

**UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI
FACULTATEA DE CHIMIE
ȘCOALA DOCTORALĂ ÎN CHIMIE**



REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**MARKERI DE AUTENTICITATE ȘI CALITATE AI
VINURILOR EVALUAȚI PRIN TEHNICI ANALITICE
AVANSATE**

Doctorand,
Birăruți Elisabeta-Irina
(căs. Geană)

Conducător doctorat,
Prof. univ. dr. Bala Camelia

2015

CUPRINS

(numerotarea paginilor este cea din teza de doctorat)

INTRODUCERE	9
SCOP ȘI OBIECTIVE	11

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL 1. METODOLOGIILE CURENTE DE AUTENTIFICARE ȘI CONTROL A CALITĂȚII VINURILOR..... 14

1.1 Vinul: compoziție și clasificare	14
1.2 Markeri de autenticitate și principalele tehnici analitice de autentificare și clasificare a vinurilor	15
1.2.1 Evaluarea autenticității vinurilor pe baza compoziției minerale a vinurilor și a solurilor de proveniență	24
1.2.1.1 Principalele elemente utilizate în autentificarea vinurilor	25
1.2.1.2 Tehnici și metode de analiză utilizate în studiul profilului elemental ca marker de autenticitate ai vinurilor	27
1.2.2 Evaluarea autenticității vinurilor pe baza compoziției fenolice	30
1.2.2.1 Principalele clase de compuși fenolici din vinuri	30
1.2.2.2 Tehnici și metode de analiză utilizate în studiul compușilor fenolici ca markeri de autenticitate ai vinurilor	39
1.2.3 Evaluarea autenticității vinurilor pe baza acizilor organici	41
1.2.3.1 Principalii acizi organici din vinuri	41
1.2.3.2 Tehnici și metode de analiză utilizate în studiul acizilor organici ca markeri de autenticitate ai vinurilor	44
1.2.4 Evaluarea autenticității vinurilor pe baza amprentei RMN	45
1.2.5 Evaluarea autenticității vinurilor pe baza amprentei izotopice	49
1.2.6 Evaluarea autenticității vinurilor prin identificarea unor manopere frauduloase	58
1.2.6.1 Amprenta izotopică a vinurilor pentru depistarea falsificării vinurilor prin adaos de apă, alcool și îndulcitori naturali în must și vin	59
1.2.6.2 Identificarea și cuantificarea unor aditivi alimentari și a 5 hidroximetilfurfuralului (HMF) pentru depistarea falsificării vinurilor	62

CONTRIBUȚII PERSONALE

CAPITOLUL 2. INVESTIGAREA PROFILULUI ELEMENTAL AL VINURILOR ÎN VEDEREA DIFERENȚIERII ACESTORA ÎN FUNCȚIE DE ORIGINEA GEOGRAFICĂ 64

2.1 Materiale și metode	65
2.1.1 Prelevarea probelor de vinuri și soluri	65
2.1.2 Prepararea probelor pentru analiză	66
2.1.3 Analiza profilului elemental prin ICP-MS	68
2.1.4 Analiza statistică a datelor	70
2.2 Rezultate și discuții	70
2.2.1 Performanțele analitice ale metodelor utilizate	70
2.2.1.1 Analiza multielement a vinurilor	70
2.2.1.2 Analiza multielement a probelor de soluri	72
2.2.2 Profilul elemental al vinurilor studiate	74
2.2.3 Conținutul de metale în funcție de soi	77
2.2.4 Profilul elemental al vinurilor în funcție de regiunea de proveniență	78

2.2.5	Discriminarea vinurilor în funcție de regiunea de proveniență	81
2.2.6	Corelarea conținutului elemental al vinurilor cu cel al solurilor de proveniență.....	82
2.3	Concluzii	84

CAPITOLUL 3. INVESTIGAREA RAPORTUL IZOTOPIC $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ȘI A PROFILULI ELEMENTAL AL VINURILOR ÎN VEDEREA DIFERENȚIERII ACESTORA ÎN FUNCȚIE DE ORIGINEA GEOGRAFICĂ..... 86

3.1	Materiale și metode.....	87
3.1.1	Prelevarea probelor de vinuri.....	87
3.1.2	Prepararea probelor	88
3.1.3	Separarea Sr de Rb prin cromatografie de schimb ionic	88
3.1.4	Determinarea analitică a raportului izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ prin ICP-QMS	90
3.1.5	Determinarea profilului elemental prin ICP-MS și AAS	92
3.1.6	Analiza statistică	93
3.2	Rezultate și discuții.....	93
3.2.1	Eficiența etapei de separare cromatografică a Sr de Rb	93
3.2.2	Precizia și acuratețea metodei de determinare a $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ prin ICP-QMS	95
3.2.3	Raportul izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ în vinuri	96
3.2.4	Compoziția multielement a vinurilor investigate.....	97
3.2.5	Discriminarea originii geografice a vinurilor pe baza parametrilor investigați.....	99
3.3	Concluzii	101

