



**UNIVERSITATEA BABEŞ-BOLYAI  
CLUJ-NAPOCA**  
**Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică**



**CORNELIA-VERONICA AVRAM**

**INVESTIGAREA COMPOZIȚIEI ȘI CARACTERIZAREA  
UNOR SORTIMENTE DE VINURI ROMÂNEȘTI PRIN  
METODE CROMATOGRAFICE ȘI SPECTRALE**

**Rezumatul tezei de doctorat**

**Conducător științific,  
Prof. Dr. Constantin MĂRUȚOIU**

**Cluj-Napoca, 2013**

**Cuvinte cheie:** vin, compuși volatili, raportul izotopic de oxigen, conținut în metale, GC/MS, IRMS, ICP-MS

<b>Introducere</b>	<b>iii</b>
<b>1 Determinarea unor compuși volatili din vinuri prin cromatografia de gaze cuplată cu spectrometrie de masă</b>	<b>1</b>
1.1 Pregătirea probelor . . . . .	1
1.2 Analiza GC-MS . . . . .	2
1.3 Rezultate . . . . .	4
1.3.1 Studiul influenței geo-climatice asupra fracției volatile din vinuri . .	5
1.3.1.1 Alcoolii superiori . . . . .	5
1.3.1.2 Esteri etilici . . . . .	6
1.3.1.3 Acizi grași . . . . .	6
1.3.1.4 Compușii fenolici volatili . . . . .	9
1.3.1.5 Aldehyde . . . . .	10
1.3.1.6 Cetone . . . . .	10
1.3.1.7 Lactone . . . . .	12
1.3.1.8 Terpene . . . . .	13
1.3.2 Studiul influenței soiului de struguri asupra fracției volatile din vinuri	13
1.4 Concluzii . . . . .	14
<b>2 Determinarea prin spectrometrie de masă pentru rapoarte izotopice a compoziției izotopice a vinurilor</b>	<b>17</b>
2.1 Determinarea raportului izotopic de oxigen $^{18}O/^{16}O$ din probe de vinuri albe	17
2.1.1 Prepararea probelor pentru analiza izotopică a $^{18}O$ . . . . .	17
2.1.2 Măsurarea raportului izotopic $^{18}O/^{16}O$ . . . . .	18

---

2.2	Determinarea raportului izotopic de oxigen $^{18}O/^{16}O$ din probe de vinuri roșii	19
2.3	Concluzii . . . . .	26
<b>3</b>	<b>Analiza vinurilor prin spectrometrie de masă cu plasmă cuplată inductiv (ICP-MS)</b>	<b>27</b>
3.1	Analiza ICP-MS . . . . .	27
3.2	Pregătirea probelor . . . . .	28
3.3	Rezultate experimentale . . . . .	28
3.4	Concluzii . . . . .	33
	<b>CONCLUZII</b>	<b>37</b>
	<b>ANEXA</b>	<b>40</b>
<b>A</b>	<b>Lucrări publicate / Comunicări</b>	<b>41</b>
A.0.1	Lucrări publicate/acceptate . . . . .	41
	<b>Bibliografie</b>	<b>42</b>

Vinul este o băutură alcoolică populară, consumată la nivel mondial, cunoscută încă din perioadele timpurii ale civilizației. Consumul moderat de vin, în special a vinurilor roșii, a fost demonstrat că are efecte benefice asupra sănătății și longevității. Valoarea comercială a acestuia provine, în cea mai mare parte, din amplasarea geografică a podgoriei, din soiul de struguri și din anul de recoltă al acestora. Recunoașterea acestui fapt a condus la reglementări în majoritatea regiunilor producătoare de vin, precum și la preocuparea de a dezvolta diferite metode pentru a verifica în special proveniența și anul de recoltă [1]. Vinul este o matrice complexă, componentele sale majore fiind apa, alcoolul și zaharurile. În plus acesta conține un număr mare de compuși chimici, cum ar fi aminoacizi, fenoli, compuși volatili, izotopi stabili și metale în urme și ultra-urme. Mulți dintre acești compuși chimici pot fi utilizați ca parametri de diferențiere pentru determinarea originii vinului. Concentrațiile acestor compuși sunt în mod semnificativ influențate de mai mulți factori, care includ: zona viticolă, tehnologia de cultură și soiul de struguri, tipul de sol, clima, și, nu în ultimul rând, procesul de vinificație. În consecință, acești factori ar putea juca un rol important în caracterizarea și diferențierea între vinuri [2]. Caracterizarea vinului în funcție de soiul și proveniența geografică poate fi realizată eficient prin determinarea unor parametri cum ar fi: compoziția în compuși volatili, compoziția elementală și rapoartele izotopice de oxigen și hidrogen. Vinul este unul dintre produsele agricole a cărui aromă și gust sunt influențate de locul unde provine. Mediul specific în care vița-de-vie a crescut joacă un rol foarte important, aceasta fiind reflectat în aroma și buchetul podgoriei din care provine vinul [3]. Astfel, compoziția volatilă poate fi foarte utilă în identificarea și certificarea unor categorii de calitate a vinului, cum ar fi: *vinuri dintr-un singur soi*, *vinuri tinere*, *vinuri vechi* sau *vinuri cu denumiri de origine*

(DO) [4]. Cromatografia în fază gazoasă cuplată cu spectrometria de masă (GC-MS) este o metodă frecvent utilizată pentru izolarea și identificarea compușilor volatili din vinuri și din alimente datorită sensibilității și reproductibilității sale ridicate. În ultimii ani, rapoartele izotopice de oxigen și cele de hidrogen din vin sunt utilizate atât pentru a detecta falsificarea vinurilor cât și pentru a identifica sau a verifica zona geografică din care provin acestea, aceasta datorită predictibilității valorilor lor în funcție de regiune, de climă și de nivelul de precipitații. Variația spațială în precipitații se înregistrează în materialul vegetal deoarece planta ia apă din sol (care provine în general din precipitațiile locale) și încorporează atomi de hidrogen și oxigen în produșii de fotosinteză. De asemenea, determinarea conținutului în metale al vinurilor este de mare interes, datorită aportului lor în stabilitatea acestora, datorită posibilelor riscuri toxicologice și a faptului că unele dintre metale au fost reglementate prin lege. Interesul principal este totuși de a folosi conținutul de metale în scopul caracterizării vinurilor în funcție de originea lor geografică, ținând cont de relația dintre metalele prezente în compoziția vinului și cea a solului [5].

Având în vedere cele menționate, în lucrarea de față s-a urmărit analiza compoziției chimice a unui număr cât mai mare de vinuri din cele mai importante regiuni viticole ale României. S-a investigat conținutul în compuși volatili, conținutul de metale și raportul izotopic al oxigenului. Un studiu aprofundat al valorilor acestora, în funcție de originea geografică, de soi, și de anul de producție, poate constitui un instrument util în diferențierea lor și în stabilirea unor posibile criterii de autenticitate.

Teza de doctorat este structurată în două părți distincte, o parte bibliografică în care descriem parametrii implicați și metodele experimentale utilizate și partea conținând prezentarea analizelor efectuate, rezultatele obținute și analiza acestora. Astfel, în capitolul 1 sunt prezentate aspecte generale despre vin, particularitățile privind tehnologia de obținere a vinurilor albe și roșii, compoziția chimică a acestora precum și fazele de evoluție a vinului. În capitolul 2 sunt descriși mai detaliat compușii chimici din vin care pot fi utilizați ca și parametri în caracterizarea și stabilirea originii geografice a acestora. Capitolul 3 conține o descriere a metodele analitice instrumentale utilizate. În Capitolul 4 prezentăm compușii volatili identificați prin GC-MS și analiza acestora. Capitolul 5 conține determinarea rapoartelor izotopice de oxigen ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) utilizând *spectrometria de masă pentru rapoarte izotopice* (IRMS), iar în capitolul 6 prezentăm o analiză a compoziției minerale a vinurilor investigate, determinată prin *spectrometrie de masă cu plasmă cuplată inductiv* (ICP-MS). Prezentul rezumat al tezei conține doar partea de rezultate experimentale și contribuții personale.

---

## Determinarea unor compuși volatili din vinuri prin cromatografia de gaze cuplată cu spectrometrie de masă

---

### 1.1 Pregătirea probelor

În acest studiu au fost investigate 27 probe de vinuri albe comerciale din patru cele mai importante regiuni viticole din România: Oltenia (podgoriile Oprișor și Vânju-Mare), Muntenia (podgoriile Cramele Halewood și Ceptura), Moldova (podgoria Huși) și Transilvania (podgoria Jidvei). Sortimentele de vin alese au fost *Sauvignon Blanc*, *Feteasca Albă* și *Riesling* din trei ani consecutivi: 2008, 2009 și 2010 (Tabelul 1.1).

**Extracția lichid-lichid.** Protocolul folosit în aceasta lucrare pentru extracția compușilor volatili din probele de vin a fost adaptat după cel descris de către I. Andujar-Ortiz și colab. [6]. Astfel, 25 mL probă de vin și 5 ml clorură de metilen (Merck) au fost transferați într-un balon de sticlă prevăzut cu dop șlefuit în care s-a introdus un agitator magnetic. Extracția s-a realizat în condiții de agitare continuă, într-o baie de gheață (la aproximativ 0°C), timp de o oră. Ulterior, amestecul a fost ținut timp de 15 minute într-o baie de ultrasunete, la o temperatură apropiată de 0°C, pentru a evita formarea unei posibile emulsii. După separare, faza organică a fost colectată utilizând o pipetă Pasteur și centrifugată. Pentru a elimina orice urmă de apă, aceasta a fost filtrată printr-un strat de sulfat de sodiu anhidru. Extractul obținut a fost concentrat la rotavapor până la aproximativ 200  $\mu\text{L}$ . Ulterior 1  $\mu\text{L}$  de extract a fost injectat în spectrometrul GC-MS în modul "splitless".

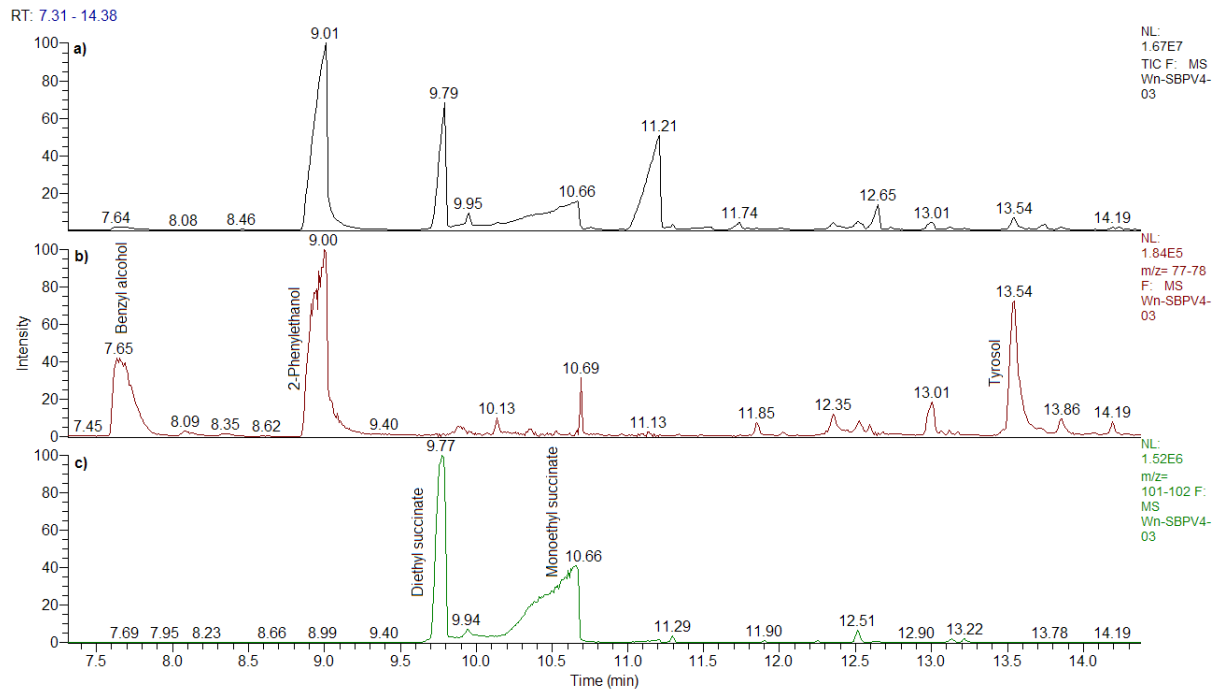
**Tabelul 1.1** *Probele de vin alb investigate.*

Nr. crt.	Sortimentul	Cod	Regiunea viticolă	An de producție
1	Sauvignon Blanc	SBPV	Muntenia (Podgoria I) (Cramele Halewood, Dealurile Munteniei)	2008
2		SBPV		2009
3		SBPV		2010
4		SBO	Oltenia (Podgoria I) (Oprisor, Dealurile Olteniei)	2008
5		SBO		2009
6		SBO		2010
7		SBCS	Oltenia (Podgoria II) (Mehedinți, Vânju-Mare)	2008
8		SBCS		2009
9		SBCS		2010
10	Fetească Albă	FAH	Moldova (Dealurile Hușilor)	2008
11		FAH		2009
12		FAH		2010
13		FACH	Muntenia (Podgoria I) (Cramele Halewood, Dealurile Munteniei)	2008
14		FACH		2009
15		FACH		2010
16		FASC	Muntenia (Podgoria II) (Ceptura, Dealurile Munteniei)	2008
17		FASC		2009
18		FASC		2010
19	Riesling	RSC	Muntenia (Podgoria II) (Ceptura, Dealurile Munteniei)	2008
20		RSC		2009
21		RSC		2010
22		RCS	Oltenia (Podgoria II) (Mehedinți, Vânju-Mare)	2008
23		RCS		2009
24		RCS		2010
25		DRJ	Transilvania (Jidvei)	2008
26		DRJ		2009
27		DRJ		2010

## 1.2 Analiza GC-MS

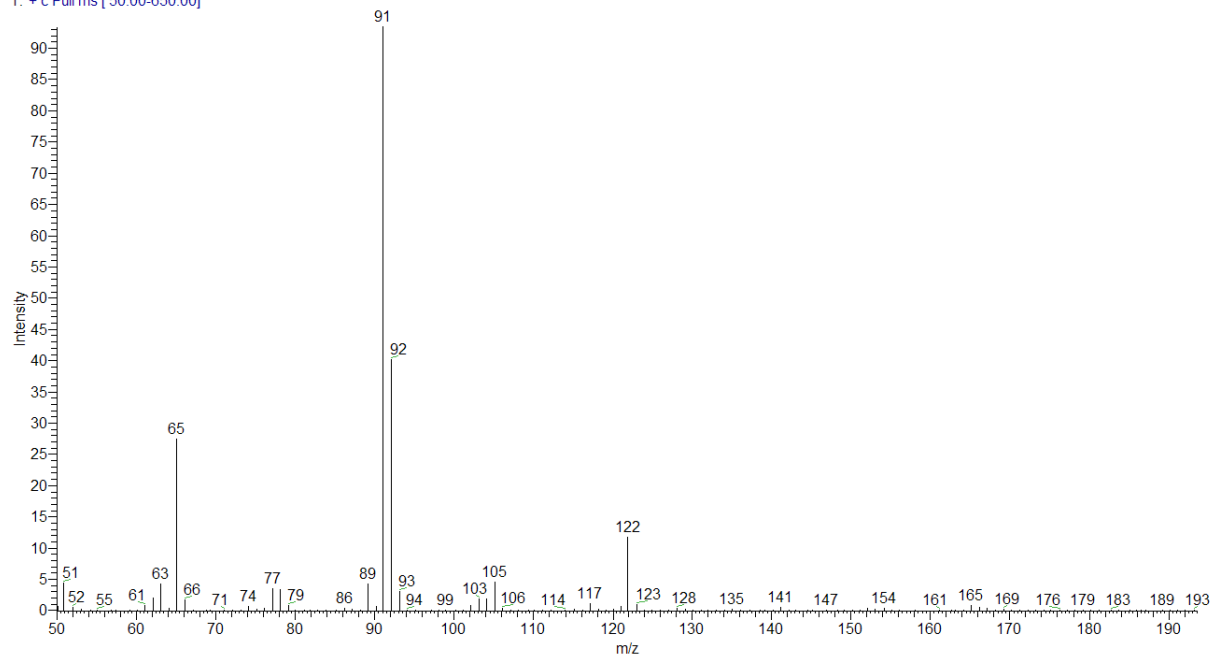
Probele de vin au fost analizate folosind sistemul gas cromatograf (*Trace GC*) cuplat cu un spectrometru de masă (*Polaris Q*) (Thermo-Finnigan). Pentru separare s-a folosit o coloană capilară cu faza staționară din clasa metil-fenil (5%) siloxan de tip HP 5-MS cu o lungime de 30 m, diametru interior, 0.25 mm, și grosimea stratului fazei staționare de 0.25  $\mu\text{m}$ . Ca eluent a fost utilizat heliu, reglat la un debit constant de 1.5 ml/min. Programul de temperatură al coloanei a fost: temperatura inițială de 50°C a fost menținută timp de două minute, după care acesta a crescut liniar cu o viteză de 10°C/min până la 300°C,





**Figura 1.1** Cromatograma GC-MS a unei probe de vin Sauvignon Blanc din Muntenia: a) cromatograma de ioni totali (TIC); b)  $m/z=77$ ; c)  $m/z=101$ .

Wn-SBPV4-03 #416-421 RT: 8.90-8.95 AV: 6 SB: 8 9.05-9.11 NL: 3.17E6  
T: + c Full ms [ 50.00-650.00]



**Figura 1.2** Spectrul de masă obținut pentru 2-fenil-etanol (proba de vin Sauvignon Blanc din Muntenia)

temperatură la care a fost menținută timp de 10 minute. Temperatura prestabilită a injectorului a fost de 250°C. Spectrometru de masă este prevăzut cu o sursă de ionizare

cu impact electronic (EI) având energia de ionizare de 70 eV. Pentru sistemul GC-MS temperaturile la interfață și la sursa de ioni au fost 300°C și respectiv 250°C. Achiziția a fost realizată în modul "*full scan*" iar domeniul de masă baleiat a fost între 50-650 Daltoni.

