE S., DUBOS. B. Bazele biotehnologice de obținere a mustului și vinului ecologic. *Biotehnologii ecologice viti-vinicole*. – Chișinău, 2007, p. 19-86.
17. GAINA B. *Biotehnologii recente vitivinicole*. Akademos, nr. 4 (31), 2013, p. 88-89.
18. GHEORGHITĂ M. ș.a. Studiu privind potențialul antocianic al strugurilor și vinurilor din podgoriile Severinului – Mehedinți, Univ. din Craiova, 2006. p. 555 – 558.
19. MUSTEAȚĂ G., ZGARDAN D. *Biochimie*. Chișinău: UTM, 2015. – 361 p.
20. MUSTEAȚĂ G., GHERCIU L., TARAN N., ANTOHI M., SOLDATENCO E., ADAJUC V. Studiul influenței sușelor de levuri asupra caracteristicilor fizico-chimici și indicii specifici a vinurilor roze. În: *Realizări inovative în domeniul viti-vinicol*. Ed. Specială a Conf. Intern. Consacrate m.c. AȘM Petru Ungureanu, 2008, p. 181-185.
24. OLARI T., COGILNICEANU I. Soiuri noi de viță de vie omologate în Republica Moldova. Culegere de Lucrări Științifice către jubileul de 95 de ani al INVV, Chișinău, 2005, p.24
25. OLARI T., COGILNICEANU I. Soiuri noi de viță de vie omologate în Republica Moldova. Culegere de Lucrări Științifice către jubileul de 95 de ani al INVV, Chișinău, 2005, p.24
26. RUSU E. *Oenologia moldavă. Realitatea și perspectivele*. Ch.: Tipografia AȘM, 2006.- 268 p.
27. RUSU E., OBADĂ L. Optimizarea tehnologiei de producere a vinurilor albe de calitate. *Mater. Conferinței Internaționale Științifico-Practice. ”In Wine-2006”*, Chișinău, 2006, p.54-55.
28. RUSU E. *Vinificația primară*. Chișinău, Ed. ”Continental Grup” SRL, 2011. - 496 p.
29. SCORBANOV E., TARAN N., COMANICI V., BOGDEVICI O. Determinarea naturaleții vinurilor de struguri din soiuri aromate. *Viticultura și Vinificația în Moldova*, nr.3, 2008, p. 23-24.
30. SCUTARU A. Studiul procesului de fermentație alcoolică cu utilizarea levurilor imobilizate. În: *Meridian Ingineresc* Nr.1/2014, p. 107. ISSN 1683-853X.

31. SÎRGI C., VRÎNCEAN M., STURZA R. Analiza comparativă a profilului aromei vinului Muscat obținut prin tehnologia clasică și criomacerare. Revista Viticultura și Vinificația în Moldova, 2011, nr. 1 p. 15-17, nr. 2, p. 16-17.
32. STURZA R. Principii moderne de analiză a alimentelor. Chișinău: UTM, 2006. - 310 p.
33. TARAN N., STOLEICOVA S., ADAJUC V., SOLDATENCO O., MORARI B., TARAN M., Influența duratei procesului de dealcoolizare asupra indicilor fizico-chimici a vinurilor albe seci. In: Materialele Simpozionului Științific Internațional „Agricultura Modernă – Realizări și Perspective”, Chișinău (Republica Moldova), UASM, vol. 36 (1), 2013, p. 436.
34. TARAN N., STOLEICOVA S., SOLDATENCO E. Procedeu de obținere a vinurilor naturale. Hotărîre pozitivă, AGEPI, Nr: 8266 din 17.11.2015.
35. TARAN N. șPremize reale de substituie a importului de levuri pentru industria vinicola nationala. Viticultura si Vinificatia în Moldova. 2007, Nr. 4(10), 19 p.
36. TARAN N., Antohi M., Soldatenco E., Adajuc V. Levuri active autohtone de colectie. Perspective de implementare si producere. Realizari inovative în domeniul viti-vinicol: Ed. Speciala a conf. intern. consacrate m.c. ASM Petru Ungureanu, 2008, 178 p.
37. TARAN N., Soldatenco E., Rusu E. Reguli generale privind fabricarea productiei vinicole Tipografia Universitatii Agrare de Stat, Chisinau, 2010. – 440 p.
38. TARAN N., SOLDATENCO E., ANTOHI M. Perfectionarea regimurilor tehnologice la fabricarea levurilor active uscate autohtone. Buletin informativ, nr.47, INEI , Chisinau, 2002.
39. TARAN N., ANTOHI M. Rolul și importanța aminelor biogene în securitatea alimentară a vinurilor. Pomicultura, Viticultura și Vinificația. Chișinău, 2013, 4 (46) p. 18-19. ISSN 3142
40. TARAN N., SOLDATENCO E., ADAJUC V., ANTOHI M. Studiul influenței unor sușe de levuri destinate producerii vinurilor spumante. Viticultura și vinificația în Moldova 2009, nr. 4-5, p. 24-25.
41. TARAN N., SOLDATENCO E., ANTOHI M. Selecționarea și studierea sușelor de levuri destinate producerii vinurilor spumante naturale. Pomicultura, Viticultura și Vinificația în Moldova, nr.4, p. 16-19, 1998.
42. TARAN N., SOLDATENCO E., ANTOHI M., FEIGER L. Studiul comparativ al influenței sușelor de levuriactive uscate și a celor de colecția națională de microorganisme asupra calității vinurilor materie primă pentru spumante. Intellectus, nr. 1, 2004, p. 46.
43. ȚARDEA C. Chimia și analiza vinului. Iași: Editura „Ion Ionescu de la Brad”, - 2007. 1398 p.