CAPITOLUL 4. INVESTIGAREA COMPUȘILOR FENOLICI DIN VINURI ÎN VEDEREA CARACTERIZĂRII ȘI CLASIFICĂRII ACESTORA..... 103

4.1	Clasificarea vinurilor pe baza acizilor fenolici, a flavan-3-olilor, rutinului și trans-resveratrolului.....	103
4.1.1	Materiale și metode	103
4.1.1.1	Prelevarea probelor de vinuri	103
4.1.1.2	Analiza HPLC.....	104
4.1.1.3	Analiza statistică a datelor.....	105
4.1.2	Rezultate și discuții	105
4.1.3	Concluzii.....	111
4.2	Caracterizarea vinurilor pe baza conținutului de trans-resveratrol.....	112
4.2.1	Materiale și metode	112
4.2.1.1	Prelevarea probelor de vinuri	112
4.2.1.2	Analiza trans-resveratrolului prin HPLC	113
4.2.1.3	Analiza statistică a datelor preliminare	114
4.2.2	Rezultate și discuții	114
4.2.2.1	Performanțele analitice ale metodei. Studii de validare.....	114
4.2.2.2	Concentrația trans-resveratrolului în vinurile studiate.....	116
4.2.3	Concluzii.....	120
4.3	Monitorizarea trans-resveratrolului din piețița de strugure pe durata perioadei de coacere a strugurilor și determinarea conținutului de trans-resveratrol în vinurile rezultate	121
4.3.1	Materiale și metode	122
4.3.1.1	Prelevarea probelor de struguri și vinuri.....	122
4.3.1.2	Extracția trans-resveratrolului din piețița de strugure.....	123
4.3.1.3	Analiza trans-resveratrolului prin HPLC	123
4.3.1.4	Analiza statistică a datelor.....	123
4.3.2	Rezultate și discuții	124
4.3.2.1	Variația conținutului de trans-resveratrol în timpul maturării strugurilor	124
4.3.2.2	Conținutul de trans-resveratrol din vinurile roșii.....	126

4.3.2.3	Corelația dintre conținutul de trans-resveratrol din pielea de strugure și vinurile obținute.....	126
4.3.3	Concluzii.....	128
4.4	Diferențierea vinurilor roșii pe baza profilului antocianic.....	128
4.4.1	Materiale și metode.....	129
4.4.1.1	Prelevarea probelor de vinuri.....	129
4.4.1.2	Analiza antocianilor prin HPLC.....	129
4.4.2	Rezultate și discuții.....	130
4.4.3	Concluzii.....	135

CAPITOLUL 5. INVESTIGAREA PROFILULUI ELEMENTAL ȘI CEL AL COMPUȘILOR FENOLICI DIN VINURI ÎN VEDEREA DIFERENȚIERII ACESTORA ÎN FUNCȚIE DE ORIGINEA GEOGRAFICĂ ȘI SOI..... 136

5.1	Materiale și metode.....	136
5.1.1	Prelevarea probelor de vinuri.....	136
5.1.2	Prepararea probelor înaintea determinărilor analitice propriu-zise.....	138
5.1.3	Procedurile analitice utilizate.....	138
5.1.3.1	Analiza elementală.....	138
5.1.3.2	Analiza compușilor fenolici.....	139
5.1.4	Analiza statistică a datelor.....	139
5.2	Rezultate și discuții.....	139
5.2.1	Compoziția elementală a vinurilor studiate.....	140
5.2.2	Profilul compușilor fenolici în vinurile studiate.....	142
5.2.3	Clasificarea vinurilor în funcție de originea geografică.....	143
5.2.4	Clasificarea vinurilor în funcție de soi.....	147
5.3	Concluzii.....	149

CAPITOLUL 6. INVESTIGAREA PROFILULUI ANTOCIANILOR ȘI ACIZILOR ORGANICI, A AMPRENTEI RMN ȘI AMPRENTEI IZOTOPICE A VINURILOR ÎN VEDEREA DIFERENȚIERII ACESTORA ÎN FUNCȚIE DE SOI ȘI ANUL DE PRODUCȚIE..... 150

6.1	Materiale și metode.....	152
6.1.1	Prelevarea probelor de vinuri.....	152
6.1.2	Caracterizarea ariei de studiu.....	152
6.1.3	Analiza antocianilor și acizilor organici prin HPLC.....	153
6.1.4	Analiza RMN.....	154
6.1.5	Analizele izotopice prin IRMS ȘI SNIF-NMR.....	155
6.1.6	Analiza statistică.....	156
6.2	Rezultate și discuții.....	156
6.2.1	Caracterizarea vinurilor pe baza compușilor antocianici.....	156
6.2.2	Caracterizarea vinurilor pe baza conținutului de acizi organici.....	159
6.2.3	Amprenta RMN a vinurilor.....	161
6.2.4	Amprenta izotopică a vinurilor.....	162
6.2.5	Interpretarea statistică a datelor.....	164
6.2.6	Clasificarea vinurilor în funcție de soi.....	165
6.2.7	Clasificarea vinurilor în funcție de anul de producție.....	169
6.3	Concluzii.....	173

CAPITOLUL 7. CERCETĂRI CU PRIVIRE LA CALITATEA VINURILOR ROȘII PE BAZA INVESTIGAȚIILOR MULTIPARAMETRU PENTRU IDENTIFICAREA UNOR PRACTICI FRAUDULOASE.....	174
7.1 Materiale și metode.....	174
7.1.1 Prelevarea probelor de vinuri.....	174
7.1.2 Amprenta izotopică prin IRMS.....	175
7.1.3 Tăria alcoolică (% vol).....	175
7.1.4 Analizele HPLC.....	175
7.1.4.1 Analiza îndulcitorilor sintetici.....	176
7.1.4.2 Analiza coloranților roșii sintetici.....	177
7.1.4.3 Analiza 5-hidroximetilfurfuralului (HMF).....	178
7.1.4.4 Analiza profilului antocianic.....	178
7.1.5 Analiza statistică a datelor analitice.....	179
7.2 Rezultate și discuții.....	179
7.2.1 Depistarea fraudelor din vinurile contrafăcute prin utilizarea bazei de date izotopice, tăria alcoolică a vinurilor și investigații cromatografice.....	179
7.2.2 Profilul antocianilor drept trasor al naturaleții vinurilor.....	184
7.3 Concluzii.....	189
CONCLUZII GENERALE.....	191
ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATOARE ALE TEZEI.....	195
LISTA PUBLICAȚIILOR ÎN DOMENIUL TEZEI DE DOCTORAT.....	196
BIBLIOGRAFIE.....	198
ANEXE.....	217

Numerotarea tabelor, figurilor și a trimiterilor bibliografice este cea din teza de doctorat.