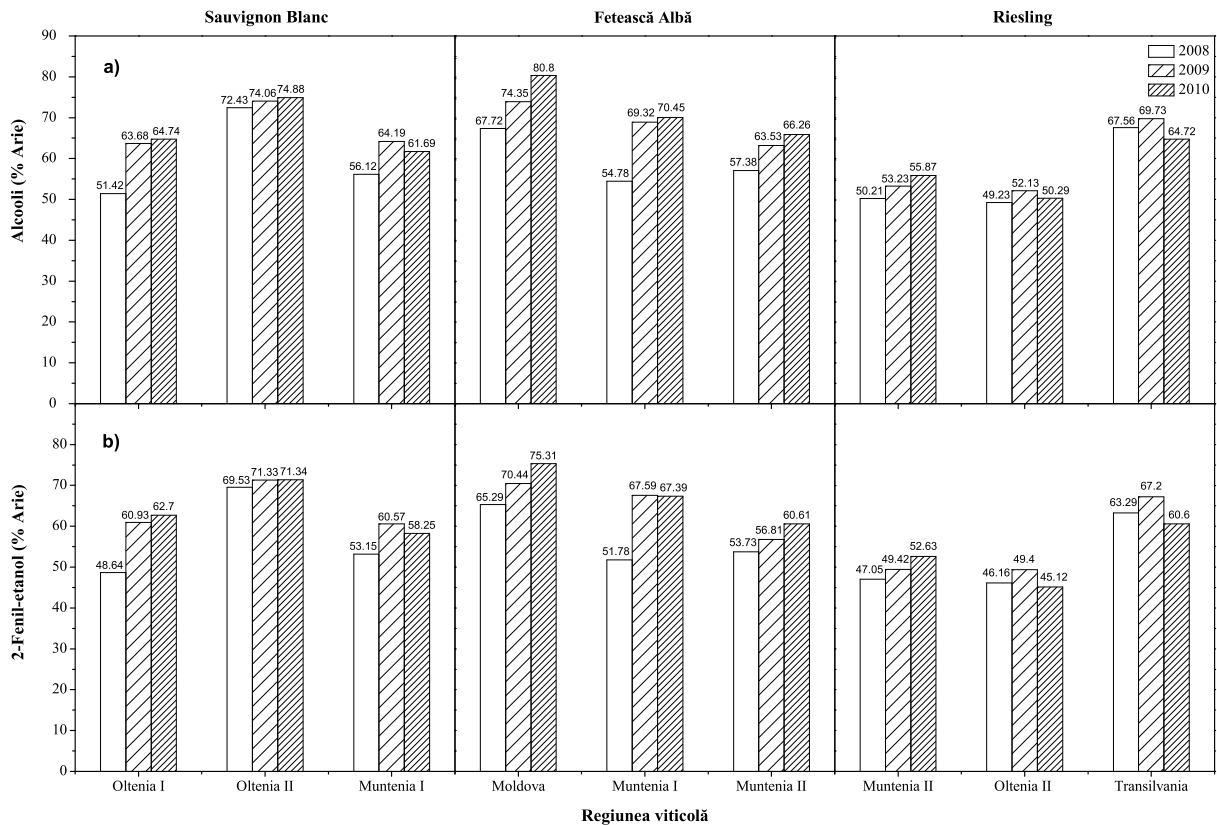
### 1.3 Rezultate

În etapa de analiză au fost identificați 48 de compuși volatili aparținând la 8 clase diferite, și anume: alcooli, esteri etilici, acizi grași, compuși fenolici, aldehide, cetone, lactone și terpeni. În majoritatea cazurilor identificarea compușilor s-a realizat prin compararea spectrelor de masă obținute cu cele existente în biblioteca de spectre, *NIST*, iar în cazurile mai dificile și cu cele publicate în literatură [7,8]. Compușii volatili detectați prin GC-MS au fost grupați pe clase de structuri chimice și sunt raportați sub formă de procente arie (%-Arie). Compușii identificați au fost în concordanță cu alte rezultate obținute în ultimii ani de diverși autori [9–16].

Pentru analiza cantitativă a compușilor volatili identificați s-au considerat ariile cromatografice a fiecărui compus în parte, utilizând intensitatea ionului de bază, iar ulterior s-au calculat concentrațiile procentuale corespunzătoare fiecărui compus. Studiul structurilor și concentrațiilor compușilor detectați indică următoarele particularități:

- (a) *Alcoolii superiori* și *esterii etilici* reprezintă cel mai important grup de compuși volatili reprezentând peste 90% din fracția volatilă în vinurile analizate, situație raportată și de alți autori [9].
- (b) *Acizii grași*, *fenolii*, *aldehidele*, *cetonele*, *lactonele* și *terpenele* au fost găsiți în cantități mici. Acești compuși sunt produși de drojdie în timpul fermentației alcoolice și au un rol esențial, determinând aroma vinurilor.
- (c) Dintre alcoolii identificați, cei obținuți cu o abundență preponderentă au fost alcoolii aromatici: *2-fenil-etanolul*, *tirozolul* și *triptofolul* care se formează în timpul fermentației alcoolice prin degradarea enzimatică a aminoacizilor corespunzători sau printr-o reacție catabolică Ehrlich.
- (d) Dintre esterii etilici, cei mai abundenți au fost *esterii acizilor diprotici* (dietil succinatul, monoetil succinatul și dietil malatul).

În Figura 1.1 este prezentată cromatograma caracteristică pentru alcoolii aromatici respectiv esteri ai acizilor diprotici într-o probă de *Sauvignon Blanc* din *Muntenia*, iar în



**Figura 1.3** Conținutul de a) alcoolii și b) 2-fenil-etanol determinat pentru soiurile de vin *Sauvignon Blanc*, *Fetească Albă* și *Riesling* în anii trei ani consecutivi.

figura 1.2 spectrul de masă obținut pentru 2-fenil-etanol. Cromatograma obținută cu ionul selectat  $m/z=77$  (figura 1.1 b), reprezintă compuși de tip fenoli (alcoolul benzilic, 2-fenil-etanolul și tirozolul), iar cromatograma obținută cu ionul selectat  $m/z=101$  (Figura 1.1 c) este caracteristică pentru esterii acizilor diprotici (diethyl succinatul și monoethyl succinatul).

### 1.3.1 Studiul influenței geo-climatice asupra fracției volatile din vinuri

Pentru a evidenția influența geo-climatică asupra fracției volatile din vinuri, într-o analiză pe clase de compuși, am utilizat trei sortimente de vin, *Sauvignon Blanc*, *Fetească Albă* și *Riesling*, din cele mai importante regiuni viticole ale României aflate în *Oltenia*, *Muntenia*, *Moldova* și *Transilvania*.

#### 1.3.1.1 Alcoolii superiori

Din punct de vedere cantitativ alcoolii superiori reprezintă cel mai important grup de compuși volatili determinați, alcătuind mai mult de 50% din componentele volatile din

vin, situație, de altfel, cunoscută și confirmată în literatură [17]. Totuși conținutul acestora diferă de la sortiment la sortiment și de la o podgorie la alta, fapt ce se poate remarca și în figura 1.3.

Cei mai importanți alcooli în vinurile investigate au fost **alcooli aromatici**: *2-fenil-etanolul*, *tirozolul*, *triptofolul* și *alcoolul benzilic*. Dintre **alcooli alifatici**, a fost detectat doar *3-metil butanolul*, însă cantitatea acestuia a fost foarte scăzută, în unele probe nedepășind 1% din totalul de alcooli identificați, situație constatată, de asemenea, în literatură [11].

### 1.3.1.2 Esteri etilici

În probele de vinuri investigate au fost identificați 13 esteri etilici dintre care trei sunt esteri etilici ai acizilor grași, nouă ai acizilor carboxilici (succinic, malic, citric), iar unul este esterul etilic al unui acid carboxilic heterociclic (acid 2-furoic).

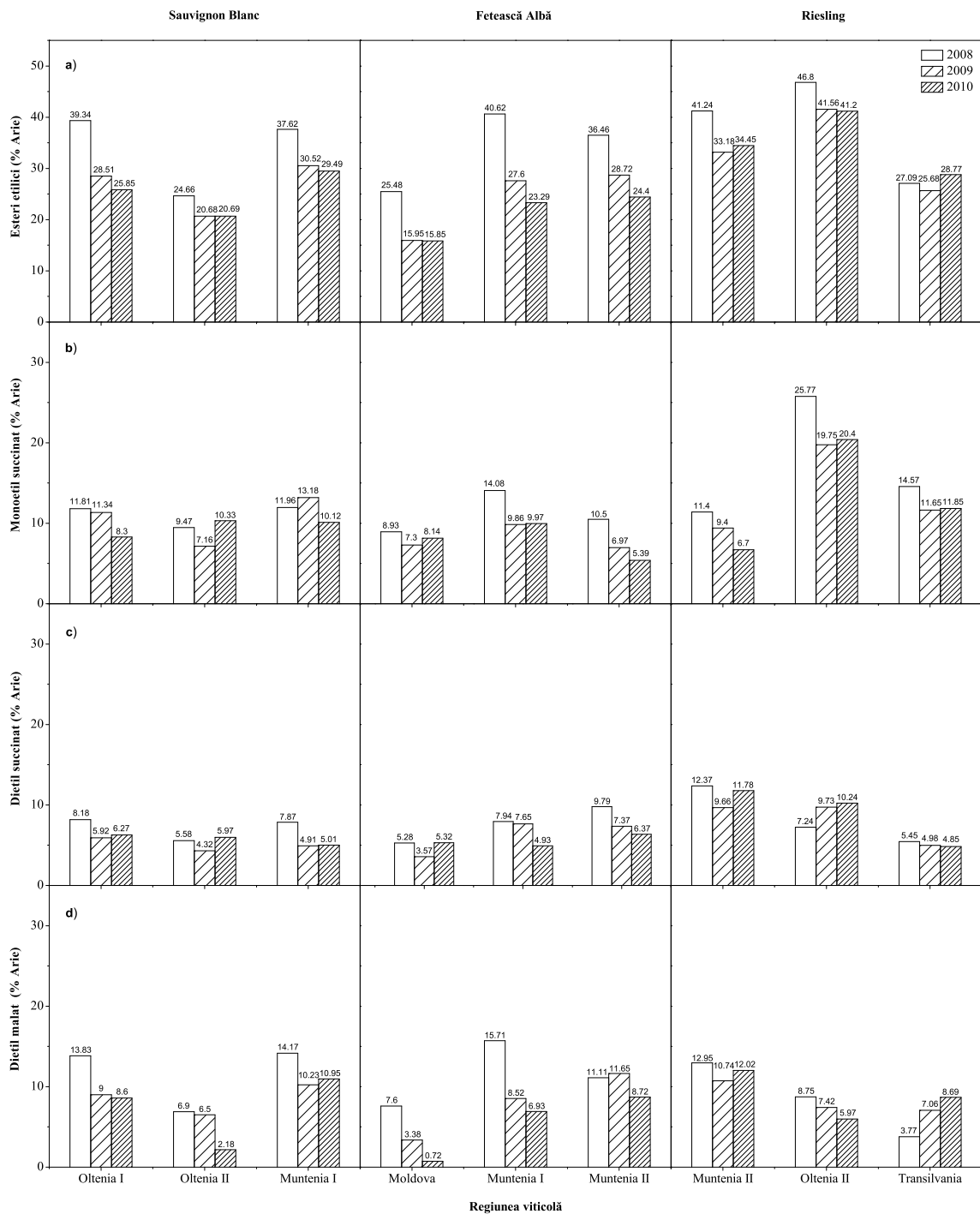
În figura 1.4 am reprezentat conținutul total de esteri etilici măsurat pentru diferite sortimente de vinuri pentru cei trei ani precum și evoluția esterilor acizilor diprotici cei mai abundenți. De această dată se observă o tendință de descreștere a contribuției acestora de la un an la altul, contribuție corelată cu trendul ascendent observat în cazul alcoolilor. Această corelare se datorează faptului că esterii sunt a doua clasă de compuși în ordinea abundenței, valoarea lor medie în vinurile investigate fiind de aproximativ 30% din totalul compușilor identificați.

### 1.3.1.3 Acizi grași

În vinurile investigate au fost identificați șapte acizi grași (acidul butanoic, hexanoic, octanoic, decanoic, dodecanoic, tetradecanoic și hexadecanoic). Nivelul acestora a fost foarte scăzut în cele trei sortimente de vin în concordanță cu cel găsit și în alte varietăți de vinuri [18].

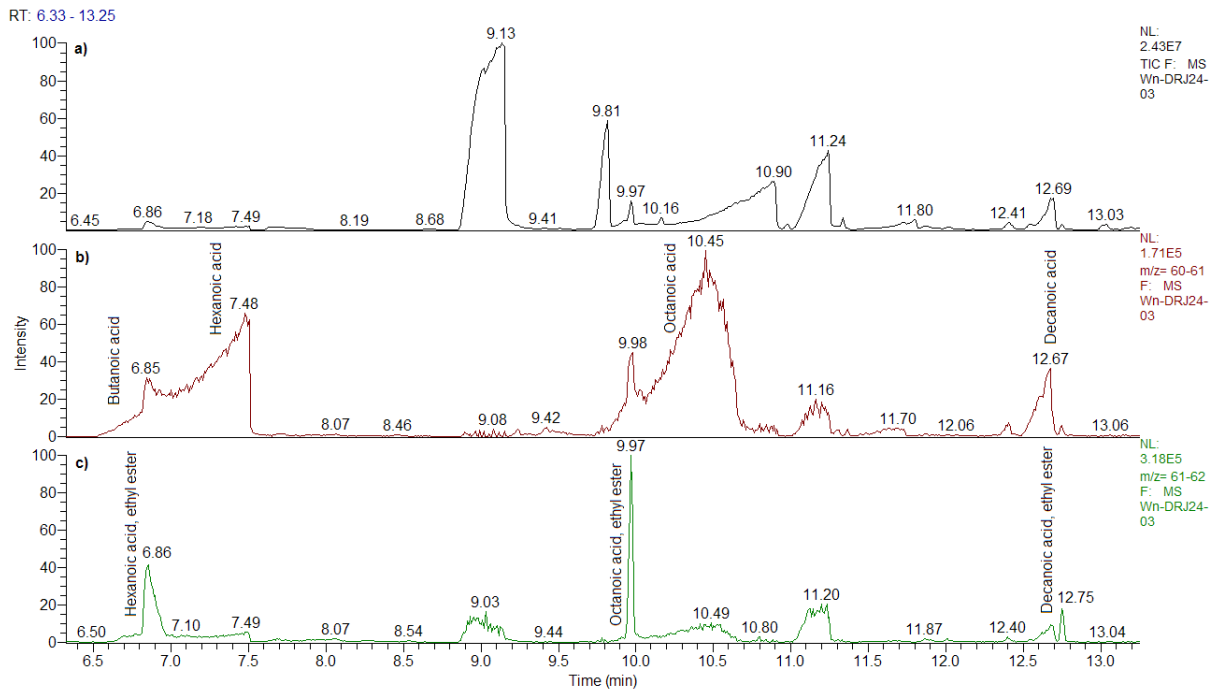
În figura 1.5 este prezentată cromatograma caracteristică acizilor grași precum și a esterilor corespunzători pentru o probă de *Riesling* din Transilvania, iar în figura 1.6 spectrul de masă pentru acidul octanoic. Cromatogramele obținute cu ionii selectați la  $m/z=60$  (figura 1.5 b) și  $m/z=61$  (figura 1.5 c) reprezintă compuși de tipul acizilor grași (acidul butanoic, hexanoic, octanoic și decanoic) și respectiv esterii corespunzători.

Se observă că aceștia sunt echidistanți în timp, situându-se la aproximativ trei minute unul de celălalt, diferind ca masă prin două grupări metilen ( $CH_2$ ). În cazul acizilor grași, datorită polarității mari se observă o formă lățită a picului ca urmare a interacțiunii cu faza staționară nepolară.

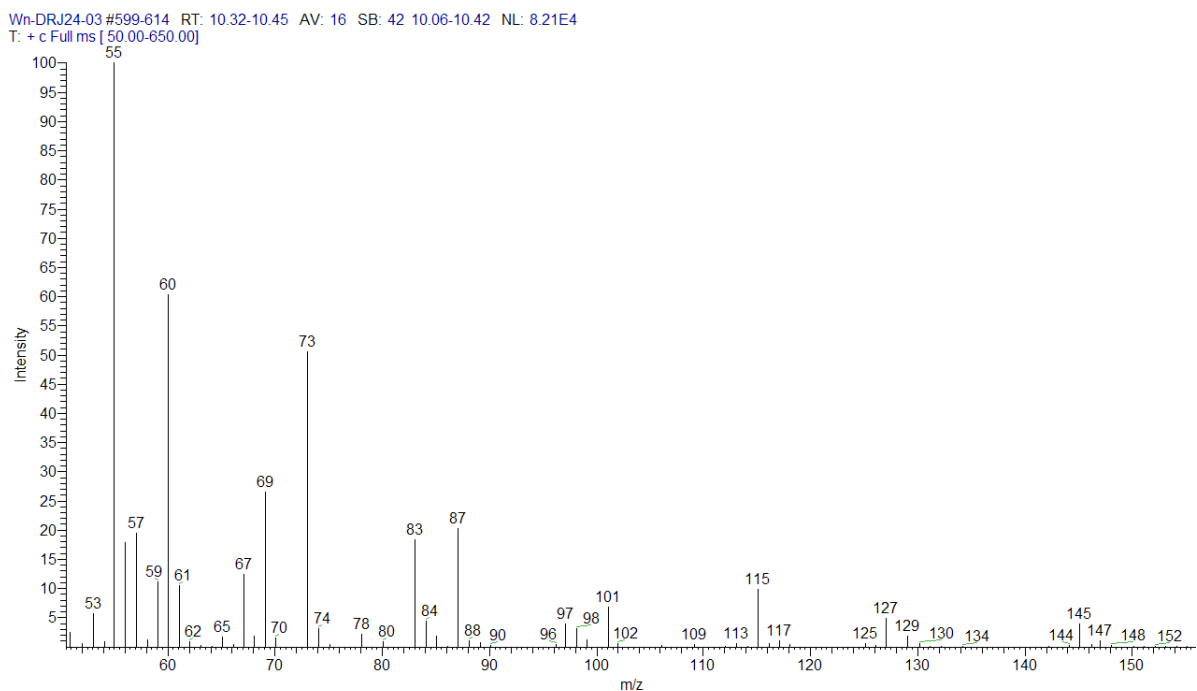


**Figura 1.4** Conținutul total de esteri etilici (a) și esterii acizilor diprotici cei mai abundenți: (b) monoetil succinat, (c) dietil succinat și (d) dietil malat.

Aportul cel mai mare la conținutul total de acizi grași le revine însă acizilor *hexanoic* și *octanoic* a căror valori medii sunt de aproximativ 0.9% respectiv 1.3%. Dintre aceștia, acidul octanoic prezintă un nivel ușor mai ridicat în toate cele trei sortimente de vin, fiind în concordanță, ca abundență, cu alte date din literatură [9, 18, 19].



**Figura 1.5** Cromatograma GC-MS a unei probe de Riesling din Transilvania: a) cromatograma de ioni totali (TIC); b)  $m/z=60$ ; c)  $m/z=61$ .



**Figura 1.6** Spectrul de masă obținut pentru acidul octanoic (proba de vin Riesling din Transilvania).

În figura 1.7 prezentăm aportul acizilor grași în vinurile investigate.