44. ȚARDEA C. *Tratat de vinificație*. Iași: Editura „Ion Ionescu de la Brad”, 2010. - 766 p.
45. АГЕЕВА Н.М., ШУРЫГИН А.Я., ШУРЫГИНА Л.В. Виноградные вина и винные напитки высокой биологической ценности с применением натуральных антиоксидантов биосинтетической природы. В сб. «Разработки, формирующие современный уровень развития виноделия», Краснодар, 2011, с.125.
46. ДУМАНОВ В.И., РУСУ Е.И., МАРКОВСКИЙ М.Г., ГУГУЧКИНА Т.И., АГЕЕВА Н.М. Хромато-масс-спектрометрическое определение ароматобразующих компонентов вин с применением улучшенной твердофазной экстракции. В: Известия вузов. Пищевая технология, 2011, вып. 4, с. 112-113.
47. ДУКА, Г. Зачинатель новых научных направлений в энологии и биотехнологии: [акад.Гаина Б.]/Георге Дука // Виноградарство и виноделие в Молдове. – 2008. – Nr 3. – P. 29.
48. Постановление Правительства об утверждении Технического регламента «Организация виноградно-винодельческого рынка». № 356 от 11 июня 2015. В Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 19.06.2015, nr. 159.
49. ТКАЧЕНКО О.Б., ТРИНКАЛЬ О.В. Химия ароматов вина. В: Хімія харчових продуктів і матеріалів. Нові види сировини, 2015, вып., 1(30), с. 50.
50. УНГУРЯН П. Н. Основы виноделия Молдавии. Кишинев: Изд. «Карта молдовеняскэ», 1986, 295 стр.
51. AGASSE A. et al. Sugar transport & sugar sensing in grape. In: *Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology*, Springer, 2009, vol. 2, p. 128.
52. AGOURIDIS N. et al. Oenococcus oenicells immobilized on delignified cellulosic material for malo-lactic fermentation of wine. *Bioresour Technol* 2008: 99:9017–20.
53. AGUERA E. et al. Partial removal of ethanol during fermentation to obtain reduced-alcohol wines. *Am J Enol Vitic* 2010, 61(1), p. 60.
54. ALDACO R., DIBAN N. Environmental sustainability assessment of an Innovative process for dealcoholization of wines. In: *Proceedings of the 9th International Conference of Life Cycle assessment in the Agri-Food Sector*, San-Francisco, 8-10 October, 2014, p. 30.
55. BALANUȚĂ A., SCUTARU A., COPĂCEANU S. Combined alcoholic fermentation of grape must. In: *Modern Technologies in the Food Industry*, 2012, p.238.
56. BALANUȚĂ A., SCUTARU A. Production of natural low alcohol white Chardonnay by using immobilized yeast. In: *Modern Technologies in the Food Industry*, 2014, p. 148-153.

57. BALANUȚĂ A., CRUDU S., NAZARIA A., ZGARDAN D. Elaboration of technology for producing white wines with low alcohol degree by combined fermentation. In: Modern Technologies in the Food Industry, 2016, p. 122..

58. PIKA Weihenstephan™ FastOrange™ B Broth. для определения бактерий
<http://studydoc.ru/doc/2294697/pika-weihenstephan-tm-fastorange-tm-b-broth>

59. Identificarea levurei *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* pe mediu PIKA Weihenstephan™ Kit SO H *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* Kit
<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0009369.pdf>

60. HOTĂRÎREA GUVERNULUI Nr. 810 din 29.10.2015 pentru aprobarea Regulamentului privind modul de evaluare a caracteristicilor organoleptice ale produselor vitivinicole prin analiză senzorială.

61. HOTĂRÎREA GUVERNULUI nr. 356 din 11.05.2009 privind Reglementarea tehnică „Sistemul de organizare a pieței vitivinicole și transabilitatea produselor.

62. LEGE Nr. 57 din 10.03.2006 viei și vinului.

63. SM 71: 1994 Vinuri de struguri și produse vinicole . Terminologie.

64. SM 84: 1995 Struguri proaspeți recoltați manual destinați prelucrării industriale. Condiții tehnice.

65. SM 118 2007 Vinuri de struguri. Marcare

66. RG MD 67-40582515-04:2010 Reguli generale privind prelucrarea strugurilor pentru vinuri materie primă

67. RG MD 67-40582515-04:2010 Reguli generale privind fabricarea vinurilor de struguri naturali.