Introducere

Vinul este un produs consumat pe scară largă și stabilirea autenticității acestuia reprezintă unul din cele mai importante aspecte în calitatea și securitatea alimentară. Autentificarea, identificarea fraudelor și determinarea conformității produsului cu specificațiile înscrise pe etichetă sunt cerințe ale consumatorilor și ale Comunității Europene. Pentru rezolvarea optimă a acestei probleme, dezvoltarea și armonizarea metodelor analitice valide la nivel național și european, dar și stabilirea și lărgirea bazei de date necesare îmbunătățirii eficienței controlului vitivinicol reprezintă priorități la nivel internațional [2]. Valorificarea potențialului viticol de care dispune România, în vederea obținerii unor avantaje competitive sustenabile pe piețele externe, impune crearea și promovarea unei identități a vinului românesc, realizată pe baza unor investigații analitice care să certifice calitatea și compoziția chimică naturală a vinurilor.

Autentificarea vinurilor implică mai multe aspecte, ca de exemplu originea geografică [11, 23], anul de producție [41], soiul [34], producătorul și calitatea [154, 155]. Este important ca dovada de autenticitate a vinului să se bazeze pe acei parametri chimici ce nu suferă modificări în timpul vinificării sau care sunt dificil de falsificat. De-a lungul anilor au fost dezvoltate o serie de metode pentru verificarea autenticității vinurilor, de la metode analitice tradiționale, până la metode care utilizează tehnici instrumentale avansate. Pe de altă parte, se dorește dezvoltarea unor metodologii mai rapide și mai puțin costisitoare de obținere a profilului compozițional complet al vinurilor prin tehnici avansate, acest lucru fiind posibil prin utilizarea tehnicilor multielement care permit obținerea unui număr mare de date.

Tehnicile de analiză utilizate pentru autentificarea vinurilor (numite și tehnici de amprentare) implică analiza compușilor organici (carbohidrați, aminoacizi, proteine, enzime, acizi organici, compuși fenolici, vitamine, compuși volatili) [35, 40] și anorganici (minerale) [22, 23] și izotopi [9, 143, 144] din matricea studiată folosind o gamă diversificată de aparatură analitică de ultimă generație. Datele analitice obținute sunt interpretate statistic pentru a furniza amprenta produsului investigat. Trebuie ținut cont de faptul că vinul reprezintă un amestec complex de compuși organici, dar și anorganici și a cărui compoziție este influențată de numeroși factori, printre care: solul și condițiile climatice specifice fiecărei zone în parte (care determină calitatea strugurilor), soiul de viță de vie din care se obține vinul, dar și factorul uman reprezentat de practicile agricole utilizate, procesul tehnologic de vinificare, condițiile de maturare și păstrare. În mod special, teritoriul (clima-sol) este factorul decisiv în formarea vinului, astfel aceleași specii de viță de vie prelucrate în același mod, dar în regiuni diferite, vor prezenta o compoziție chimică diferită [43].

Pe de altă parte, adulterarea vinurilor reprezintă o îngrijorare de foarte mult timp, întrucât aceste practici frauduloase pun în pericol starea de sănătate a consumatorilor, fiind în detrimentul vinurilor de calitate, originale, produse în regiuni specifice. De aici derivă interesul crescând pentru autentificarea vinurilor și implicit identificarea metodelor analitice capabile să certifice originea vinurilor și să detecteze cu precizie fraudele [148].

Astfel, definirea autenticității și clasificării vinurilor românești provenite din podgorii recunoscute pe plan național și internațional și crearea unor bănci de date reprezintă în prezent o problemă de mare actualitate și necesitate la nivel național. Din acest motiv, în cadrul prezentei teze de doctorat au fost dezvoltate și implementate noi metode de analiză multi-element și analiza izotopică care să permită stabilirea originii și calității vinurilor din România.

Teza este structurată în două părți principale, și anume: STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII care se referă la date de literatură – capitolul 1 și CONTRIBUȚII PERSONALE care se referă la rezultatele originale prezentate pe parcursul a 6 capitole.

Partea de studiu de literatură cuprinde o trecere în revistă a metodologiilor curente de autentificare și control al calității vinurilor, la nivel național și internațional, cu accent pe evidențierea principalilor markeri de autentificare precum și a tehnicilor analitice folosite pentru autentificarea și clasificarea vinurilor în funcție de originea geografică de proveniență, soiul de strugure, anul de producție și calitatea acestora. Astfel, s-a pus accent pe evaluarea autenticității vinurilor pe baza profilului elemental, a compușilor organici (compuși fenolici – acizi fenolici,

flavan-3-oli, rutin, *trans*-resveratrol, antociani; acizi organici; aminoacizi; zaharuri) și amprenta izotopică, investigații realizate cu ajutorul unor tehnici analitice moderne precum: spectrometria de masă cu plasmă cuplată inductiv (ICP-MS) și spectrofotometria de absorbție atomică (AAS) pentru realizarea profilului elemental; cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC) și spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (NMR) pentru investigarea claselor de compuși organici; ICP-QMS, alături de spectrometria de masă pentru rapoarte izotopice (IRMS) și SNIF-NMR pentru realizarea amprentei izotopice și desigur, principalele metode statistice utilizate pentru interpretarea statistică a datelor analitice (LDA, PCA, ANOVA, AHC, etc.).

CONTRIBUȚII PERSONALE

Teza de doctorat a urmărit realizarea unui profil compozițional cât mai complex al vinurilor prin utilizarea unor tehnici analitice performante, cu un accent deosebit pe tehnicile HPLC, ICP-MS, AAS, RMN, IRMS și SNIF-RMN, dar și a instrumentelor statistice, cu scopul dezvoltării unor metodologii de autentificare a vinurilor care vor sta la baza construirii a unor baze de date cu probe de referință, cu ajutorul cărora vor fi evaluate probele cu origine necunoscută.