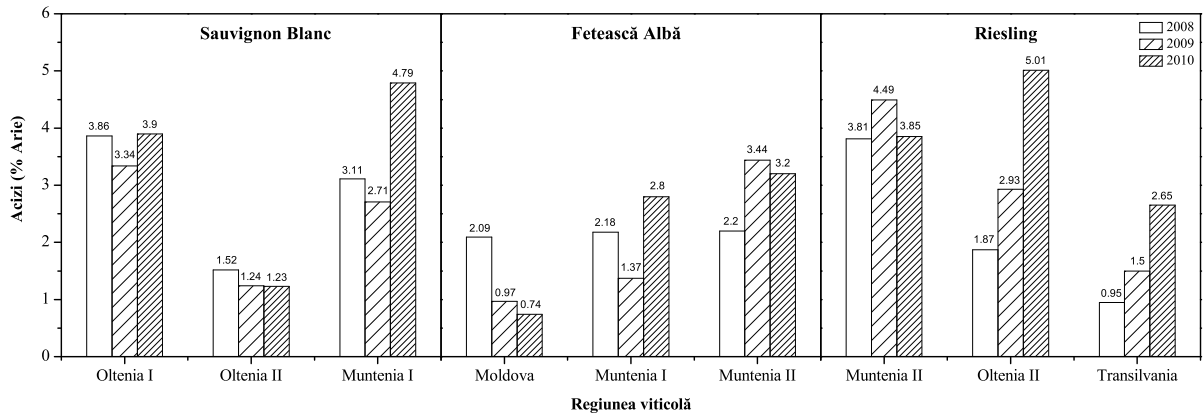


Figura 1.7 Conținutul total de acizi grași în cele trei sortimente de vin investigate.

### 1.3.1.4 Compușii fenolici volatili

În vinurile investigate au fost detectați paisprezece compuși fenolici, cei mai importanți fiind: *4-vinilguaiacolul*, *stirenul*, *esterul metilic al acidului vanilic*, esterii etilici al acizilor *vanilic*, *ferulic*, *p-hidroxicinamic*, *o-* sau *m-hidroxicinamic*. Conform datelor bibliografice un conținut mai ridicat de *p-etil cumarat* sau *etil ferulat* poate fi un indicator că aceste vinuri au fost învechite în butoaie [20]. De asemenea, *4-vinilguaiacolul*, se găsește doar în vinurile albe, iar prezența acestuia în cele roșii și rosé poate servi drept indicator pentru recunoașterea amestecului cu vinuri albe [4]. În figura 1.8 este prezentat profilul compușilor fenolici totali în cele trei sortimente de vin analizate.

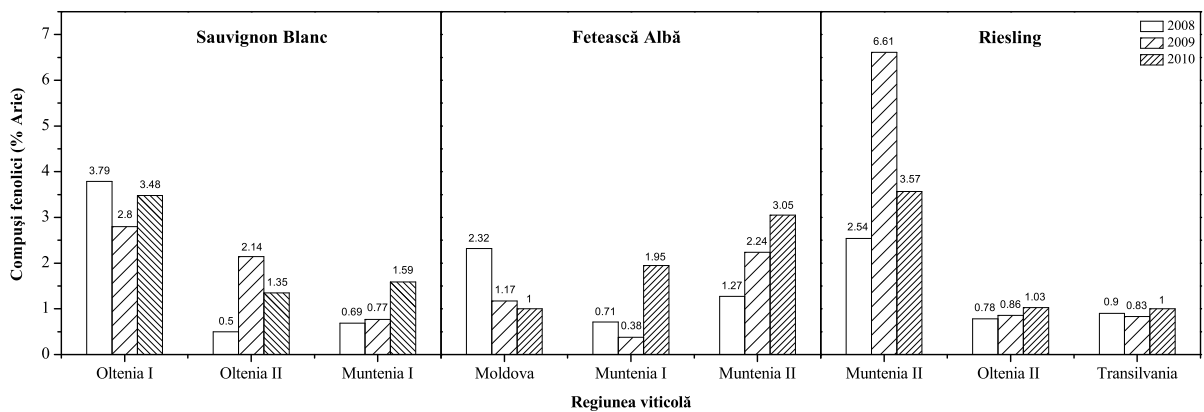


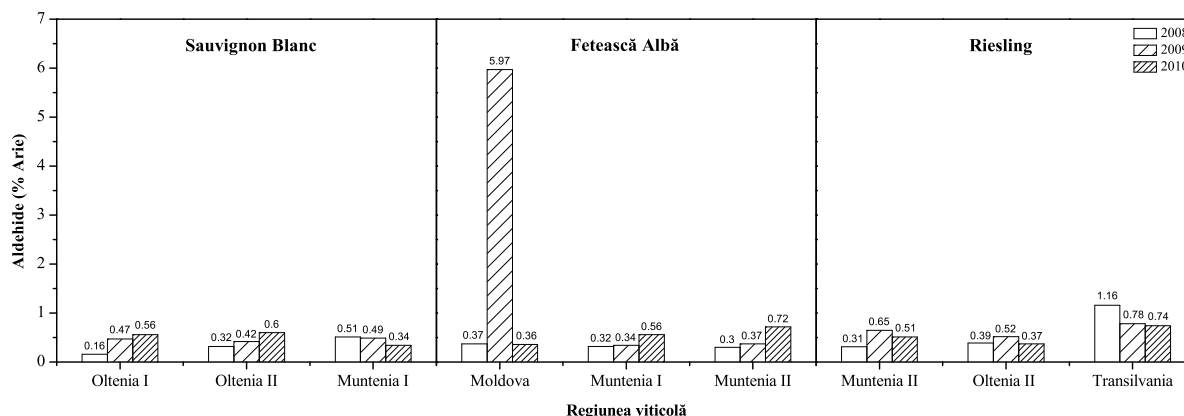
Figura 1.8 Conținutul total de compuși fenolici în cele trei sortimente investigate.

În probele măsurate un conținut mai ridicat de *p-etil-cumarat* s-a obținut în sortimentul *Sauvignon Blanc* din Oltenia (podgoria I) în anul 2008 (conform Tabelului A.1 din Anexa A). În ceea ce privește *4-vinilguaiacolul* nivelul măsurat este mic, valorile lui fiind sub 0.1% excepție făcând sortimentul *Fetească* din regiunile Moldova și Muntenia

(podgoria II), unde s-au obținut valori apropiate de 0.2% din totalul compușilor volatili identificați.

### 1.3.1.5 Aldehyde

În vinurile studiate au fost detectate 4 aldehide aromatice și anume: *fenilacetaldehida*, *4-hidroxi-2-metoxibenzaldehida*, *benzenbutanal* și *aldehida siringică*. Dintre acestea cele mai importante pentru aroma vinului sunt *fenilacetaldehida* și *aldehida siringică*. *Aldehida siringică* aparține grupului de aldehide fenolice fiind una dintre componentele majore alături de vanilină și derivații acesteia și se formează prin degradarea termică a ligninei în timpul arderii lemnului de stejar [10,21]. Deoarece nivelul acesteia este mic, în majoritatea vinurilor nedeșășind 0.01%, iar în unele sortimente de *Sauvignon Blanc* chiar lipsește, aportul acesteia la totalul de aldehide este scăzut. Contribuția cea mai importantă la totalul de aldehide îi revine fenilacetaldehidei [22].



**Figura 1.9** Conținutul total de aldehide în cele trei sortimente de vin investigate.

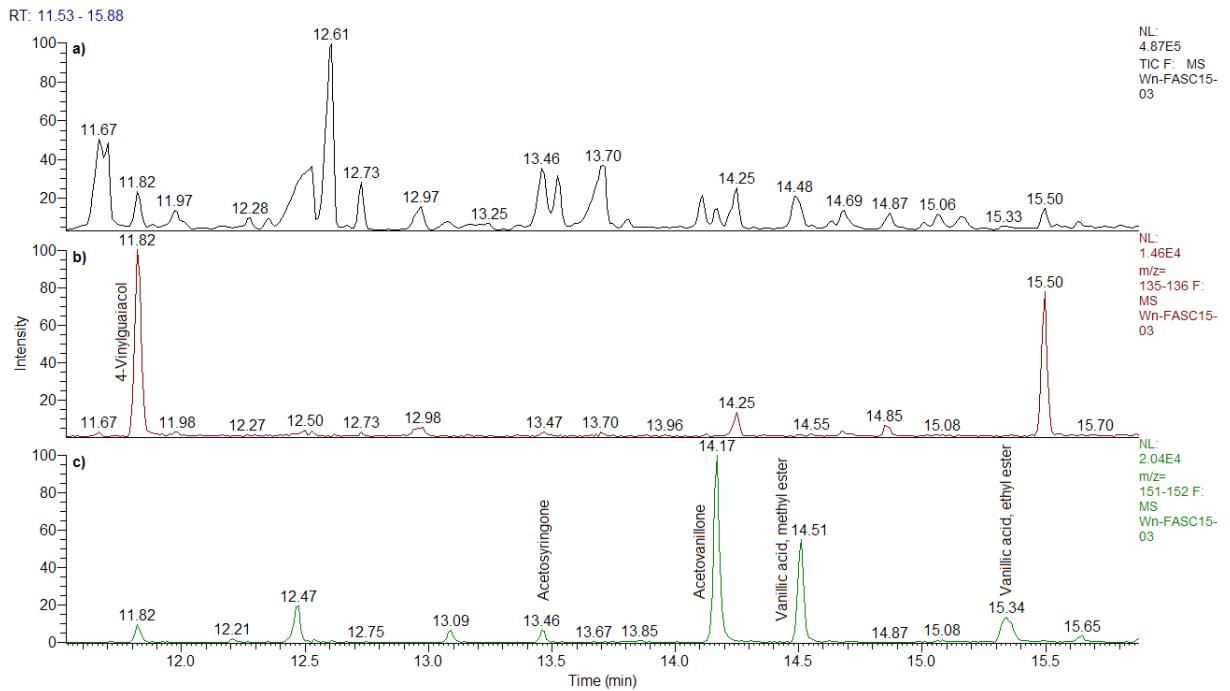
În figura 1.9 este reprezentat conținutul de aldehide în cele trei sortimente de vin analizate. Se observă un nivel neobișnuit de mare al acestora în cazul sortimentului *Fetească Albă* în anul 2009 în regiunea Moldova, datorat în cea mai mare parte *benzenbutanalului*. Deși identificarea acestui compus a fost realizată cu o mare probabilitate utilizând biblioteca de spectre *NIST*, acest compus nu apare raportat în alte lucrări de specialitate. Este foarte probabil ca acest compus să apară din materialul recipientului în care s-a făcut învechirea.

### 1.3.1.6 Cetone

Cetonele identificate în probele de vin au fost: *acetovanilona* (4'-hidroxi-3'-metoxi acetofenona) și *acetosiringona* (4'-hidroxi-3',5'-dimetoxi acetofenona). Acestea, alături de *aldehida siringică* și *4-vinil-guaiacolul* apar în timpul învechirii vinurilor în butoaie de

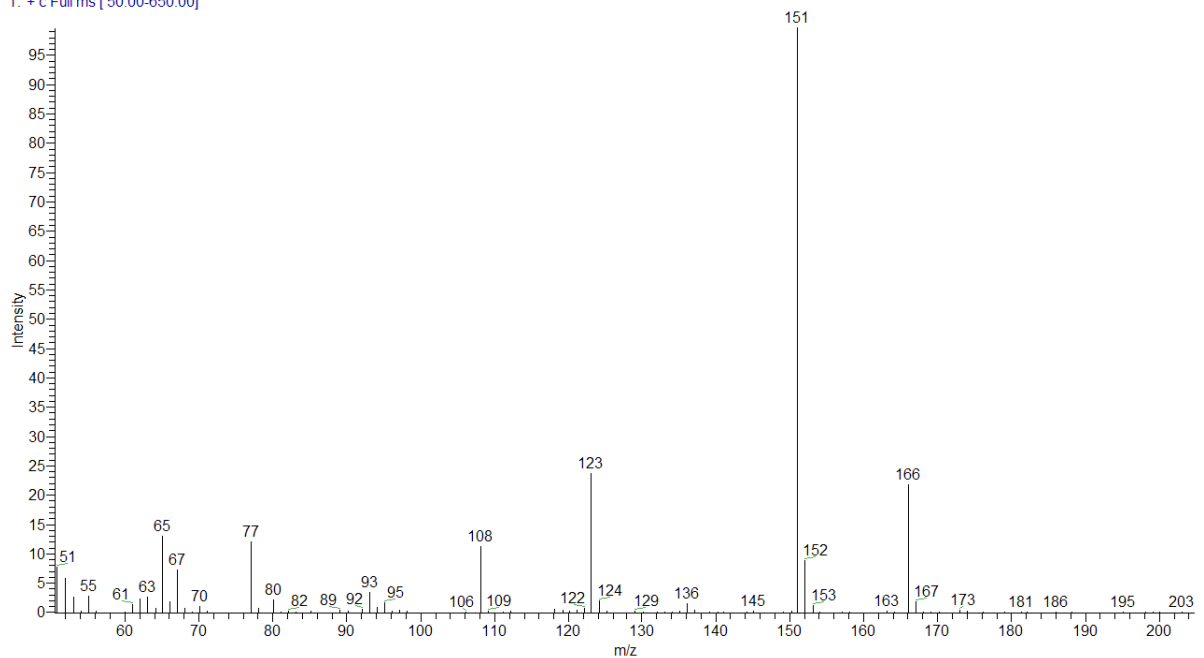


stejar, o tradiție veche, care este încă folosită pentru a îmbunătăți calitatea senzorială a vinurilor [10, 21, 23, 24].

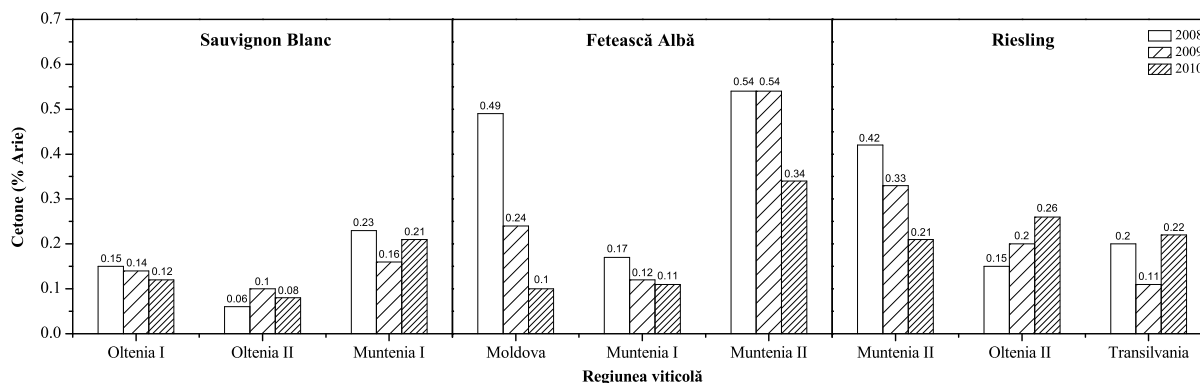


**Figura 1.10** Cromatograma GC-MS a unei probe de vin Fetească Albă din Muntenia: a) cromatograma de ioni totali (TIC); b)  $m/z=135$ ; c)  $m/z=151$ .

Wn-FASC15-03 #944-945 RT: 14.16-14.17 AV: 2 SB: 6 14.04-14.09 NL: 1.83E4  
T: + c Full ms [50.00-650.00]



**Figura 1.11** Spectrul de masă obținut pentru acetovanilonă (proba de vin Fetească Albă din Muntenia).



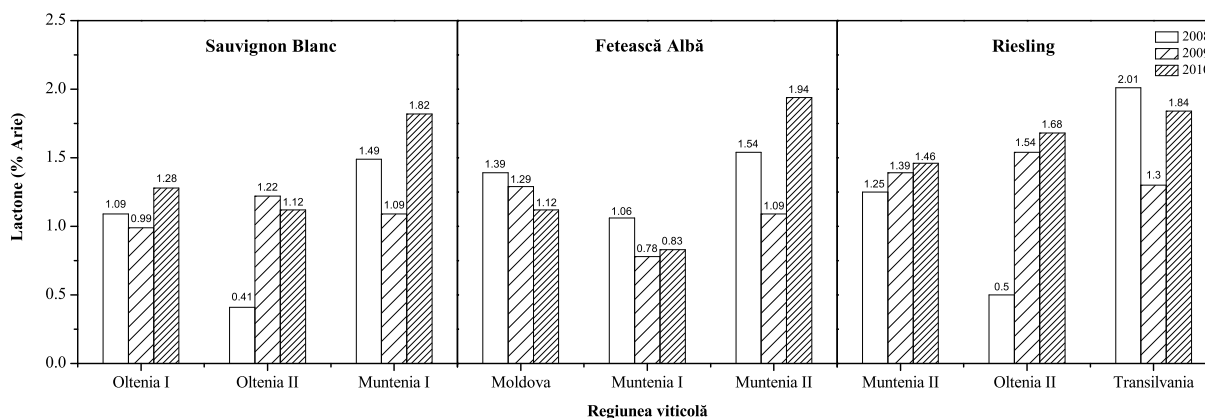
**Figura 1.12** Conținutul total de cetone în cele trei sortimente de vin investigate.

Cromatograma GC-MS privind separarea acestor compuși într-o probă de vin *Fetească Albă* din Muntenia este prezentată în figura 1.10, iar în figura 1.11 spectrul de masă obținut pentru *acetovanilonă*.

Cromatograma obținută cu ionul selectat  $m/z=135$  (Figura 1.10 b) este caracteristică compusului *4-vinil-guaiacol*, iar cromatograma obținută cu ionul selectat la  $m/z=151$  (Figura 1.10 c) este caracteristică pentru derivați ai vanilinei (*acetosiringonă*, *acetofenonă*, *etil vanilat*, *metil vanilat*). Conținutul în cetone al probelor de vin analizate este prezentat în figura 1.12.

### 1.3.1.7 Lactone

În vinurile investigate au fost identificate 2 lactone: *dihidro-3-(fenilmetil)-2(3H)-furanona* și  $\gamma$ -*decalactona*, cea mai abundentă fiind  $\gamma$ -*decalactona*.  $\gamma$ -*decalactonele* sunt printre cele mai importante componente care contribuie la caracteristicile senzoriale ale vinurilor învechite în lemn de stejar [25–27].



**Figura 1.13** Conținutul total de lactone în cele trei sortimente de vin investigate.

În figura 1.13 este reprezentat conținutul în lactone în cele trei sortimente de vin investigate.

### 1.3.1.8 Terpene

Deoarece majoritatea compușilor terpenoidici apar în micro-concentrații în struguri, și prin urmare în must și vinuri, cuantificarea lor este de obicei dificilă [28]. Astfel, în probele noastre de vin a fost identificată o singură terpenă, *acetil carena*, o monoterpenă biciclică. Procentul acesteia în cele trei sortimente de vin este în general foarte mic, în domeniul 0.02 – 0.3%, fiind însă concordantă cu datele raportate în literatura [11].

În figura 1.14 este reprezentat aportul acetil carenei în fiecare din probele de vin studiate.