Principalele obiective ale tezei au fost:

- Determinarea compoziției elementale a vinurilor provenite din cele mai importante regiuni viticole din România și utilizarea datelor analitice și a analizei statistice multivariate pentru diferențierea vinurilor în funcție de originea geografică de proveniență.
- Dezvoltarea și implementarea metodei de determinare a raportului izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ din vinuri și utilizarea acestuia pentru asigurarea trasabilității geografice a vinurilor.
- Investigarea profilului compușilor fenolici din vinurile obținute din diferite soiuri de viță de vie și ani de producție, provenite din regiuni viticole reprezentative din România și identificarea unor markeri specifici pentru clasificarea vinurilor în funcție de varietate, an de producție și regiunea de proveniență.
- Caracterizarea vinurilor pe baza conținutului de *trans*-resveratrol și evaluarea posibilității diferențierii acestora.
- Investigarea influenței soiului de strugure, a anului de producție și a datei de recoltare a strugurilor asupra conținutului de *trans*-resveratrol din pielea boabelor de strugure pentru soiurile roșii de struguri.
- Diferențierea vinurilor prin cumularea datelor referitoare la profilul elemental și cel al compușilor fenolici din compoziția chimică naturală a vinurilor.
- Clasificarea vinurilor roșii în funcție de soi și anul de producție pe baza profilului antocianilor majoritari, a rapoartelor dintre antociani, profilul acizilor organici, amprentele ^1H RMN și ^{13}C RMN și amprenta izotopică ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ și D/H), dar și cumularea variabilelor semnificative pentru fiecare clasă de compuși în parte, oferind astfel o amprentă cât mai complexă a vinurilor, pe baza căreia să se realizeze o interpretare cât mai exactă a probelor de vinuri necunoscute.
- Verificarea autenticității unor vinuri roșii de masă, disponibile pe piață, pe baza metodei izotopilor stabili ($\delta^{13}\text{C}$ și $\delta^{18}\text{O}$) și evaluarea posibilității utilizării unor investigații analitice alternative pentru verificarea autenticității vinurilor roșii prin monitorizarea tăriei alcoolice a vinurilor (% vol.), a unor agenți de adulterare (îndulcitori și coloranți sintetici roșii, prezența HMF) sau prin realizarea profilului antocianilor, ca indicator al culoarii roșii a vinurilor.
- Evaluarea statistică a fiecărui set de date utilizând analiza statistică multivariată prin intermediul unor tehnici precum PCA, LDA, ANOVA, HCA.

CAPITOLUL 2

INVESTIGAREA PROFILULUI ELEMENTAL AL VINURILOR ÎN VEDEREA DIFERENȚIERII ACESTORA ÎN FUNCȚIE DE ORIGINEA GEOGRAFICĂ

Stabilirea originii geografice a vinurilor reprezintă o problemă de interes major pentru țările din întreaga lume, aceasta datorită preocupării consumatorilor cu privire la autenticitatea produselor pe care le consumă, pe de o parte, iar pe de altă parte, pentru a proteja produsele de calitate în cazul declarațiilor false referitoare la originea geografică. Premiza de la care se pornește în procesul de autentificare a originii geografice a vinurilor pe baza profilului elemental este aceea că profilul elemental al vegetației reflectă compoziția elementală a solului în care aceasta crește și depinde de topografie, geologie și caracteristicile solului [43]. Prin urmare, două regiuni nu vor avea o hartă identică a solurilor, și de aceea, profilul elemental al produselor alimentare poate fi pus în corespondență cu originea geografică a acestora.

Scopul studiului de față a fost investigarea profilului elemental (luând în considerare elemente precum Cr, Ni, Rb, Sr, Ag, Zn, Mn, Cu, Co, V, Pb și Be) al vinurilor autentice provenite din podgorii românești celebre, din regiuni diferite, și anume: Muntenia (podgoria Valea Calugărească), Dobrogea (podgoria Murfatlar) și Moldova (podgoriile Iași, Cotnari, Bujoru, Panciu, Odobești și Nicorești) în încercarea de a diferenția vinurile în funcție de regiunea geografică. Un număr de 60 probe de vinuri, dintre care 26 vinuri roșii și 34 vinuri albe au fost analizate prin ICP-MS, după o etapă anterioară de pregătire a probei prin mineralizare cu microunde în mediu acid. De asemenea, s-a investigat corespondența între profilul elemental al vinurilor și profilul elemental al solurilor de proveniență.

Prin compararea valorilor medii ale concentrațiilor de metale din vinurile provenite din cele trei zone viticole, s-a observat pentru majoritatea elementelor, o suprapunere a domeniului de concentrație. Cu toate acestea, elementele mai puțin influențate de factorii de mediu și cei tehnologici, permit crearea unui model de discriminare în funcție de regiunea viticolă. Rezultatele obținute arată că se poate realiza o bună diferențiere a vinurilor Românești pe baza următoarelor elemente: Ni, Ag, Cr, Sr, Zn și Cu pentru regiunea Valea Călugărească, Rb, Zn și Mn pentru regiunea Murfatlar și Pb, Co și V pentru vinurile din regiunea Moldova. Corelarea conținutului de Mn cu cel de Cr, Rb, Sr, Ag sau Co din vinuri permite o discriminare rezonabilă a vinurilor în funcție de regiunea geografică.

Prin analiza PCA a setului de date analitice s-a observat că distribuția variabilității a fost exprimată pe baza a trei componente principale și care sumarizează aproximativ 82% din variabilitatea datelor originale. Elemente precum Mn, Cr, Sr, Rb, Ag și Co au fost identificate ca fiind markeri importanți în procesul de discriminare a vinurilor și solurilor din trei mari regiuni producătoare de vinuri din România.

În cazul vinurilor și solurilor investigate s-a evidențiat corelația dintre compoziția elementală a vinurilor și cea a solurilor de proveniență pentru următoarele elemente: Ni, Ag, Be, Cr, Zn, Pb, Co și Cu. Această premisă este importantă pentru aplicarea metodologiei de amprentare pe baza datelor multielement și a analizei statistice pentru clasificarea vinurilor în funcție de originea geografică.

CAPITOLUL 3

INVESTIGAREA RAPORTULUI IZOTOPIC $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ȘI A PROFILULI ELEMENTAL AL VINURILOR ÎN VEDEREA DIFERENȚIERII ACESTORA ÎN FUNCȚIE DE ORIGINEA GEOGRAFICĂ

Vinurile de prestigiu cu denumire de origine sau indicație geografică sunt cel mai adesea supuse falsificării prin declarații false referitoare la originea acestora și prin urmare este necesară dezvoltarea de metode analitice care, prin intermediul unor markeri specifici, să permit certificarea acestor produse [43, 128]. Cei mai utilizați parametri chimici pentru decelarea originii geografice a vinurilor sunt: rapoartele izotopilor stabili ai hidrogenului, carbonului și oxigenului [9], dar și profilul elemental [22, 23] și raportul izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ [143, 144] sau o combinație între ele. Numeroase studii au arătat faptul că există o corelație semnificativă între raportul izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ în vinuri și solurile de proveniență [11]. Suplimentar, raportul izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ nu este influențat de practicile din procesul tehnologic de obținere al diferitelor produse alimentare [141]. De asemenea, procesele metabolice de la nivelul plantelor nu afectează fracționarea izotopică a Sr [174], astfel că raportul izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ din plante sau produsele rezultate în urma procesării reflectă raportul izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ al solurilor din regiunea de proveniență.

Obiectivul acestui studiu a fost acela de a dezvolta metoda de determinare a raportului izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ din vinuri prin ICP-QMS, după separarea prealabilă a Sr de Rb din matricea probei, separare realizată prin cromatografie de schimb ionic pe o rășină Dowex 50W-X8 și eluția cu EDTA de diferite concentrații. Metoda a fost aplicată pentru determinarea raportului izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ pentru 21 vinuri roșii cu denumire de origine controlată (DOC) sau indicație geografică (IG), provenite din trei regiuni geografice din România, situate relativ aproape una față de cealaltă (Dealurile Vrancei, Terasalele Dunării – Însurăței și Cuza Vodă), urmată de evaluarea raportului izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, alături de profilul elemental (realizat prin ICP-MS, F-AAS și GF-AAS) pentru stabilirea trasabilității geografice a vinurilor analizate.

Precizia și acuratețea metodei au fost realizate folosind materialul de referință certificat, NIST SRM 987, cu o valoare certificată de 0,71034 pentru raportul izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$. Rezultatele analitice obținute pentru NIST SRM 987 au fost cuprinse între 0,70652 – 0,71169, cu o valoare medie de 0,70971, fiind în acord cu valoarea acceptată de 0,71034. RSD (%) a variat între 0,41 – 0,68 %, cu o valoare medie de 0,53%.

Rezultatele analitice obținute pentru raportul izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ din cele 21 vinuri roșii au variat între 0,71015 – 0,72311. S-au observat diferențe între valorile raportului izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, chiar și în cazul vinurilor provenite din localitățile Însurăței și Cuza Vodă, situate relativ aproape una față de cealaltă, în cadrul aceleiași regiuni. Rezultatele obținute ilustrează faptul că raportul izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ reprezintă un parametru important pentru diferențierea vinurilor în funcție de regiunea geografică de proveniență.

Datele analitice corespunzătoare acelor elemente al căror conținut în vinuri nu este influențat de factori exogeni, au fost evaluate chemometric, utilizând analiza LDA, pentru clasificarea vinurilor în funcție de originea geografică. Pe baza profilului elemental și a rapoartelor K/Rb și Ca/Sr s-a reușit o bună discriminare a vinurilor în funcție de originea de proveniență, ceea ce demonstrează importanța profilului elemental pentru trasabilitatea geografică a vinurilor. Prin cuplarea profilului elemental, a rapoartelor K/Rb, Ca/Sr și a raportului izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, s-a reușit, de asemenea, o bună diferențiere a vinurilor în funcție de regiunea de proveniență. Dintre variabilele investigate în acest studiu, Ga, Al și raportul izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ au fost identificate ca fiind semnificative pentru diferențierea geografică a vinurilor.

Vinurile provenite din regiunea Dealurile Vrancei pot fi diferențiate în special pe baza conținutului de Ba, Pb, Ag, Mg, Zn, Cr, Ni, Se, Fe și a raportului izotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$, în timp ce vinurile din regiunea Terasalele Dunării – Însurăței pot fi discriminate pe baza conținutului de Al, Ga și Rb, iar vinurile din regiunea Terasalele Dunării – Cuza Vodă pot fi discriminate pe baza conținutului de Li, Na și a raportului K/Rb.

Variația raportului isotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ în vinurile provenite din regiuni geografice diferite, consolidează legătura cu substratul geologic al teritoriului de producție, raportul isotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ reprezentând un marker geologic robust pentru stabilirea originii geografice a vinurilor, nefiind influențat de practicile agricole și procesul tehnologic de vinificare. Cu toate acestea, profilului elemental reprezintă un instrument valoros pentru diferențierea originii geografice a vinurilor, determinările analitice fiind mai ușor de realizat și la un cost mai scăzut.

CAPITOLUL 4 INVESTIGAREA COMPUȘILOR FENOLICI DIN VINURI ÎN VEDEREA CARACTERIZĂRII ȘI CLASIFICĂRII ACESTORA

Compușii fenolici din vinuri sunt substanțe care joacă un rol important în mai multe proprietăți senzoriale ale acestora, cum ar fi culoarea, aroma, astringența și duritatea [56]. Pe de altă parte, tipul și concentrația compușilor fenolici din vin depinde de soiul de strugure, de maturare, condițiile climatice, tehnicile de vinificație [61, 62].