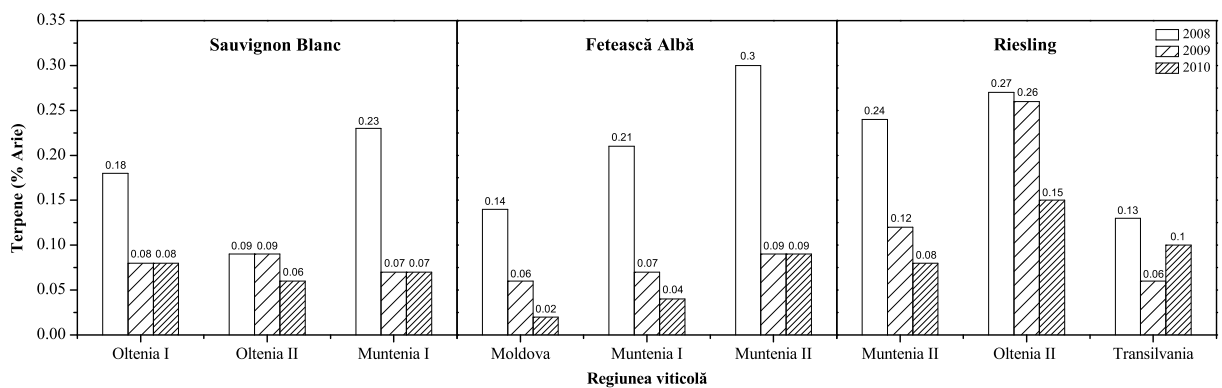
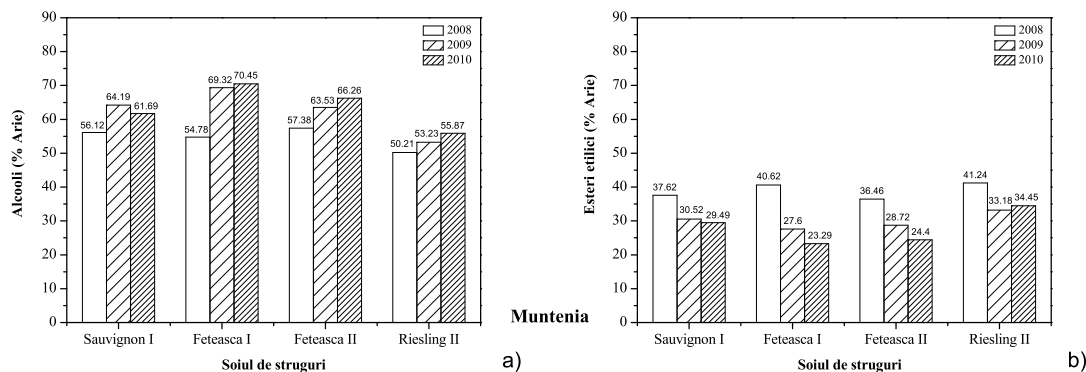


Figura 1.14 Conținutul total de acetil carenă în cele trei sortimente de vin investigate.

## 1.3.2 Studiul influenței soiului de struguri asupra fracției volatile din vinuri

Pentru a determina influența soiului de struguri asupra compoziției volatile din vin am analizat cele trei sortimente de vin, *Sauvignon Blanc*, *Fetească Albă* și *Riesling* produse în regiunea Muntenia. În acest sens am urmărit comportamentul compușilor volatili majoritari în aceste sortimente și anume alcoolii superiori și esterii etilici. Rezultatele obținute sunt prezentate în figura 1.15.

O primă observație ar fi trendul crescător de la un an la altul care apare în cazul contribuției procentuale a alcoolilor cu o excepție în cazul vinului *Sauvignon*. Această creștere este bineînțeles corelată cu scăderea aportului de esterii etilici, cu cât vinul este mai tânăr, cu mici excepții datorate contribuției compușilor minoritari.



**Figura 1.15** Conținutul în a) alcooli și b) esteri etilici în cele trei sortimente de vin din regiunea Muntenia.

## 1.4 Concluzii

În concluzie nivelul de *alcooli superiori* prezintă variații semnificative de la o podgorie la alta și de la un an la altul. Diferențele care apar de la o regiune la alta sau în cadrul podgoriilor din aceeași regiune sunt influențate de condițiile de fermentație și de compoziția inițială fizico-chimică a mustului și a soiului de struguri [18] și ca urmare a hidrolizei esterilor sau evaporării în timpul maturării în lemn [26].

În ceea ce privește aportul de *esteri* observăm că în majoritatea vinurilor analizate acesta crește pe măsura învechirii. Acest fapt se poate explica prin contribuția majoră ce le revine esterilor etilici ai acizilor diprotici a căror concentrație crește semnificativ în timpul stocării, datorită esterificării chimice în timpul învechirii [26]. Unele variații care au loc pot fi cauzate de reacțiile complexe de hidroliză, esterificare sau oxidare prin procese legate de oxidarea radicalului hidroxil [29]. Mai mult, în unele dintre podgorii aportul de esteri diferă în mod semnificativ de la un an la altul, în timp ce în alte podgorii valorile se mențin aproape la același nivel, fără a putea însă deduce o evoluție corelată a acestora. Presupunem, în consecință, că nivelul acestora depinde în mod sensibil de soiul de strugure precum și de condițiile în care are loc fermentația în fiecare podgorie. Astfel, tipul de ferment și factorii care influențează dezvoltarea acestuia (cum ar fi temperatura, oxigenul, pH-ul și sursele de azot) au o influență definitorie. De asemenea, anumite procese tehnologice, cum ar fi macerarea în contact cu coaja, sau limpezirea mustului înainte de fermentare conduc la creșterea cantității de *acizi grași* din vin [30], în timp ce învechirea vinurilor pe drojdie diminuează cantitatea acestora [9].

Comparând evoluția conținutului de *compuși fenolici* de la an la an în fiecare dintre podgorii este evidentă lipsa unui trend. Acest comportament pare a fi un indiciu al faptului că aportul de fenoli depinde într-o măsură mai mare de tehnologia de vinificație folosită decât de condițiile geo-climatice. De exemplu, în tehnologia de producere a vinurilor albe,

contactul cu coaja în timpul elaborării mustului este un proces de pre-fermentare pentru a îmbunătăți caracterul floral și fructat al vinurilor [31, 32]. Prin urmare, un conținut mai ridicat de compuși fenolici observat în unele podgorii poate fi explicat prin faptul că, contactul cu coaja a avut loc o perioadă mai lungă de timp [33].

*Fenilacetaldehida* crește foarte mult după fermentația alcoolică în vinurile produse din struguri botritizați [34], un conținut mai ridicat în unele vinuri poate fi rezultatul producerii acestora din astfel de struguri.

În ceea ce privește conținutul de *cetone* se observă diferențe notabile între valorile obținute în două podgorii din aceeași regiune, ceea ce ne conduce la gândul că procesul de vinificație a avut o influență majoră. În ceea ce privește evoluția temporală, deși în anumite cazuri se observă o creștere a conținutului de *cetone* cu cât vinul este mai vechi, în altele, acesta este aproape constant sau se observă chiar o involuție, fapt care poate întări ideea menționată anterior.

Un comportament diferit a fost observat în cazul terpenei investigate, *acetil carena*, nivelul acesteia părând a depinde într-o mai mare măsură de condițiile geo-climatice decât de condițiile de procesare.

Prin urmare credem că, comportamentul atât de divers al compușilor volatili va putea fi utilizat pe viitor pentru stabilirea unor criterii de diferențiere a vinurilor în funcție de proveniența geografică, de condițiile climatice sau de tehnologia de vinificație, în urma unui studiu susținut efectuat de-a lungul anilor și prin dezvoltarea unei baze de date la nivel național și integrarea unui astfel de proiect cu cele deja demarate la nivel european și chiar mondial.



---

Determinarea prin spectrometrie de masă pentru rapoarte izotopice  
a compoziției izotopice a vinurilor

---

## 2.1 Determinarea raportului izotopic de oxigen $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ din probe de vinuri albe

În acest studiu au fost investigate 27 probe de vinuri albe comerciale din patru cele mai importante regiuni viticole din România: Oltenia (podgoriile Opreșor și Vânu-Mare), Muntenia (podgoriile Cramele Halewood și Ceptura), Moldova (podgoria Huși) și Transilvania (podgoria Jidvei). Soiurile alese de vin au fost *Sauvignon Blanc*, *Feteasca Albă* și *Riesling* din trei ani consecutivi: 2008, 2009 și 2010 (Tabelul 2.1).

### 2.1.1 Prepararea probelor pentru analiza izotopică a $^{18}\text{O}$

Prepararea probelor în vederea analizei  $^{18}\text{O}$  din vin s-a realizat folosind metoda echilibrării izotopice dintre  $\text{CO}_2$  și apa din vinul de analizat.

Echilibrarea s-a făcut introducând 5 ml din proba de vin într-o fiolă și înghețând-o la  $-80^\circ\text{C}$ . După eliminarea aerului din fiolă, s-a introdus  $\text{CO}_2$  de înaltă puritate, și cu compoziție izotopică cunoscută, la o presiune puțin sub cea atmosferică ( $\approx 600$  torr). Fiolele ce conțin probe de vin și dioxid de carbon au fost apoi introduse într-o baie termostată prevăzută cu sistem de agitare a probelor la o temperatură de  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ , timp de 24 ore. După reacția de echilibrare,  $\text{CO}_2$  conținut în fiolă s-a extras și purificat criogenic, apoi s-a măsurat valoarea  $\delta^{18}\text{O}$ .

### 2.1.2 Măsurarea raportului izotopic $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$

Măsurătorile rapoartelor izotopice  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  au fost efectuate în cadrul *Departamentului de spectrometrie de masă, cromatografie și fizică aplicată* din cadrul INCDTIM, Cluj-Napoca utilizând un spectrometru, *Delta V Advantage* (ThermoFinnigan, Bremen, Germany), folosind metoda "Dual Inlet".

Măsurarea rapoartelor izotopice  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  au fost efectuate față de un standard de laborator (apă) ce a fost anterior calibrat folosind un material de referință (apă) având valoarea izotopică cunoscută,  $\delta^{18}\text{O}_{VSMOW} = -1.52\text{‰}$ . Valoarea acestora a fost exprimată folosind notația,  $\delta^{18}\text{O}$ , astfel [35]:

$$\delta^{18}\text{O} = \frac{R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \times 1000 \quad (2.1)$$

unde,  $R_{\text{sample}}$  și  $R_{\text{standard}}$  reprezintă raportul izotopic  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  al probei și al dioxidului de carbon folosit drept referință. Reproducibilitatea măsurătorilor a fost 0.3 ‰.

Valorile  $\delta^{18}\text{O}$  pentru probele de *vin alb* investigate prin spectrometrie de masă pentru rapoarte izotopice sunt prezentate în Tabelul 2.1.

Diferențele izotopice care apar în cadrul aceleiași sortiment de vin, produs în aceeași podgorie, dar în ani de producție diferiți, sunt datorate condițiilor meteorologice ce au caracterizat anii respectivi. De exemplu, în cazul sortimentului *Sauvignon Blanc* în podgoria I din *Oltenia*, valoarea  $\delta^{18}\text{O}$  variază de la 3.7 ‰(2008) la 1.1 ‰(2009) respectiv 1.6 ‰(2010). Aceste diferențe sunt datorate mai ales cantităților diferite de precipitații care au căzut în acești ani, acestea influențând compoziția izotopică  $\delta^{18}\text{O}$  într-o măsură mai mare decât variațiile de temperatură din anii respectivi.

Soiurile de vin investigate din regiunea *Munteniei* au fost: *Sauvignon Blanc*, *Fetească Albă* și *Riesling* evoluția valorilor măsurate fiind reprezentată în figura 2.1. În această regiune cele mai scăzute valori  $\delta^{18}\text{O}$  au fost obținute pentru vinurile produse în anul 2010. În schimb anul 2009 a prezentat în majoritatea cazurilor valorile  $\delta^{18}\text{O}$  cele mai ridicate, anul 2008 având valori medii destul de omogene în toate podgoriile investigate. Acest comportament se poate datora faptului că, condițiile climatice (temperatura, umiditatea, cantitatea de precipitații) au diferit, anul 2010 fiind unul mai ploios în regiunea Munteniei, în timp ce anul 2009 a fost mai cald și secetos.

Dacă analizăm două sortimente de vin, *Sauvignon Blanc* și *Riesling*, provenind din aceeași podgorie a regiunii *Oltenia*, a căror valori  $\delta^{18}\text{O}$  sunt reprezentate în figura 2.2, se observă același trend al variației  $\delta^{18}\text{O}$  de la un an la altul și, în plus, valorile pentru vinurile produse în același an sunt foarte apropiate. Aceste valori comparabile par a



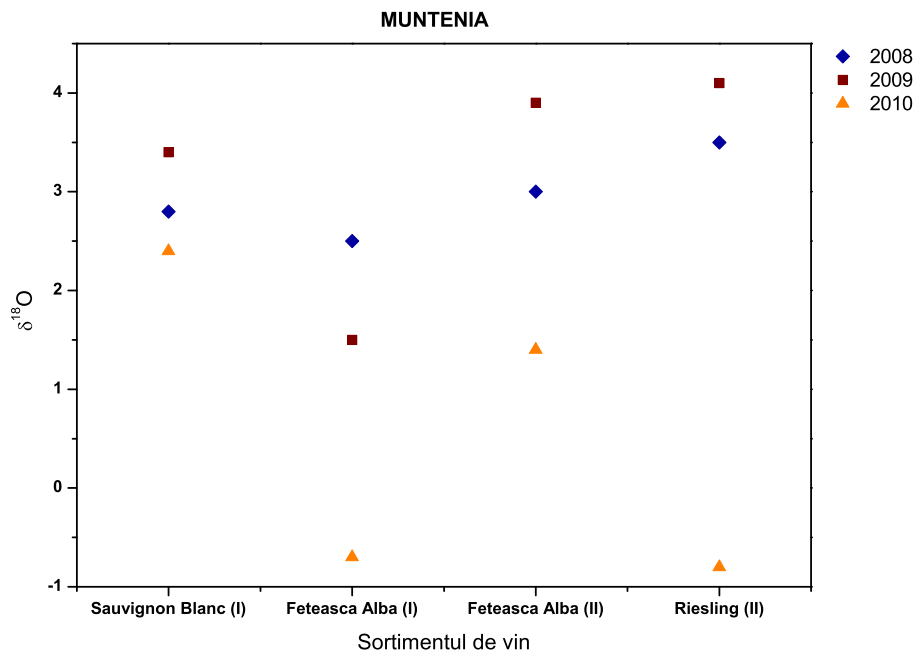
**Tabelul 2.1** Valorile  $\delta^{18}O$  pentru probele de vin alb investigate în trei ani consecutivi.

Nr. crt.	Sortimentul	Cod	Regiunea viticolă	An de producție	$\delta^{18}O$ [‰]
1	Sauvignon Blanc	SBPV	Muntenia (Podgoria I) (Cramele Halewood, Dealurile Munteniei)	2008	2.8
2		SBPV		2009	3.4
3		SBPV		2010	2.4
4		SBO	Oltenia (Podgoria I) (Oprisor, Dealurile Olteniei)	2008	3.7
5		SBO		2009	1.1
6		SBO		2010	1.6
7		SBCS	Oltenia (Podgoria II) (Mehedinți, Vânju-Mare)	2008	1.7
8		SBCS		2009	2.1
9		SBCS		2010	1.1
10	Fetească Albă	FAH	Moldova (Dealurile Hușilor)	2008	4.2
11		FAH		2009	-0.6
12		FAH		2010	0.4
13		FACH	Muntenia (Podgoria I) (Cramele Halewood, Dealurile Munteniei)	2008	2.5
14		FACH		2009	1.5
15		FACH		2010	-0.7
16		FASC	Muntenia (Podgoria II) (Ceptura, Dealurile Munteniei)	2008	3.0
17		FASC		2009	3.9
18		FASC		2010	1.4
19	Riesling	RSC	Muntenia (Podgoria II) (Ceptura, Dealurile Munteniei)	2008	3.5
20		RSC		2009	4.1
21		RSC		2010	-0.8
25		RCS	Oltenia (Podgoria II) (Mehedinți, Vânju-Mare)	2008	1.3
26		RCS		2009	1.8
27		RCS		2010	1.1
22		DRJ	Transilvania (Jidvei)	2008	1.7
23		DRJ		2009	-1.2
24		DRJ		2010	1.8

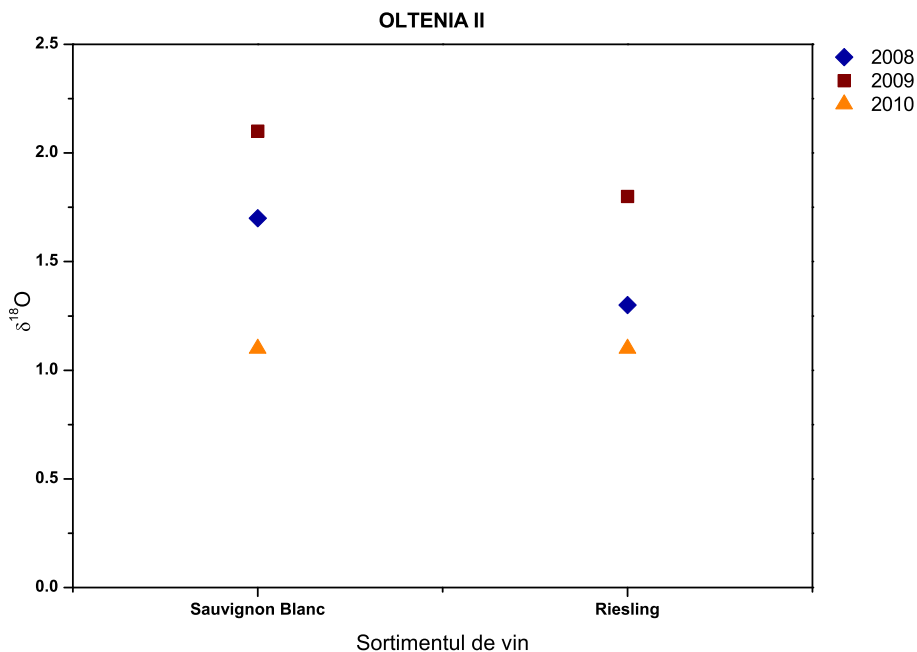
sugera faptul că izotopii oxigenului sunt parametri mai eficienți pentru stabilirea originii geografice decât pentru identificarea sortimentului de vin.