Consumul de alimente bogate în principii antioxidante prezintă multe beneficii asupra sănătății umane [82]. Vinurile, și în special vinurile roșii conțin o varietate de compuși polifenolici antioxidanți, dintre care *trans-resveratrolul* este considerat cel mai important [84].

Deoarece *trans-resveratrolul* reprezintă un principiu biologic activ deosebit de important pentru om, au fost realizate numeroase studii cu scopul de a identifica sursele naturale bogate în *trans-resveratrol*, printre care și vinurile roșii și pielea boabelor de strugure [187]. De asemenea câțiva autori au studiat procesul de transfer al *trans-resveratrolului* din strugure în vinuri [185]. Pentru a obține vinuri roșii cu un conținut mare de *trans-resveratrol* este foarte important de știut momentul optim de recoltare al strugurilor astfel încât aceștia să prezinte un maxim de acumulare al *trans-resveratrolului*.

În capitolul 4 s-a evaluat posibilitatea autentificării vinurilor pe baza diferitelor clase de compuși fenolici – acizi fenolici, flavan-3-oli, rutin, *trans-resveratrol* și antociani. Determinările au fost realizate prin HPLC, iar rezultatele analitice au fost prelucrate statistic (LDA, ANOVA) pentru identificarea principalilor markeri pentru stabilirea originii geografice, a soiului de strugure din care au fost obținute vinurile și eventual a anului de producție, pentru vinuri provenite din regiuni viticole reprezentative din România.

Clasificarea vinurilor pe baza acizilor fenolici, a flavan-3-olilor, rutinului și trans-resveratrolului

În acest studiu s-a investigat profilul polifenolic al unor vinuri autentice obținute din soiuri de struguri reprezentative (soiuri roșii - Cabernet Sauvignon, Fetească Neagră, Pinot Noir, Merlot și Burgund Mare și soiuri albe – Fetească Albă, Muscat Ottonel), cultivate în regiuni diferite din România (Valea Călugărească, Murfatlar, Moldova (Bujoru și Iași), Miniș), cu scopul clasificării acestora în funcție de regiunea geografică de proveniență.

Rezultatele determinărilor analitice au demonstrat faptul că profilul fenolic al vinurilor roșii este mai bine definit comparativ cu cel al vinurilor albe, acest lucru datorându-se procesului de fermentație care are loc în cazul obținerii vinurilor roșii [179]. Dintre compușii fenolici întâlniți cu precădere în vinurile studiate sunt: (+)-catechina și (-)-epicatechina din grupul flavonoizilor și acidul galic din clasa acizilor fenolici.

Profilul compușilor fenolici (acid galic, (+)-catechină, (-)-epicatechină, acid p-cumaric, resveratrol și rutin) a permis diferențierea unor vinuri roșii (Fetească Neagră, Cabernet Sauvignon, Pinot Noir și Merlot) și albe (Muscat Ottonel, Fetească Albă) în funcție de regiunea de proveniență. Astfel, pentru diferențierea vinurilor din regiunea Murfatlar sunt importanți parametrii precum resveratrolul și acizii galic și p-cumaric, în timp ce diferențierea vinurilor din regiunea Valea Călugărească se realizează pe baza conținutului de (+)-catechină și (-)-epicatechină, iar cele din Moldova pe baza rutinului.

Caracterizarea vinurilor pe baza conținutului de trans-resveratrol

Datorită faptului că *trans-resveratrolul* reprezintă un principiu biologic activ aflat în compoziția vinurilor, conținutul acestuia a fost investigat într-un număr de 70 vinuri roșii și albe aparținând soiurilor Fetească Neagră, Cabernet Sauvignon, Merlot, Pinot Noir, Mamaia, Burgund Mare, Fetească Regală, Tămâioasă Românească, Sauvignon Blanc, Fetească Albă, Riesling Italian, Muscat Ottonel și Chardonnay, cu anii de producție cuprinși între 2008-2011, provenite din patru regiuni viticole din România (Muntenia, Dobrogea, Oltenia și Transilvania). Datele analitice obținute au fost prelucrate statistic pentru discriminarea vinurilor în funcție de regiunea de proveniență, a soiului și eventual a anului de producție, pe baza conținutului de *trans-resveratrol*.

Concentrația *trans-resveratrolului* în vinurile investigate a variat între 0,03 – 10,23 mg/L pentru vinurile roșii și între 0,07 – 2,57 mg/L pentru vinurile albe, în funcție de regiunea de proveniență, de soi și anul de producție. S-a observat o suprapunere a intervalelor de concentrație ale *trans-resveratrolului* în vinurile albe și roșii studiate, ceea ce face ca diferențierea în funcție de soi să fie neconcludentă. Se poate observa faptul că vinurile roșii obținute din soiurile de struguri cultivate în podgoria Murfatlar, Dobrogea au prezentat un conținut mai mare de *trans-resveratrol*, eventual, datorită expunerii de durată la soare [78] sau datorita potențialului genetic al soiului de struguri Mamaia. Diferențierea exactă a vinurilor roșii în funcție de anul de recoltă, pe baza conținutului de *trans-resveratrol* a fost dificil de evaluat datorită faptului că valorile obținute au fost foarte apropiate.

Monitorizarea conținutului de *trans-resveratrol* într-un număr de 70 vinuri roșii și albe a arătat faptul că vinurile roșii aparținând soiurilor Mamaia, Pinot Noir și Fetească Neagră se dovedesc a fi o bună sursă de introducere a *trans-resveratrolului* în alimentație. Cantități semnificative de *trans-resveratrol* au fost raportate, de asemenea și în vinurile din soiurile Merlot și Cabernet Sauvignon. Vinurile albe au prezentat un conținut semnificativ mai mic de *trans-resveratrol* în comparație cu vinurile roșii. Aparent se poate realiza o diferențiere a vinurilor din regiunea Dobrogea, acestea fiind vinuri cu un conținut ridicat de *trans-resveratrol*.