## 2.2 Determinarea raportului izotopic de oxigen $^{18}O/^{16}O$ din probe de vinuri roșii

În decursul acestei analize au fost investigate 27 de vinuri roșii comerciale, provenind din patru cele mai importante regiuni viticole ale României: *Banat* (podgoria Recaș),



**Figura 2.1** Influența sortimentului de vin asupra valorilor  $^{18}O$  obținute din aceeași regiune.



**Figura 2.2** Influența sortimentelor de vin asupra valorii  $^{18}O$  din aceeași podgorie.

*Oltenia* (podgoriile Vânju-Mare și Oprișor), *Muntenia* (podgoria Dealu Mare cu centrele viticole: Urlați, Ceptura, Zorești) și Dobrogea (podgoria Babadag). Sortimentele de vin alese în acest studiu au fost: *Merlot*, *Cabernet Sauvignon* și *Fetească Neagră* din trei ani consecutivi 2006, 2007 și 2008 (Tabelul 2.2).

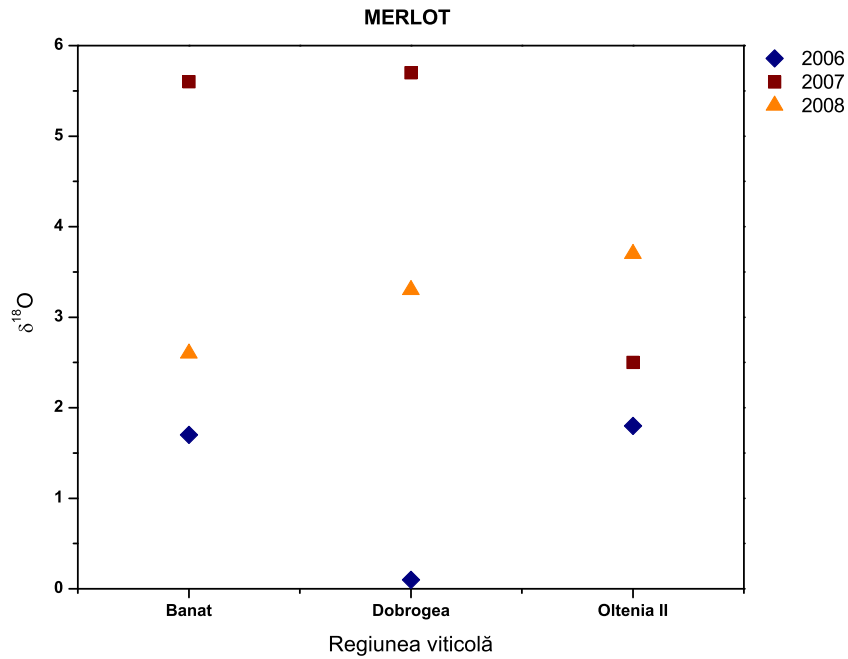
Prepararea probelor și măsurarea rapoartelor izotopice de oxigen s-a realizat conform metodelor descrise la paragrafele anterioare, 2.1.1, respectiv 2.1.2.

Tabelul 2.2 prezintă valorile  $\delta^{18}O$  ale vinurilor investigate din trei ani consecutivi, 2006, 2007 și 2008.

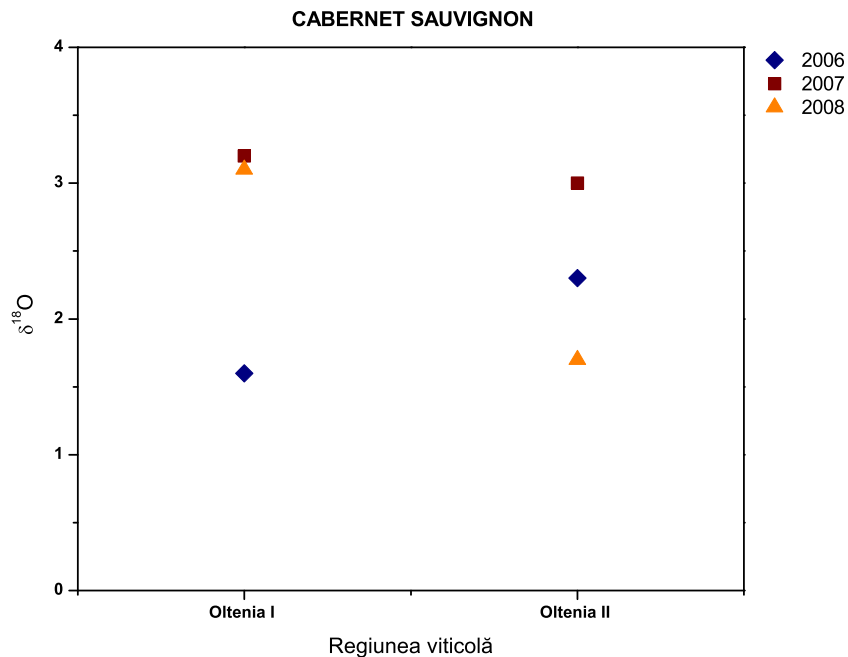
**Tabelul 2.2** Valorile  $\delta^{18}O$  obținute pentru vinurile roșii investigate.

Nr. crt.	Sortimentul	Cod	Regiunea viticolă	An de producție	$\delta^{18}O$ [%]
1	Merlot	MR	Banat (Recaș, Viile Timișului)	2006	1.7
2		MR		2007	5.6
3		MR		2008	2.6
4		Dobrogea (Ceptura, Colinele Dobrogei)	MVC	2006	0.1
5			MVC	2007	5.7
6			MVC	2008	3.3
7		Oltenia (Podgoria II) (Vânju-Mare, Mehedinți)	MPM	2006	1.8
8			MPM	2007	2.5
9			MPM	2008	3.7
10	Cabernet Sauvignon	CSURL	Muntenia (Podgoria III) (Dealu-Mare, Urlați)	2006	0.5
11		CSURL		2007	2.6
12		CSURL		2008	2.6
13		Oltenia (Podgoria I) (Oprisor, Dealurile Olteniei)	CSO	2006	1.6
14			CSO	2007	3.2
15			CSO	2008	3.1
16		Oltenia (Podgoria II) (Vânju-Mare, Mehedinți)	CSVN	2006	2.3
17			CSVN	2007	3
18			CSVN	2008	1.7
19	Fetească Neagră	FNSC	Muntenia (Podgoria II) (Ceptura, Dealurile Munteniei)	2006	0.9
20		FNSC		2007	1.7
21		FNSC		2008	2.7
22		Muntenia (Podgoria III) (Dealu-Mare, Urlați)	FNURL	2006	0.3
23			FNURL	2007	2
24			FNURL	2008	1.5
25		Muntenia (Podgoria IV) (Dealu-Mare, Zorești, Buzău)	FNDM	2006	1.1
26			FNDM	2007	2.1
27			FNDM	2008	3.6

Pentru sortimentul de vin *Merlot* se observă că valorile  $\delta^{18}O$  obținute în regiunile Banat și Dobrogea sunt mai mari în 2007 comparativ cu cele din 2006 și 2008 (Figura 2.3). Aceste valori sunt cu siguranță datorate climatului excesiv de cald și uscat din anul 2007 [36], scăzut în precipitații, 479.02 l/mp, și cu valori termice peste mediile multianuale încă din decursul lunii mai până la mijlocul lunii septembrie [37]. De asemenea, valoarea  $\delta^{18}O$



**Figura 2.3** Variația de la an la an a valorilor  $\delta^{18}O$  ale sortimentului Merlot din diferite regiuni.



**Figura 2.4** Compararea valorilor  $\delta^{18}O$  obținute pentru sortimentul Cabernet Sauvignon în două podgorii din regiunea Oltenia.

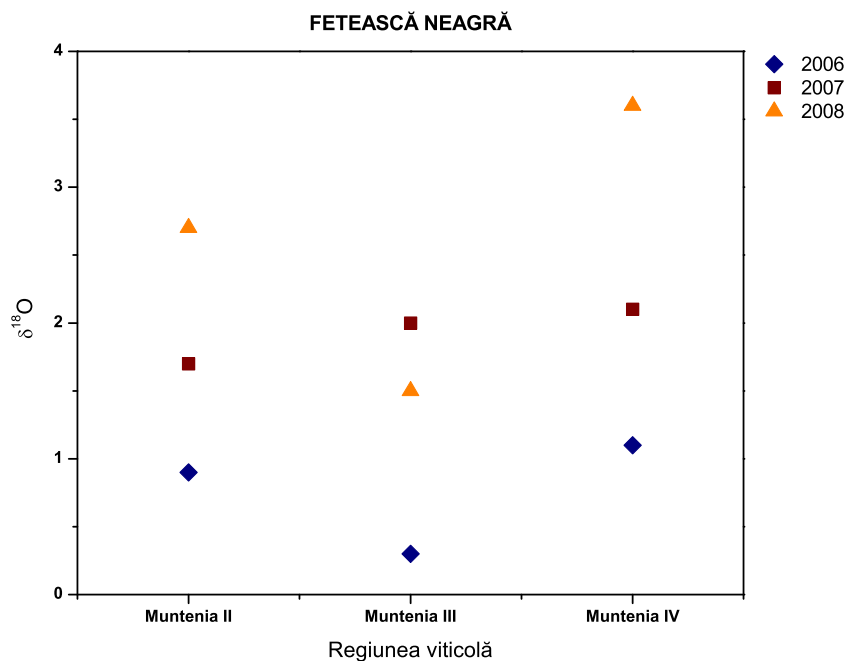
pentru vinul *Merlot* produs în Dobrogea este mult mai mare în comparație cu valoarea izotopică caracteristică aceluiași vin din 2006. Anul 2008 a fost, de asemenea, un an cald, dar nu atât de lipsit de precipitații, cantitatea acestora fiind mai importantă, 666.2

l/mp [37], decât cea din anul 2007, iar regimul termic mediu a fost de  $1.4^{\circ}\text{C}$  peste normala climatologică comparativ cu 2007, an în care regimul termic a fost cu  $1.6\text{-}2^{\circ}\text{C}$  mai ridicat, acest lucru fiind reflectat în valori mai mici decât în 2007 [38].

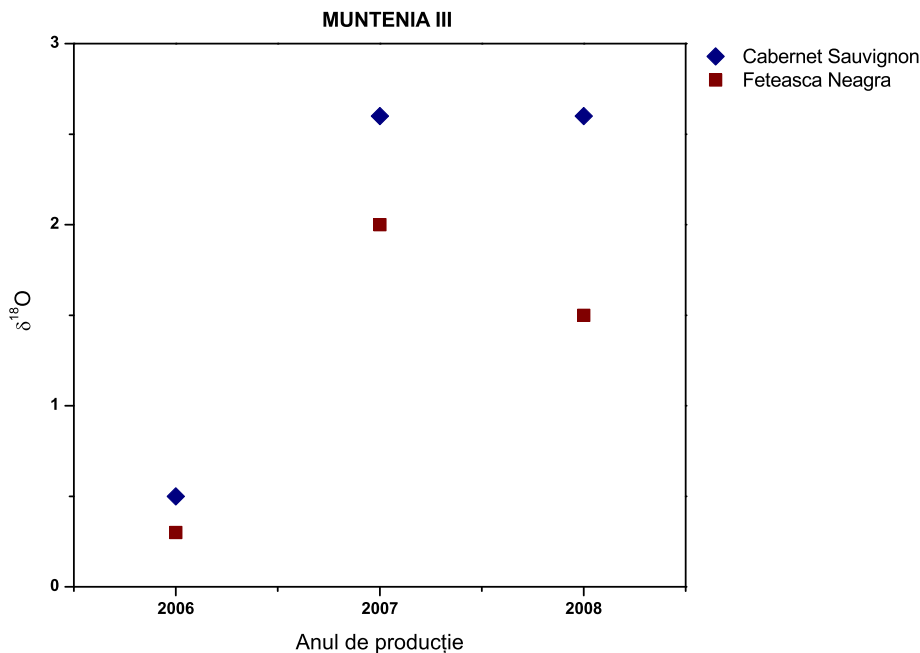
Valorile  $\delta^{18}\text{O}$  mai mici obținute în anul 2006 sunt, de asemenea, o consecință a condițiilor meteorologice care au predominat în acest an. Astfel, anul 2006 a fost un an ploios, fapt care a fost direct legat de gradul de evapo-transpirație și, prin urmare, gradul de îmbogățire a  $\delta^{18}\text{O}$  a fost mai mic. Rezultatele raportate de *J. Dunbar* (1982) au arătat faptul că îmbogățirea în  $\delta^{18}\text{O}$  a apei din suc de struguri se datorează procesului fizic de evapo-transpirație, care este direct legat de temperatura și umiditatea aerului înconjurător viței-de-vie în timpul sezonului de creștere [39].

Pentru sortimentul *Cabernet Sauvignon* din cele două podgorii ale *Olteniei*, valorile izotopice obținute au fost comparabile în cei trei ani de producție conform figurii 2.4. Diferențele izotopice mici care apar pot fi cauzate de diferite tipuri de sol, care implică retenție diferită a apei.

În figura 2.5 am reprezentat valorile  $\delta^{18}\text{O}$  obținute pentru sortimentul de vin *Fetească Neagră* (o varietate românească veche, predominantă în Moldova și Muntenia), produse în cele trei centre din podgoria Dealu-Mare aflate pe teritoriul a două județe (Prahova și Buzău).



**Figura 2.5** Compararea valorilor  $\delta^{18}\text{O}$  obținute pentru sortimentul *Fetească Neagră* în podgoriile din regiunea Muntenia.

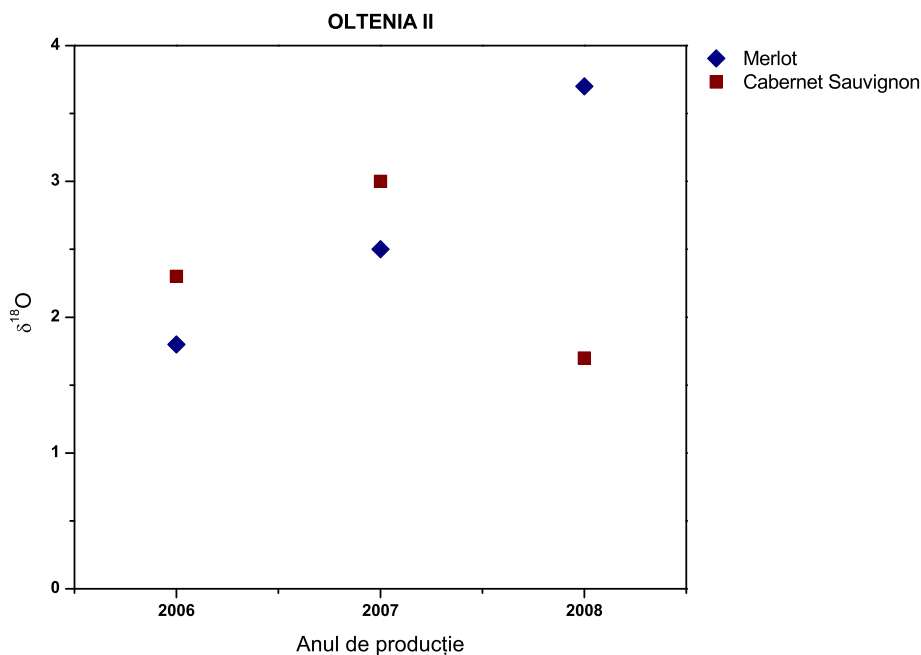


**Figura 2.6** Influența sortimentului de vin asupra valorii  $^{18}O$ .

Observăm că cele mai mari valori s-au obținut pentru vinul produs în podgoria IV. Acesta s-ar putea datora faptului că podgoria IV este situată într-un alt județ, la o distanță de aproximativ 50 km de celelalte două, astfel că tipul solului și condițiile meteorologice specifice acestei podgorii (microclimatul) sunt probabil diferite. O evoluție similară a valorilor  $\delta^{18}O$  în funcție de ani de producție se poate remarca, de asemenea, și pentru vinurile din podgoria II.

O comparație între vinurile *Cabernet Sauvignon* și *Fetească Neagră* produse în podgoria III din Muntenia arată faptul că valorile  $\delta^{18}O$  obținute pentru cele două sortimente de vin sunt destul de asemănătoare (Figura 2.6). Acest lucru este probabil consecința faptului că raportul izotopic oxigen depinde în special de condițiile climatice și geografice în care a crescut și s-a dezvoltat planta și într-o măsură mai mică de metabolismul fotosintetic al plantelor, deci, în consecință, de sortimentul de struguri [40].

Aceeași situație se observă pentru sortimentele *Cabernet Sauvignon* și *Merlot* din podgoria *Oltenia*, în anii 2006 și 2007, după cum putem observa în figura 2.7. Evoluția diferită observată în anul 2008 ar putea fi cauzată de perioada de recoltare strugurilor și de condițiile meteorologice din timpul recoltării. Pentru vinurile roșii de înaltă calitate recoltarea strugurilor se face când se atinge maturitatea deplină, respectiv maturitatea fenolică. Calitatea vinurilor roșii se află într-o stânsă corelație cu evoluția calitativă a compoziției pielii (compuși fenolici, arome), analiza maturării fenolice fiind singura modalitate de a evalua corect data optimă de recoltare a strugurilor. Comparativ cu sortimentul



**Figura 2.7** Influența sortimentului de vin asupra valorii  $^{18}O$ .

*Merlot*, *Cabernet Sauvignon* suportă mai ușor supramaturarea și ca urmare a pierderilor mai reduse de antociani, poate fi recoltat într-un interval mai mare de timp [41].

În tabelul 2.3 prezentăm un studiu comparativ din punct de vedere a raportului izotopic de oxigen între *vinurile albe* și cele *roșii*. În acest sens am ales sortimente de vin albe și roșii provenind din aceeași podgorie și același an de producție.

**Tabelul 2.3** Valorile  $\delta^{18}O$  pentru *vinurile albe* și pentru cele *roșii* provenite din anul 2008 din diferite podgorii.

Nr. crt.	Sortimentul	Tipul de vin	Regiunea viticolă	An de producție	$\delta^{18}O$ [%]
1	Sauvignon Blanc	alb	Oltenia (Podgoria I) (Oprisor, Dealurile Olteniei)	2008	3.7
2	Cabernet Sauvignon	roșu			3.1
3	Sauvignon Blanc	alb	Oltenia (Podgoria II) (Vânju-Mare, Mehedinți)	2008	1.7
4	Riesling	alb			1.3
5	Cabernet Sauvignon	roșu			1.7
6	Merlot	roșu			3.7
7	Fetească Albă	alb	Muntenia (Podgoria II) (Ceptura, Dealurile Munteniei)	2008	3.0
8	Riesling	alb			3.5
9	Fetească Neagră	roșu			2.7

Astfel, se poate observa că podgoria I din Oltenia și podgoria II din Muntenia prezintă valori  $\delta^{18}O$  în jur de 3‰, în timp ce în podgoria II din Oltenia s-a obținut o valoare de aproximativ 2‰. Se observă și de această dată că, compoziția izotopică a oxigenului este

influențată, în principal de locația în care au crescut strugurii (originea geografică) nefiind influențată în mare măsură de soiul de strugure. Excepție face sortimentul de vin *Merlot* care în podgoria II din Oltenia prezintă cea mai mare valoare, 3.7‰, probabil datorată după cum menționam, perioadei de recoltare a strugurilor și condițiilor meteorologice din timpul acesteia.