Monitorizarea trans-resveratrolului din pielea de strugure pe durata perioadei de coacere a strugurilor și determinarea conținutului de trans-resveratrol în vinurile rezultate

Acest studiu a urmărit influența soiului de strugure, a anului de producție și a datei de recoltare a strugurilor asupra conținutului de *trans-resveratrol* din pielea boabelor de strugure pentru soiurile roșii Pinot Noir, Merlot, Cabernet Sauvignon, Fetească Neagră și Mamaia), cultivate în podgoria Murfatlar, anii de recoltă 2012 și 2013. S-a investigat și corelația dintre conținutul de *trans-resveratrol* din pielea strugurilor și vinurile rezultate, pentru cei doi ani de recoltă.

Rezultatele monitorizării conținutului de *trans-resveratrol* din pielea de strugure au indicat faptul că nivelul *trans-resveratrolului* din pielea de strugure este semnificativ influențat de soiul de strugure, anul recoltei și fiecare soi în parte prezintă o tendință de maturare diferită. Nivelul maxim de *trans-resveratrol* s-a atins spre sfârșitul perioadei de maturare, pentru toate soiurile studiate, aceasta constatare fiind importantă pentru a gestiona procesul de vinificație în sensul obținerii de vinuri cu un conținut mare de *trans-resveratrol*.

Conținutul de *trans-resveratrol* a fost semnificativ mai mare în recolta 2012, comparativ cu recolta 2013, atât în pielea de strugure, cât și în vinurile rezultate, confirmând importanța condițiilor climatice asupra acumulării *trans-resveratrolului* în struguri și totodată posibilitatea diferențierii vinurilor în funcție de anul de producție.

De asemenea, s-a observat o corelație bună între cantitatea de *trans-resveratrol* din pielea de strugure și cea din vinurile obținute, acest lucru indicând faptul că nivelul de *trans-resveratrol* din pielea de strugure poate fi utilizat ca indicator pentru a prezice nivelul *trans-resveratrolului* din vinurile roșii rezultate.

CAPITOLUL 5

INVESTIGAREA PROFILULUI ELEMENTAL ȘI CEL AL COMPUȘILOR FENOLICI DIN VINURI ÎN VEDEREA DIFERENȚIERII ACESTORA ÎN FUNCȚIE DE ORIGINEA GEOGRAFICĂ ȘI SOI

Monitorizarea concentrațiilor micro- și macro-elementelor din vinuri prezintă o importanță deosebită datorită abilității lor de a diferenția vinurile în funcție de originea geografică în care au fost cultivați strugurii, fiind astfel instrumente valoroase pentru trasabilitatea geografică a vinurilor [43]. Compușii fenolici din vinuri prezintă un rol fundamental, contribuind în mare măsură la formarea caracteristicilor specifice ale acestora, cum sunt culoarea, aroma, savoarea, fiind astfel, instrumente valoroase pentru diferențierea între diferite soiuri [56]. Tendința de a studia compoziția vinurilor pe baza constituenților minoritari este din ce în ce mai mare, pentru a obține o caracterizare cât mai complexă a acestora, care stă la baza procesului de autentificare a vinurilor [81].

Studiul de față a evaluat posibilitatea utilizării profilului elemental (21 elemente - Li, Be, Co, Ni, Cs, U, Pb, V, As, Ba, Cr, Cu, Zn, Al, Mn, Rb, Sr, Fe, Ca, Mg, Na, K) și cel al compușilor fenolici ((+)-catechina, (-)-epicatechina, resveratrol și acizii galic, p-cumaric, ferulic, trans-cinamic) pentru diferențierea vinurilor din podgoriile Recaș și Drăgășani în funcție de originea geografică și soi. Determinările analitice au fost realizate prin ICP-MS și F-AAS pentru stabilirea profilului elemental și HPLC pentru stabilirea profilului compușilor fenolici, iar datele analitice obținute au fost procesate statistic utilizând analiza PCA, cu evidențierea principalilor markeri de autentificare. Vinurile investigate în acest studiu reprezintă vinuri autentice, dulci și seci, obținute în podgoria Drăgășani (regiunea viticolă Oltenia) și podgoria Recaș (regiunea viticolă Banat). Soiurile investigate au fost: Tamâioasă Românească, Crampoșie Selecționată, Fetească Regală, Sauvignon Blanc, Chardonnay, Muscat Ottonel pentru vinurile albe și Negru de Drăgășani, Pinot Noir, Cabernet Sauvignon, Merlot pentru vinurile roșii.

Prin analiza statistică multivariată a datelor referitoare la profilului elemental și cel al compușilor fenolici, s-a realizat o bună diferențiere a vinurilor în funcție de originea geografică și soi, și chiar o diferențiere a vinurilor provenite din areale viticole diferite, situate la distanțe relativ mici unul față de celălalt (partea de Nord și cea de Sud a podgoriei Drăgășani). Astfel, markeri importanți pentru diferențierea vinurilor în funcție de originea geografică au fost identificate elemente precum Ba, Be, Cr, Cs, Li, Mg, Na, Ni, Sr, U și Zn și compuși fenolici precum (+)-catechina, (-)-epicatecina, resveratrolul, acizii ferulic și p-cumaric.