## 2.3 Concluzii

În acest studiu au fost investigate din punct de vedere al raportului de oxigen izotopic 54 de vinuri comerciale (27 albe și 27 roșii) din cele mai importante regiuni viticole din România. Dacă, în cazul *vinurilor albe*, valorile minime  $\delta^{18}O$  au fost obținute în anul 2010, pentru *vinurile roșii* valorile minime s-au obținut în anul 2006. În ambele cazuri aceste valori se datorează condițiilor meteorologice similare, în principal cantității mari de precipitații și temperaturilor apropiate de valorile normale. Anii mai secetoși 2007, 2008 și 2009, s-au reflectat direct în valori izotopice specifice  $\delta^{18}O$  foarte mari. Compoziția izotopică de oxigen este în principal influențată de geo-climat și într-un mod mai redus de soiul de strugure.



---

## Analiza vinurilor prin spectrometrie de masă cu plasmă cuplată inductiv (ICP-MS)

---

### 3.1 Analiza ICP-MS

Toate măsurătorile efectuate au fost realizate cu un spectrometru de masă cu plasmă cuplată inductiv de tip *Perkin-Elmer Elan DRC(e)*, echipat cu un nebulizator *Meinhard* și cu o cameră de pulverizare ciclonică. Condițiile experimentale au fost: fluxul de argon din nebulizator - 0.86 l/min; fluxul gazului auxiliar - 1.2 l/min; fluxul de argon din plasmă - 15 l/min; potențialul lentilei - 7.25 V; puterea de RF în plasma - 1100 W;  $CeO/Ce = 0.027$ ;  $Ba^{++}/Ba^+ = 0.025$ .

Analiza a fost realizată utilizând o metodă semicantitativă disponibilă în software-ul spectrometrului ICP-MS, denumit *Total Quant III*. Această metodă este utilizată pentru a explora întreg domeniul de mase, excluzând numai masele din jurul oxigenului și argonului unde ar putea apărea saturarea semnalului. Domeniul de mase explorat a fost  $m/z = 6 - 14$ ,  $m/z = 22 - 37$  și  $m/z = 40 - 238$ . Inițial s-a determinat semnalul de fond generat de spectrometru (blank) prin aspirarea de apă ultrapură. Ulterior, utilizând o calibrare externă s-a măsurat o soluție de concentrație cunoscută de 10  $\mu\text{g/L}$  *Mg, Rh, Pb, Cu, Cd, In, Ba, Ce, U* în 1%  $HNO_3$  (Atomic Spectroscopy Standard, Perkin Elmer), identificându-se elementele în soluția de calibrare. Au fost determinate intensitățile pentru fiecare dintre acestea și s-a calculat răspunsul spectrometrului comparând valorile concentrațiilor măsurate cu cele specificate.

## 3.2 Pregătirea probelor

Prepararea probelor de vin pentru analiza ICP-MS constă în mineralizarea și diluția acestora, pentru a evita obturarea nebulizatorului. Pentru măsuratori, urmând o metodă descrisă de *W. Diegor și colab.* [42], 2.5 ml acid azotic ultrapur au fost adăugați la 2.5 ml de vin într-un recipient de Teflon care ulterior a fost închis ermetic. Șase astfel de recipiente au fost inserate într-un dispozitiv format din șase cilindrii din oțel inoxidabil montați între două flanșe, asigurându-se un blindaj rezistent la presiune. Întreg sistemul a fost introdus într-o etuvă la 200°C timp de 12 ore. În urma acestui tratament au rezultat soluții incolore peste care s-a adăugat apă ultrapură și s-a adus la semn până la un volum de 50 ml, probele fiind diluate 1:20 v/v.

## 3.3 Rezultate experimentale

În studiul nostru utilizând spectrometrul ICP-MS au fost măsurate concentrațiile a 27 metale pentru 54 probe de vin comerciale (27 probe de vin alb și 27 de probe de vin roșu). Metalele analizate au fost: *Na, Mg, K, Ca, Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Ti, V, Co, Cu, Zn, As, Mo, Cs, Ba, W, Pb, Cd, La, Ce, Au, Hg, Sr* și *Rb*.

În funcție de concentrația lor în vin aceste elemente se împart în trei grupe: *macroelemente* sau *elemente majore* (*Na, Mg, K* și *Ca*) având concentrația > 10 mg/L; *microelemente* sau *oligoelemente* (*Al, Cu, Fe, Mn, Zn, Rb, Sr* etc) cu concentrații în intervalul 0.1-10 mg/L și *elemente în urme* (*Pb, Cd, Cs, etc.*) ale căror concentrații sunt sub 0.1 mg/L [43, 44].

Concentrațiile maxim admise în vinuri pentru metalele toxice sunt precizate în Hotărârea nr. 1134 din 10 octombrie 2002 pentru aprobarea Normelor metodologice de aplicare a Legii viei și vinului în sistemul organizării comune a pieței vitivinicole, nr. 244/2002 [45]. În cazul tuturor probelor de vin analizate în această lucrare conținutul de metale toxice se încadrează în limitele maxime admise de legislația în vigoare.

În Figurile 3.1 și 3.2 este prezentată distribuția elementelor majore în probele de vin investigate, albe respectiv roșii.

Dintre elementele majore, *potasiul* a prezentat cele mai mari concentrații, urmat de *magneziu, calciu* și *sodiu*, valori în concordanță cu datele din literatură [44, 46, 47]. Deși valorile medii în cele două tipuri de vinuri studiate (albe și roșii) diferă, după cum se va constata în cele ce urmează, această ordine se păstrează.

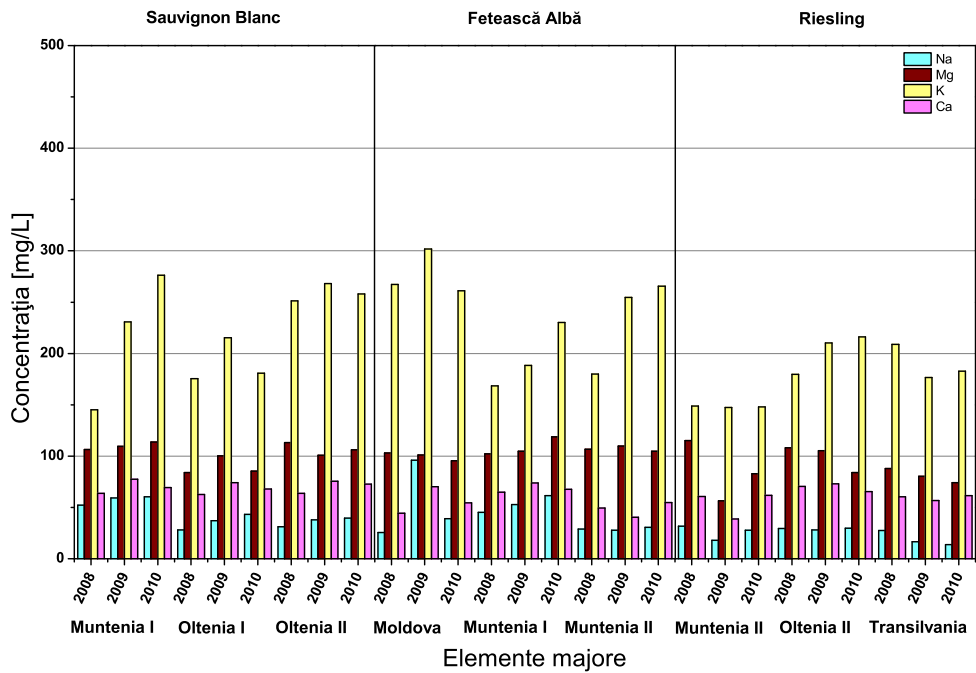


Figura 3.1 Distribuția elementelor majore în vinurile albe.

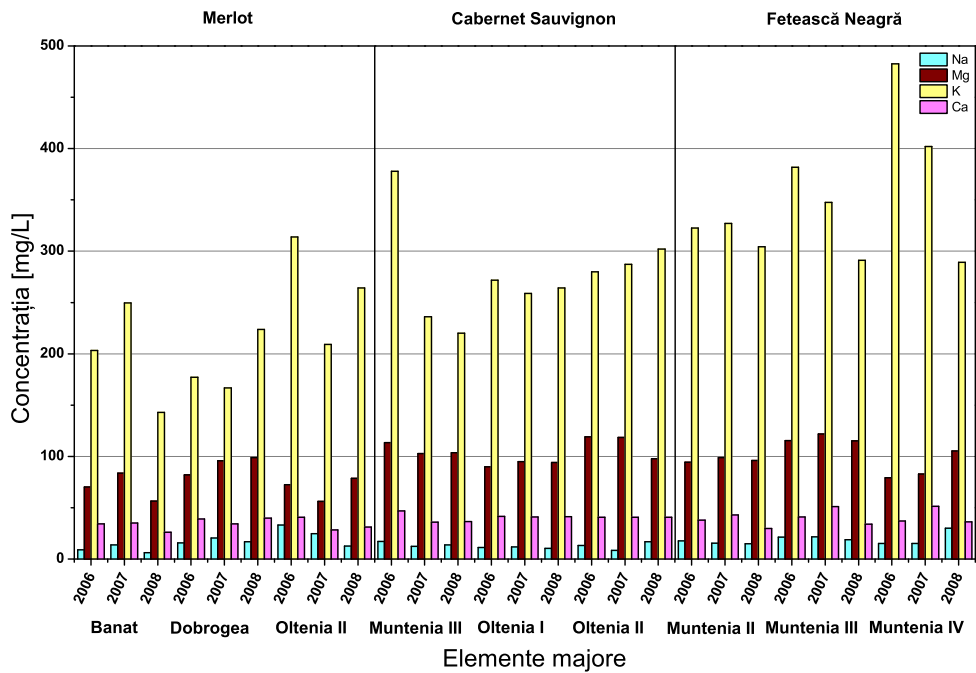


Figura 3.2 Distribuția elementelor majore în probele de vin roșu.

Pentru a avea o vedere de ansamblu, pe care încercăm să o detaliem, în tabelul 3.1 este prezentată media corespunzătoare elementelor majore determinate în toate probele de vinuri măsurate precum și valorile minime și maxime.

**Tabelul 3.1** Concentrația elementelor majore în vinurile studiate.

Element	Valoare minimă [mg/L]	Valoare maximă [mg/L]	Valoare medie [mg/L]
<b>VINURI ALBE</b>			
Na	13.84	95.88	37.73
Mg	56.38	118.68	98.52
K	145.22	301.84	212.46
Ca	38.74	77.36	62.77
<b>VINURI ROȘII</b>			
Na	6.04	33.1	16.2
Mg	56.08	121.96	93.94
K	142.76	482.56	281.36
Ca	26.18	51.46	38.37

Făcând o comparație între *vinurile albe* și cele *roșii* din punct de vedere al conținutului în elemente majore se observă că în vinurile albe s-au găsit concentrații mai ridicate de *Na* și *Ca*, în timp ce *K* au fost mai abundente în vinurile roșii. *Mg*, fiind ionul central al inelului porfirinic din structura clorofilei, apare în concentrații similare în ambele tipuri de vinuri. Valorile mai ridicate de *Na* și *Ca* obținute în cazul *vinurilor albe* sunt probabil cauzate și de faptul că acestea sunt mai “tratate” chimic pentru limpezire.

Elementele considerate a fi de interes special datorită efectului acestora asupra proprietăților organoleptice ale vinului, denumite *micro-elemente*, cum ar fi *Fe*, *Al*, *Mn*, *Zn* și *Cu* apar în vin în concentrații mai scăzute.

Media totală a valorilor concentrațiilor acestor elemente obținute pentru *vinurile albe* investigate a fost de: 1.42 mg/L pentru *Fe*, 0.94 mg/L pentru *Al*, 0.82 mg/L pentru *Mn*, 0.32 mg/L pentru *Zn* și 0.1 mg/L pentru *Cu*, iar pentru *vinurile roșii* mediile totale au fost: 2.83 mg/L pentru *Fe*, 1.51 mg/L pentru *Al*, 0.93 mg/L pentru *Mn*, 0.87 mg/L pentru *Zn*, respectiv 0.11 mg/L pentru *Cu*. Se observă pentru toate oligo-elementele concentrații medii mai ridicate în cazul *vinurilor roșii*. Aceste valori se datorează, în primul rând, faptului că în cazul acestora tehnologia de vinificație presupune un contact mai îndelungat cu coaja strugurelui în timpul procesului de fermentație. După cum se va putea remarca în cele ce urmează, la nivel de podgorie, și alți factori de natură endogenă sau exogenă pot influența în mod esențial conținutul de fier sau, dacă gândim mai general, conținutul de metale în ansamblul său. Având în vedere ponderea mult mai scăzută a *cuprului* care, după cum se observă, se află la limita inferioară a grupei *micro-elementelor*, pentru o mai bună claritate a reprezentării grafice, îl vom trata în partea ulterioară, împreună cu grupa elementelor care apar în urme.

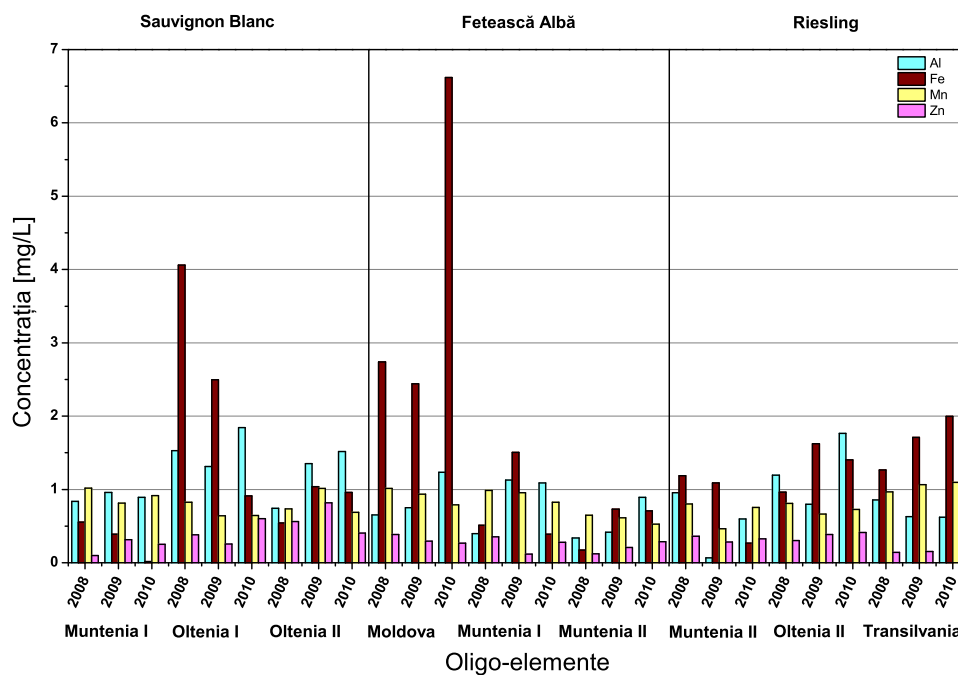


Figura 3.3 Distribuția principalelor oligo-elemente în probele de vin alb.

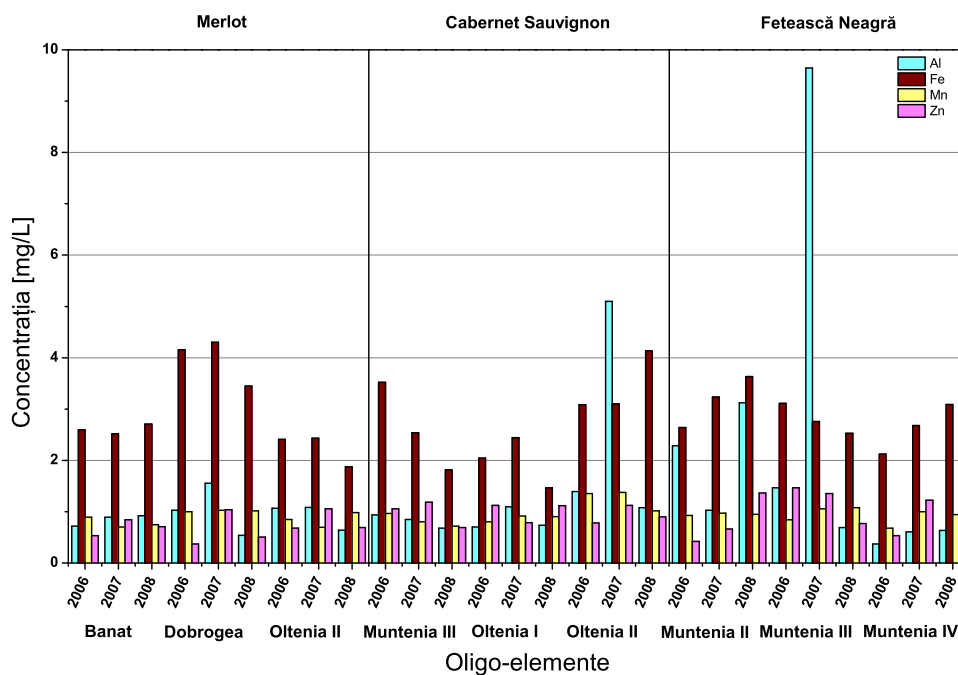


Figura 3.4 Distribuția principalelor oligo-elemente în probele de vin roșu.

În figurile 3.3 și 3.4 sunt reprezentate valorile concentrațiilor oligo-elementelor mai abundente în probele de vin analizate.

Considerând în cele ce urmează elementele de interes deosebit, *Zn*, *Ni*, *Cr*, *Cd*, *Pb*, *As*, în principal datorită toxicității lor în caz de exces [47], am observat în toate probele mă-

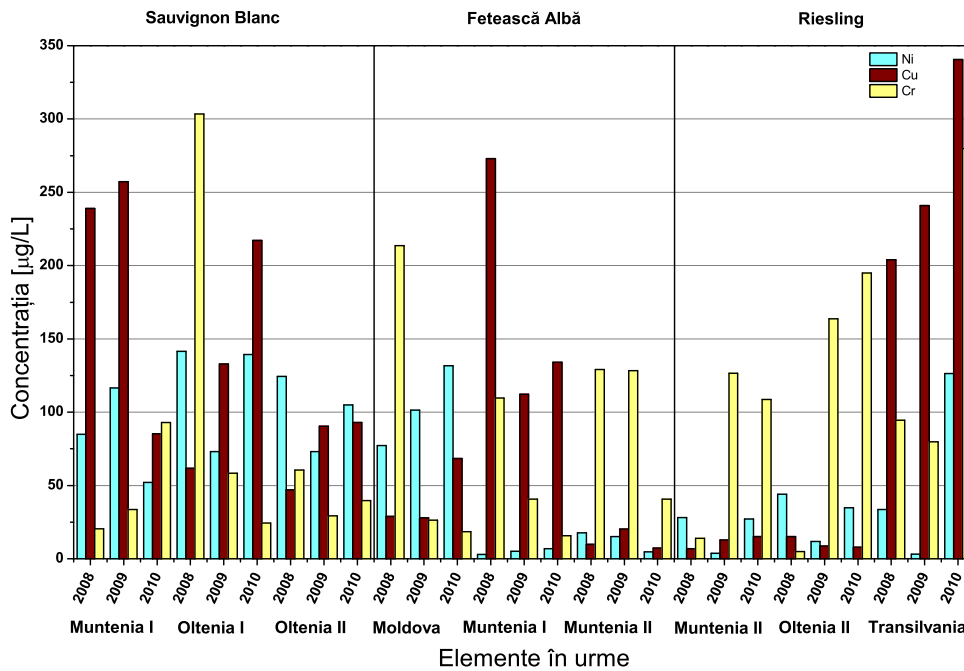


Figura 3.5 Distribuția elementelor Cu, Cr și Ni în probele de vin alb.

surate concentrații mult mai mici decât valorile limită. Nivelul relativ al acestor elemente în probele de vin alb și în cele de vin roșu sunt prezentate în figurile 3.5, 3.6, respectiv 3.7 și 3.8, cu excepția *zincului* reprezentat în graficele anterioare.

Prezența **arsenului** și a **cadmiului** a fost detectată în toate vinurile analizate. Valorile concentrațiilor de **As** în vinurile analizate s-au încadrat în domeniul  $<0.001-9.78 \mu\text{g/L}$ , excepție făcând doar câteva probe, unde au fost găsite concentrații mai mari. O posibilă explicație ar putea consta în faptul că, concentrația finală de *As* depinde atât de geochimia solului cât și de aplicarea de pesticide, fungicide și îngrășăminte care conțin compuși cu *As* și care poate duce la o creștere a cantității acestuia în sol și struguri și prin urmare în vin [44, 48].

Pentru **Cd** domeniul de concentrații a variat între  $<0.001-0.72 \mu\text{g/L}$ , în *vinurile albe* și între  $<0.001-1.06 \mu\text{g/L}$ , în *vinurile roșii*. În doar două probe de vin s-a găsit o concentrație mai ridicată, de  $2.78 \mu\text{g/L}$ , aceeași, într-o probă de vin roșu și respectiv într-una de vin alb. Cantitatea de *Cd* prezentă în vinuri poate fi datorată reziduurilor de produse agrochimice utilizate ca insecticide și fungicide care conțin cadmiu sau îngrășăminte fosfatice care au concentrații mai ridicate de *Cd* [48–51]. O cantitate mai semnificativă de *Cd* în vin se poate datora contactului cu aparatura utilizată în producție și în procesul de ambalare, precum și a produselor oenologice utilizate la fabricarea vinurilor [51].

În toate vinurile analizate conținutul de *Pb* a fost sub limita stabilită de legislația în vigoare, Legea 244/2002 [45], situându-se în intervalul  $2.26-48.3 \mu\text{g/L}$  în *vinurile albe* și în

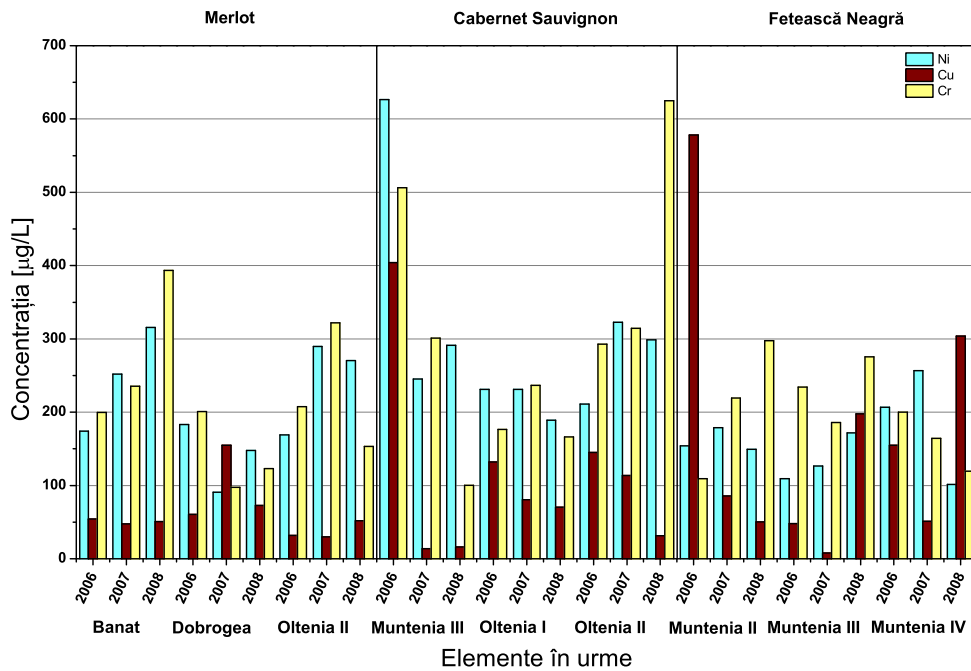


Figura 3.6 Distribuția elementelor Cu, Cr și Ni în probele de vin roșu.

intervalul  $4.34-34.16 \mu\text{g/L}$  în cele roșii, excepție făcând o singură probă, unde concentrația măsurată a fost de aproximativ  $161 \mu\text{g/L}$ , valoare apropiată de cea maximă admisă,  $200 \mu\text{g/L}$ . Conținutul de *Pb* în vin poate crește ca urmare a coroziunii metalelor sau aliajelor folosite în pivnițele de vinuri [47], dar și datorită aplicării de pesticide, fungicide și îngrășăminte în timpul perioadei de dezvoltare a stugurilor [43].

În Tabelul 3.2 prezentăm un studiu comparativ din punct de vedere al conținutului în metale între *vinurile albe* și cele *roșii*. Din analiza datelor obținute s-a dovedit că în general probele de *vin roșu* au avut un conținut de metale semnificativ diferit față de cele de *vin alb*. Astfel, concentrațiile de *Ba*, *Mn*, *Fe*, *Al*, *Zn*, *Ni*, *Cr*, *Sr* și *Rb* sunt în general mai mari în *vinurile roșii* iar cele de *V* și *Ti* sunt în general mai mari în probele de *vin alb*, rezultate aflate în concordanță cu datele din literatură [47, 52]. De asemenea, constatăm faptul că, *vinurile roșii* au concentrații medii mai mari de oligo-elemente decât cele albe. Prin urmare, opinia conform căreia concentrația acestora este mai mare în *vinurile roșii* decât în *vinurile albe*, ca urmare a contactului mai îndelungat cu coaja strugurelui în procesul de vinificație, este susținută și de datele noastre.

### 3.4 Concluzii

Utilizând tehnica ICP-MS au fost analizate 54 probe de vin comerciale, 27 probe de vin alb și 27 de probe de vin roșu. Toate probele de vin măsurate conțin metale

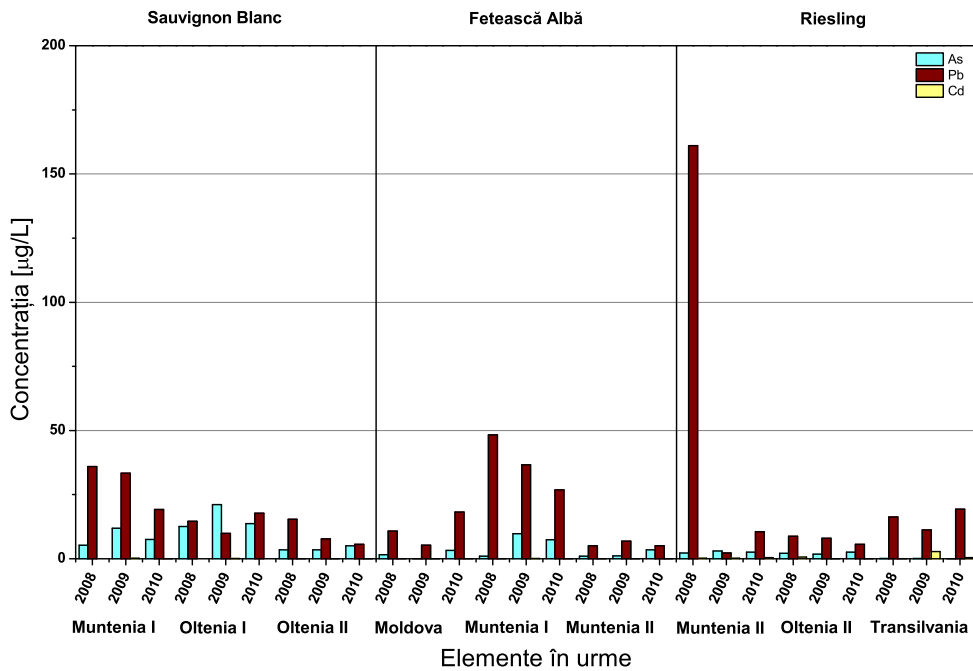


Figura 3.7 Distribuția urmelor de metale în probele de vin alb.

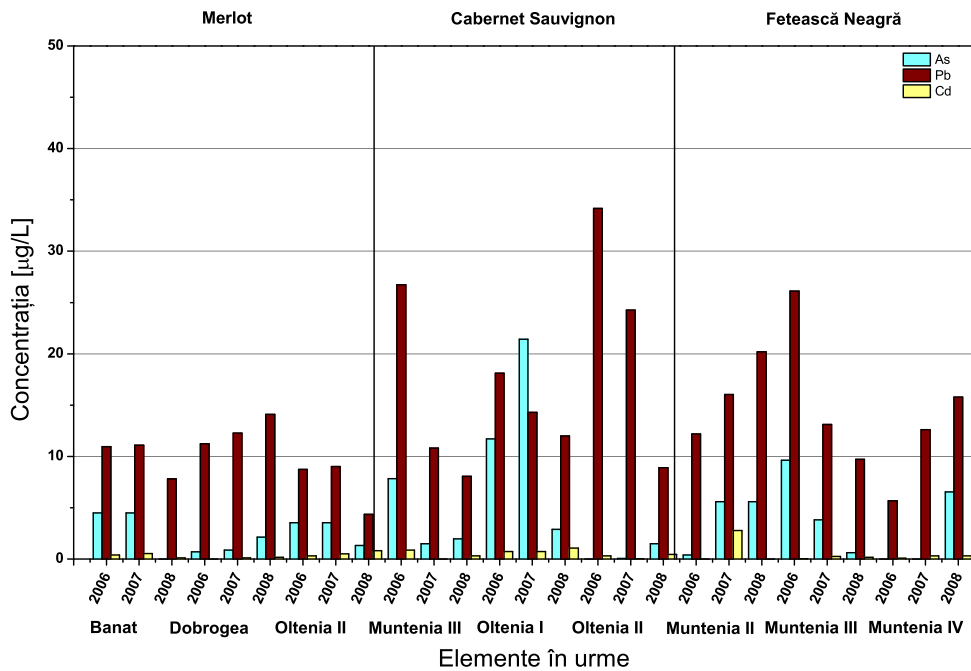


Figura 3.8 Distribuția urmelor de metale în probele de vin roșu.

toxice în cantități sub limitele stabilite de legislația în vigoare, respectiv de *Organizația Internațională a Viei și Vinului* (O.I.V.).

Măsurătorile ICP-MS arată un conținut important de metale în vinurile luate în studiu. Intervalele relativ mari de variație a valorilor acestora în probele de vin analizate au



**Tabelul 3.2** Concentrațiile medii pentru cele mai importante metale.

Element	Valoare minimă [ $\mu\text{g/L}$ ]	Valoare maximă [ $\mu\text{g/L}$ ]	Valoare medie [ $\mu\text{g/L}$ ]
<b>VINURI ALBE</b>			
<b>Ba</b>	76.58	311.46	141.81
<b>Mn</b>	465.38	1095.48	812.99
<b>Fe</b>	14.94	6620.1	1418.02
<b>Ni</b>	3.02	139.3	58.72
<b>Cr</b>	4.88	303.4	90.8
<b>Al</b>	67.14	1843.3	939.35
<b>Zn</b>	99.48	818.56	316.62
<b>Sr</b>	134.98	588.4	222.12
<b>Rb</b>	392.8	876.96	543.57
<b>Ti</b>	1.34	339.32	122.99
<b>V</b>	13.72	942.82	181.46
<b>VINURI ROȘII</b>			
<b>Ba</b>	92.54	639.04	295.73
<b>Mn</b>	681.28	1377.22	933.74
<b>Fe</b>	1467.4	4298.9	2827.79
<b>Ni</b>	90.6	626.32	221.95
<b>Cr</b>	97.38	624.78	239.15
<b>Al</b>	371.44	9648.8	1513.04
<b>Zn</b>	371.38	1.464.80	868.87
<b>Sr</b>	258.2	1179.5	664.62
<b>Rb</b>	713.78	2226.8	1395.41
<b>Ti</b>	2.8	178.28	88.66
<b>V</b>	0.06	368.22	62.72

fost datorate diversității regiunilor de proveniență, din areale diferite ale României, cu o calitate diversă a solului, dar și ca urmare a impactului antropic. După cum am detaliat în decursul analizei datelor măsurate, valorile mai ridicate a conținutului în anumite metale ca urmare a impactului antropic se pot datora:

- practicilor viticole, prin utilizarea de îngrășăminte pentru cultivare ( $K$ ,  $Ca$ ,  $Cu$ ) sau aplicarea de pesticide, fungicide în timpul perioadei de dezvoltare a stugurilor ( $Cd$ ,  $Cu$ ,  $Mn$ ,  $Pb$  sau  $Zn$ ),
- procesului de vinificație, prin contactul mai îndelungat cu echipamentele de procesare ( $Al$ ,  $Cd$ ,  $Cr$ ,  $Cu$ ,  $Fe$  și  $Zn$ ) sau adăugarea de substanțe în diferite etape ale producției de vin. Astfel, contaminarea cu  $Na$ ,  $Ca$  sau  $Al$  poate fi asociată cu utilizarea substanțelor de limpezire și clarificare cum ar fi bentonita.

O analiză de lungă durată și de detaliu a vinurilor provenite din aceleași podgorii, în paralel cu analiza solurilor de proveniență, precum și o supraveghere în măsura posibilităților a practicilor oenologice utilizate, ar putea contribui bineînțeles la o identificare cu o bună precizie a parametrilor implicați. Realizarea unei baze de date la nivel național precum și alinierea acesteia cu cele deja existente în alte țări ar contribui în mod esențial la o rafinare a analizei, la identificarea cu precizie a fraudelor, deci la o îmbunătățire a calității vinurilor.

---

## CONCLUZII

---

Scopul principal al acestei teze a fost efectuarea unei investigații sistematice a compoziției chimice a vinurilor provenind din cele mai importante regiuni viticole ale României (Banat, Dobrogea, Moldova, Muntenia, Oltenia și Transilvania). Parametrii de interes analizați au fost: conținutul în compuși volatili, raportul izotopic al oxigenului ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) și conținutul în metale. În acest sens am utilizat metodele de analiză: *cromatografia de gaze cuplată cu spectrometria de masă* (GC-MS), *spectrometria de masă pentru rapoarte izotopice* (IRMS) și *spectrometria de masă cu plasmă cuplată inductiv* (ICP-MS). Au fost investigate un număr de 27 de probe de vin alb provenind din anii 2008, 2009, 2010 și 27 de probe de vin roșu din anii 2006, 2007, 2008. Prin metoda GC-MS au fost analizate doar vinurile albe și ambele tipuri de vinuri prin IRMS și ICP-MS. Acest studiu a fost efectuat în *Departamentul de Spectrometrie de Masă, Cromatografie și Fizică Aplicată* din cadrul *Institutului Național de Cercetare Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice și Moleculare* (INCDTIM), Cluj-Napoca.

În vinurile albe investigate utilizând metoda GC-MS au fost identificați 48 de compuși volatili aparținând la 8 clase diferite, și anume: alcooli, esteri etilici, acizi grași, compuși fenolici, aldehide, cetone, lactone și terpeni. Aportul acestora a fost raportat în procente de arie din totalul compușilor volatili identificați. Acest tip de analiză se dovedește a fi utilă putându-se realiza corespondențe între valorile lor cu o suficientă aproximație. Astfel, în cazul *alcoolilor* și *esterilor*, care sunt compușii majoritari din vin, reprezentând peste 90% din fracția volatilă identificată, apare o corelare evidentă a evoluției valorilor acestora, fapt datorat cu siguranță esterificării chimice a alcoolilor cu acizii în timpul procesului de învechire. De asemenea, nivelul acestora depinde în mod sensibil de soiul de strugure precum și de condițiile de fermentație. Compușii minoritari, în marea lor majoritate

produși de drojdie în timpul fermentației, deși sunt prezenți în cantități mult mai reduse joacă un rol esențial, determinând aroma. Conținutul în *acizi grași* și *compuși fenolici* crește, dacă macerarea în timpul elaborării mustului are loc un timp mai îndelungat în contact cu coaja, și nu pare a depinde de condițiile geo-climatice. Nivelul de aldehide nu depinde de soi, conținutul mai ridicat de *fenilacetaldehidă* în unele vinuri putând fi un indiciu al producerii acestora din struguri botritizați. În schimb, nivelul de *cetone* pare a fi un bun indicator al învechirii vinurilor în butoaie de stejar. Valorile obținute pentru singura terpenă identificată, 2-acetil-carena, par a depinde de condițiile geo-climatice.

Dependența de condițiile geo-climatice este însă mai accentuată în cazul rapoartelor izotopice de oxigen,  $\delta^{18}O$ , măsurate prin IRMS. Astfel anii cu cantități mari de precipitații și temperaturi apropiate de valorile normale s-au reflectat în valori minime ale  $\delta^{18}O$ , iar în anii mai secetoși valorile  $\delta^{18}O$  au fost foarte mari. Compoziția izotopică de oxigen este în principal influențată de geo-climat și într-un mod mai redus de soiul de strugure.

Utilizând metoda ICP-MS au fost măsurate concentrațiile a 27 metale din 54 de probe de vinuri (27 albe și 27 roșii). Din punct de vedere al conținutului în elemente majore în vinurile albe s-au găsit concentrații mai ridicate de *Na* și *Ca*, în timp ce *K* a fost mai abundent în vinurile roșii. Aceste valori se datorează utilizării agenților de limpezire în cazul celor albe și a îngrășămintelor (asociate cu un contact mai îndelungat cu coaja) pentru cele roșii. *Mg*, fiind ionul central al inelului porfirinic din structura clorofilei, apare în concentrații similare în ambele tipuri de vinuri. *Oligo-elementele* apar în concentrații medii mai ridicate pentru *vinurile roșii* datorită unui contact mai îndelungat cu părților solide ale strugurilor (coajă și semințe) în timpul procesului de fermentație. Valorile sensibil mai ridicate în conținutul de *Fe* observate pentru *vinurile roșii* pot fi asociate în principal unor cauze naturale, asimilarea fierului din sol fiind mai importantă pentru aceste sortimente, dar și contactului mai îndelungat cu coaja strugurelui. Valorile izolate, mult peste medie, observate în conținutul de *Fe* și *Al* se datorează cu siguranță procesului de vinificație și practicilor enologice utilizate. O analiză de detaliu a *Mn* însă, un constituent natural în vin, puțin afectat de procesul de vinificație, ar putea conduce la rezultate interesante privind localizarea geografică. Valorile *Sr* par de asemenea a conține o amprentă locală însă o analiză mai extinsă este necesară. *Cu* pare a fi elementul cel mai afectat de practicile enologice utilizate. Valorile concentrațiilor *Zn* și *Ni*, deși acestea sunt elemente esențiale pentru dezvoltarea plantei, sunt influențate de pesticidele și produsele fitosanitare aplicate. Concentrațiile tuturor celorlalte elemente de interes deosebit datorită toxicității lor, *Zn*, *Ni*, *Cr*, *Cd*, *Pb*, *As*, depind atât de geochimia solului, dar sunt și, cu o mare probabilitate, o consecință a aplicării de pesticide, fungicide și îngrășămintele,

precum și o urmare a contactului mai îndelungat cu instrumentele utilizate în procesul de producție, depozitare sau ambalare.

Datorită multitudinii de factori care intervin, soiul, regiunea, clima, practicile și tehnicile de vinificație, maturarea, învechirea, care acționează în mod divers și interdependent, face ca analiza acestor parametri să nu fie facilă. În ciuda dificultății inerente acest domeniu de studiu este într-o continuă dezvoltare și rafinare, în principal datorită necesității actuale de caracterizare și diferențiere a vinurilor cu diferite origini geografice (și, de altfel, dintr-o perspectivă mai largă, a majorității alimentelor), pentru certificarea calității acestora și prevenirea fraudelor. Tendința la nivel mondial este de a se constitui baze de date cât mai complete, care să conțină cât mai mulți dintre parametrii menționați, monitorizați o perioadă cât mai îndelungată de timp. Analizele statistice ulterioare astfel posibile și-au dovedit deja utilitatea în identificarea anumitor caracteristici definitorii și izolarea cazurilor aflate în afara mediei.



**A.0.1 Lucrări publicate/acceptate**

1. **V. Avram**, D. A. Măgdaș, C. Voica, G. Cristea, C. Cimpoiu, A. Hosu și C. Măruțoiu, Isotopic Oxygen Ratios and Trace Metals Determination in Some Romanian Commercial Wines, *Analytical Letters*. Lucrare acceptată spre publicare la. *Factor de impact (2012): 0.965*.
2. G. Schmutzer, **V. Avram**, V. Coman, L. David și Z. Moldovan, Determination of Phenolic Compounds from Wine Samples by GC/MS System, *Revista de Chimie*, 63(9), **2012**, 855-858. *Factor de impact (2012): 0.538*.
3. G. Schmutzer, **V. Avram**, I. Feher, L. David și Z. Moldovan, Determination of Some Volatile Compounds in Alcoholic Beverage by Headspace-Solid Phase Microextraction Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *American Institute of Physics, Conference Proceedings (Processes in Isotopes and Molecules, PIM 2011)*, 1425, **2012**, 43-46 (doi:<http://dx.doi.org/10.1063/1.3681962>). *Baze de date ISI*.
4. R. Grecu, V. Coman, **V. Avram** și H. Balázs, Évaluation de la qualité du vin blanc par des méthodes analytiques instrumentales, *Actes du troisième colloque franco-roumain de chimie appliquée COFrRoCA-2004*, Édition Alma Mater Bacău (ISBN 973-8392-36-5) și Tehnică Info Chișinău (ISBN 9975-63-183-5), p. 173-176.





- [1] J. B. West, J. R. Ehleringer, and T. E. Cerling. Geography and vintage predicted by a novel GIS model of wine  $\delta^{18}O$ . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(17):7075–7083, 2007.
- [2] L. Vaclavik, O. Lacina, J. Hajslova, and J. Zweigenbaum. The use of high performance liquid chromatography - quadrupole time-of-flight mass spectrometry coupled to advanced data mining and chemometric tools for discrimination and classification of red wines according to their variety. *Analytica Chimica Acta*, 685:45–51, 2011.
- [3] Liang Liu. *Geographic classification of wines using Vis-NIR spectroscopy*. PhD thesis, Faculty of Engineering, Computer and Mathematical Sciences, The University Adelaide, 2006.
- [4] M. Gil, J. M. Cabellos, T. Arroyo, and M. Prodanov. Characterization of the volatile fraction of young wines from the Denomination of Origin "Vinos de Madrid" (Spain). *Analytica Chimica Acta*, 563:145–153, 2006.
- [5] S. Frías, J. E. Conde, M. A. Rodríguez, V. Dohnal, and J. P. Pérez-Trujillo. Metallic content of wines from the Canary Islands (Spain). Application of artificial neural networks to the data analysis. *Food/Nahrung*, 46(5):370–375, 2002.
- [6] I. Andujar-Ortiz, M. V. Moreno-Arribas, P. J. Martín-Álvarez, and M. A. Pozo-Bayón. Analytical performance of three commonly used extraction methods for the gas chromatography-mass spectrometry analysis of wine volatile compounds. *Journal of Chromatography A*, 1216:7351–7357, 2009.

- 
- [7] S. Vichi, C. Santini, N. Natali, C. Riponi, E. López-Tamames, and S. Buxaderas. Volatile and semi-volatile components of oak wood chips analysed by accelerated solvent extraction (ASE) coupled to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Food Chemistry*, 102:1260–1269, 2007.
- [8] J. S. Câmara, M. A. Alves, and J. C. Marques. Multivariate analysis for the classification and differentiation of Madeira wines according to main grape varieties. *Talanta*, 68:1512–1521, 2006.
- [9] M. M. Losada, J. F. López, A. Añón, J. Andrés, and E. Revilla. Influence of some oenological practices on the aromatic and sensorial characteristics of white Verdejo wines. *International Journal of Food Science and Technology*, 47:1826–1834, 2012.
- [10] E. Gómez García-Carpintero, M. A. Gómez Gallego, E. Sánchez-Palomo, and M.A. González Viñas. Impact of alternative technique to ageing using oak chips in alcoholic or in malolactic fermentation on volatile and sensory composition of red wines. *Food Chemistry*, 134:851–863, 2012.
- [11] J. E. Welke, V. Manfroi, M. Zanús, M. Lazarotto, and C. Alcaraz Zini. Characterization of the volatile profile of brazilian merlot wines through comprehensive two dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 1226:124–139, 2012.
- [12] S. M. Rocha, F. Rodrigues, P. Coutinho, I. Delgadillo, and M. A. Coimbra. Volatile composition of Baga red wine assessment of the identification of the would-be impact odourants. *Analytica Chimica Acta*, 513:257–262, 2004.
- [13] J. M. Oliveira, P. Oliveira, R. L. Baumes, and O. Maia. Changes in aromatic characteristics of Loureiro and Alvarinho wines during maturation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21:695–707, 2008.
- [14] M.-P. Sáenz-Navajas, E. Campo, P. Fernández-Zurbano, D. Valentin, and V. Ferreira. An assessment of the effects of wine volatiles on the perception of taste and astringency in wine. *Food Chemistry*, 121:1139–1149, 2010.
- [15] L. Robinson, P. K. Boss, H. Heymann, P. S. Solomon, and R. D. Trengove. Development of a sensitive non-targeted method for characterizing the wine volatile profile using headspace solid-phase microextraction comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218:504–517, 2011.

- [16] A. González-Marco, N. Jiménez-Moreno, and C. Ancín-Azpilicueta. Concentration of volatile compounds in Chardonnay wine fermented in stainless steel tanks and oak barrels. *Food Chemistry*, 108:213–219, 2008.
- [17] S. Zamúz and M. Vilanova. Volatile compounds after spontaneous fermentation of musts from *Vitis vinifera* cv. Albariño grapes cultivated in different origins from Rías Baixas AOC, Spain. *Flavour and Fragrance Journal*, 21:743–748, 2006.
- [18] E. Gómez García-Carpintero, E. Sánchez-Palomo, M.A. Gómez Gallego, and M.A. González-Viñas. Free and bound volatile compounds as markers of aromatic typicalness of Moravia Dulce, Rojal and Tortosí red wines. *Food Chemistry*, 131:90–98, 2012.
- [19] M. Vilanova, Z. Genisheva, L. Bescansa, A. Masa, and J. M. Oliveira. Volatile composition of wines from cvs. Blanco lexitimo, Agudelo and Serradelo (*Vitis vinifera*) grown in Betanzos (NW Spain). *Journal of the Institute of Brewing*, 115:35–40, 2009.
- [20] J. L. Hixson, N. R. Sleep, D. L. Capone, G. M. Elsey, C. D. Curtin, M. A. Sefton, and D. K. Taylor. Hydroxycinnamic acid ethyl esters as precursors to ethylphenols in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60:2293–2298, 2012.
- [21] M. T. Liberatore, S. Pati, M. A. Del Nobile, and E. La Notte. Aroma quality improvement of Chardonnay white wine by fermentation and ageing in barrique on lees. *Food Research International*, 43:996–1002, 2010.
- [22] J. Bakker and R. J. Clarke. In *Wine: Flavour Chemistry, 2nd Edition*, pages 142–148. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 2010.
- [23] F. L. Sterckx, D. Saison, and F. R. Delvau. Wood aging of beer. part I: Influence on beer flavor and monophenol concentrations. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 70:55–61, 2012.
- [24] M. Ortega-Heras, M. L. González-Sanjosé, and C. González-Huerta. Consideration of the influence of aging process, type of wine and oenological classic parameters on the levels of wood volatile compounds present in red wines. *Food Chemistry*, 103:1434–1448, 2007.
- [25] R. Perestrelo, A. Fernandes, F. F. Albuquerque, J. C. Marques, and J. S. Câmara. Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: Identification of the main odorants compounds. *Analytica Chimica Acta*, 563:154–164, 2006.

- [26] J. S. Câmara, M. A. Alves, and J. C. Marques. Changes in volatile composition of madeira wines during their oxidative ageing. *Analytica Chimica Acta*, 563:188–197, 2006.
- [27] M. M. Losada, J. Andrés, J. Cacho, E. Revilla, and J. F. López. Influence of some prefermentative treatments on aroma composition and sensory evaluation of white Godello wines. *Food Chemistry*, 125:884–891, 2011.
- [28] J. S. Câmara, M. Arminda Alves, and J. C. Marques. Development of headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry methodology for analysis of terpenoids in Madeira wines. *Analytica Chimica Acta*, 555:191–200, 2006.
- [29] C. Coetzee and W. J. du Toit. A comprehensive review on Sauvignon blanc aroma with a focus on certain positive volatile thiols. *Food Research International*, 45:287–298, 2012.
- [30] S. J. Pérez Olivero and J. P. Pérez Trujillo. A new method for the determination of short-chain fatty acids from the aliphatic series in wines by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 696:59–66, 2011.
- [31] S. Selli, A. Canbas, T. Cabaroglu, H. Erten, J.-P. Lepoutre, and Z. Gunata. Effect of skin contact on the free and bound aroma compounds of the white wine of *Vitis vinifera* L. cv Narince. *Food Control*, 17:75–82, 2006.
- [32] T. Cabaroglu, A. Canbas, R. Baumes, C. Bayonove, J. P. Lepoutre, and Z. Günata. Aroma composition of a white wine of *Vitis Vinifera* L. Cv. Emir as affected by skin contact. *Journal of Food Science*, 62:680–683, 1997.
- [33] M. J. Gómez-Míguez, M. Gómez-Míguez, I. M. Vicario, and F. J. Heredia. Assessment of colour and aroma in white wines vinifications. Effects of grape maturity and soil type. *Journal of Food Engineering*, 79:758–764, 2007.
- [34] E. Sarrazin, D. Dubourdieu, and P. Darriet. Characterization of key-aroma compounds of botrytized wines, influence of grape botrytization. *Food Chemistry*, 103:536–545, 2007.
- [35] T. B. Coplen. Guidelines and recommended terms for expression of stable isotopes ratio and gas ratio measurements. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 25:2538–2560, 2011.

- [36] Florinela Georgescu and Gabriela Bancila. Temperaturi extreme in romania in 2007 - Meteo România. <http://vremea.meteoromania.ro/node/82>, 2007.
- [37] I. Sandu. Evoluția regimului climatic în România, Ministerul Mediului Administrația Națională de Meteorologie, 2009.
- [38] Ministerul Mediului și Schimbărilor Climatice Agenția Națională pentru Protecția Mediului (ANPM). Raport privind starea mediului in românia. [http://www.anpm.ro/Mediu/raport\\_privind\\_starea\\_mediului\\_in\\_romania-15](http://www.anpm.ro/Mediu/raport_privind_starea_mediului_in_romania-15), 2009.
- [39] J. Dunbar. A study of the factors affecting the  $^{18}O/^{16}O$  ratio of the water of wine. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 174:355–359, 1982.
- [40] L. M. Reid, C. P. O'Donnell, and G. Downey. Recent technological advances for the determination of food authenticity. *Trends in Food Science & Technology*, 17:344–353, 2006.
- [41] A. Rădulescu. *Cercetări privind optimizarea tehnologiei de obținere a vinurilor roșii în podgoria Dragășani*. PhD thesis, Sibiu, Romania, 2012.
- [42] W. Diegor, H. Longerich, T. Abrajano, and I. Hornic. Applicability of a high pressure digestion technique to the analysis of sediment and soil samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 431:195–207, 2001.
- [43] G. Grindlay, J. Mora, L. Gras, and M. T. C. de Loos-Vollebregt. Atomic spectrometry methods for wine analysis: A critical evaluation and discussion of recent applications. *Analytica Chimica Acta*, 691:18–32, 2011.
- [44] G. C. Tenore, J. Troisi, R. Di Fiore, M. Manfra, and E. Novellino. Nutraceutical value and toxicological profile of selected red wines from Morocco. *Food Chemistry*, 129:792–798, 2011.
- [45] \*\*\*. Hotărârea nr. 1134 din 10 octombrie 2002 pentru aprobarea Normelor metodologice de aplicare a Legii viei și vinului în sistemul organizării comune a pieței vitivinicole, nr. 244/2002.
- [46] C. E. I. dos Santos, L. R. Manfredi da Silva, L. A. Bouffleur, R. Debastiani, C. A. Stefenon, L. Amaral, M. L. Yoneama, and J. F. Dias. Elemental characterisation of Cabernet Sauvignon wines using Particle-Induced X-ray Emission (PIXE). *Food Chemistry*, 121:244–250, 2010.

- 
- [47] I. V. Vrček, M. Bojić, I. Žuntar, G. Mendaš, and M. MedićŠarić. Phenol content, antioxidant activity and metal composition of Croatian wines deriving from organically and conventionally grown grapes. *Food Chemistry*, 124:354–361, 2011.
- [48] P. Kment, M. Mihaljevič, V. Ettler, O. Šebek, L. Strnad, and L. Rohlová. Differentiation of Czech wines using multielement composition: A comparison with vineyard soil. *Food Chemistry*, 91(1):157–165, 2005.
- [49] I. Geana, A. Iordache, R. Ionete, A. Marinescu, A. Ranca, and M. Culea. Geographical origin identification of romanian wines by icp-ms elemental analysis. *Food Chemistry*, 110:1125–1134, 2013.
- [50] A. Sass-Kiss, J. Kiss, B. Harvadi, and N. Adányi. Multivariate statistical analysis of botrytised wines of different origin. *Food Chemistry*, 110(3):742–750, 2008.
- [51] R. Lara, S. Cerutti, J. A. Salonia, R. A. Olsina, and L. D. Martinez. Trace element determination of Argentine wines using ETAAS and USN-ICO-OES. *Food and Chemical Toxicology*, 45:293–297, 2005.
- [52] S. M. Rodrigues, M. Otero, A. A. Alves, J. Coimbra, M. A. Coimbra, E. Pereira, and A. C. Duarte. Elemental analysis for categorization of wines and authentication of their certified brand of origin. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24:548–562, 2011.

## **Mulțumiri**

*În primul rând doresc să aduc un omagiu regretatului profesor Teodor Hodișan, sub îndrumarea căruia am început elaborarea acestei teze, trecut prea devreme în eternitate.*

*Mulțumesc domnului Prof. Dr. Constantin Măruțoiu, pentru că a acceptat să mă îndrume oferindu-mi toată încrederea și sprijinul în elaborarea și finalizarea acestei teze. Îi datorez mulțumiri pentru bunăvoința, răbdarea și înțelegerea de care am beneficiat în tot acest timp.*

*Mulțumesc domnului Dr. Zaharie Moldovan pentru sprijinul și susținerea acordată în întreaga mea activitate de cercetare. Adresez, în egală măsură, mulțumiri colegelor din Departamentul de Spectrometrie de Masă, Cromatografie și Fizică Aplicată: Dr. Alina Măgdaș, Dr. Cezara Voica, pentru sprijinul și îndrumarea de specialitate în domeniile de cercetare care au fost abordate în prezenta teză.*

*Mulțumiri doamnei Conf. Dr. Claudia Cimpoiu pentru îndrumarea continuă, sprijinul și sugestiile oferite în conceperea și finalizarea tezei. Totodată, îi mulțumesc pentru strânsa colaborare și sprijinul acordat Asist. Dr. Anamaria Hosu.*

*Mulțumesc profesorilor Lect. Dr. Simona Cobzac, Prof. Dr. Constantin Bele, Lect. Dr. Irina Tarsiche, pentru răbdarea cu care au analizat lucrarea de față precum și pentru înțelegerea și sugestiile oferite. Mulțumesc, de asemenea, domnului profesor Mircea Diudea pentru disponibilitatea de a prezida juriul comisiei de doctorat.*

*Adresez mulțumiri doamnei Dr. Virginia Coman pentru contribuția adusă la formarea mea profesională precum și colectivului de cromatografie condus de dânsa în cadrul căruia am început activitatea de cercetare în domeniul chimiei analitice. Nu pot să nu menționez colegii din cadrul Institutul de Cercetări în Chimie „Raluca Ripan”, Reghini Dorina, Dr. Miuța Filip, Drd. Violeta Pașcalău, Dr. Kreibik Ștefan și Dr. Mihaela Vlăsa, pentru sprijinul oferit în cadrul stagiului de pregătire a tezei.*

*De asemenea, adresez sincere mulțumiri colegilor de la Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice și Moleculare, Gabriela Cristea, Ioana Curean, Florina Covaciu, Adriana Dehelean, Ioana Feher, Melinda Kovacs, Olivian Mărincaș, Vali Mirel, Nicoleta Petrică, Gabriela Schmutzer și Adriana Vulcu pentru sprijin, susținere și încurajare.*

*Alese gânduri de prețuire familiei pentru sprijinul constant, înțelegerea și răbdarea în toată această perioadă de timp. Mulțumesc îndeosebi prietenului meu Călin care a avut încredere în mine și mi-a fost alături.*