Pentru vinurile provenite din podgoria Drăgășani am identificat posibilitatea diferențierii soiului pe baza compoziției elementale și a profilului compușilor fenolici, cu evidențierea unor markeri pentru clasificarea vinurilor în funcție de soiul de strugure. Soiurile native din podgoria Drăgășani (Crampoșie Selecționată și Negru de Drăgășani) au prezentat cantități importante de Zn și Ba și cantități scăzute de Na și Cs, comparativ cu celelalte varietăți investigate (Tamâioasă Românească, Sauvignon Blanc și Fetească Regală). În ceea ce privește markeri organici, diferențierea vinurilor în funcție de soi se poate realiza pe baza conținutului de (+)-catechina, acidul ferulic și trans-resveratrol. Soiul Fetească Regală a prezentat un conținut mare de (+)-catechină și acid ferulic și un conținut scăzut de *trans*-resveratrol, comparative cu celelalte soiuri. Soiul Tamâioasă Românească este caracterizat de cantități importante de *trans*-resveratrol și acid ferulic. Pe baza markerilor anorganici (Cs, Na, Zn, Ni, U și Ba) și a celor organici ((+)-catechina, acid ferulic și *trans*-resveratrol) s-a realizat diferențierea, cu un procent de 74%, a soiurilor specifice podgoriei Drăgășani față de cele internaționale. Metodologiile propuse pot fi aplicate pentru stabilirea originii geografice și a soiului în cazul vinurilor disponibile comercial.

CAPITOLUL 6

INVESTIGAREA PROFILULUI ANTOCIANILOR ȘI ACIZILOR ORGANICI, A AMPRENTEI RMN ȘI AMPRENTEI IZOTOPICE A VINURILOR ÎN VEDEREA DIFERENȚIERII ACESTORA ÎN FUNCȚIE DE SOI ȘI ANUL DE PRODUCȚIE

În ultimii ani, evaluarea trasabilității și autenticității vinurilor a devenit o condiție prealabilă în tot mai multe țări din întreaga lume [2]. În industria vinurilor, dezvoltarea de aplicații chemometrice, care iau în considerare un volum mare de informații analitice referitoare la compoziția vinurilor s-a dovedit un instrument versatil și valoros pentru evaluarea originii geografice [9], a soiului [41, 206], anului de producție [41, 207] și a caracteristicilor tehnologice [208].

În acest studiu ne-am propus dezvoltarea unor metodologii de clasificare a vinurilor autentice în funcție de soi și anul de producție și identificarea unor markeri specifici pentru fiecare tip de clasificare în parte. Pentru aceasta, au fost investigate cinci soiuri de vinuri roșii autentice (Cabernet Sauvignon, Merlot, Fetească Neagră, Pinot Noir și Mamaia) obținute în podgoria Murfatlar, podgorie caracterizată de un climat ce favorizează producerea de vinuri de calitate superioară, fiind investigate atât vinuri tinere, cât și vinuri învechite, cu anii de producție cuprinși între 2009-2014. Datele analitice referitoare la compoziția antocianilor, acizilor organici, parametri izotopici ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ și D/H), dar și a informațiilor obținute din spectrele ^1H RMN și ^{13}C RMN au fost procesate statistic utilizând analiza LDA. Tehnicile analitice utilizate în acest sens au fost: HPLC și RMN pentru obținerea amprentelor diferitelor clase de compuși chimici organici din compoziția vinurilor, precum și IRMS și SNIF-NMR pentru realizarea amprentei izotopice.

În general, pe baza markerilor abordați în acest studiu, s-a reușit diferențierea vinurilor în 5 grupuri clar separate, corespunzătoare celor 5 soiuri de vinuri investigate, în acest sens, markeri importanți fiind malvidin-3-*O*-glucozida (Mv), rapoarte dintre antociani, și anume, raportul dintre malvidin-3-*O*-acetilglucozida și malvidin-3-*O*-glucozida (Mva/Mv) și raportul dintre antocianii acetilați și cei cumarilați ai peonidinei și malvidinei (Ra/c); acizii oxalic, shikimic, lactic, citric și succinic; rapoartele izotopice (D/H)I și $\delta^{13}\text{C}$; 2,3-butandiol, metanolul, glucoza și amino acizi precum alanina, histidina și leucina - variabile identificate din amprentele RMN.

Pentru diferențierea vinurilor în funcție de anul de producție, concentrațiile analiților din vinuri au fost setate ca variabile independente, iar anii de producție (între 2009 și 2014) au fost setați ca variabile de clasificare. Astfel, diferențierea între anii de producție s-a realizat pe baza următoarelor variabile: delphinidin-3-*O*-glucozida (De), peonidin-3-*O*-glucozida (Pe), malvidin-3-*O*-acetilglucozida (Mva), malvidin-3-*O*-cumarilglucozida (Mvc), peonidin-3-*O*-cumarilglucozida (Pec), dar și diferite rapoarte dintre antociani, dintre care, rapoartele dintre cianidin-3-*O*-glucozida (Cy), petunidin-3-*O*-glucozida, malvidin-3-*O*-cumarilglucozida și malvidin-3-*O*-glucozida (Cy/Mv, Pt/Mv, Mvc/Mv) și raportul dintre suma antocianilor și malvidin-3-*O*-glucozida (S_{ant}/Mv) drept parametri antocianici; parametri izotopici ($\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{13}\text{C}$, (D/H)II și R - distribuția relativă a deuteriului în grupările metil și metilen ale molecule de etanol); glucoza, aminoacizi (alanina și izoleucina), glicerolul - variabile identificate din amprentele RMN

Astfel, s-a demonstrat faptul că prin utilizarea analizei statistice multivariate pentru un set cât mai complex de date analitice obținute prin diferite tehnici instrumentale, se poate realiza o clasificare corectă a vinurilor în funcție de soi și anul de producție. Validarea modelelor statistice propuse pentru clasificarea vinurilor roșii s-a realizat pe baza unui set de vinuri de control, dar și prin utilizarea tehnicii de cross-validare. Pentru fiecare soi în parte și an de producție s-a obținut o clasificare corectă a probelor de vinuri de control, ceea ce confirmă validarea modelelor statistice propuse și posibilitatea utilizării lor pentru autentificarea vinurilor necunoscute.

CAPITOLUL 7

CERCETĂRI CU PRIVIRE LA CALITATEA VINURILOR ROȘII PE BAZA INVESTIGAȚIILOR MULTIPARAMETRU PENTRU IDENTIFICAREA UNOR PRACTICI FRAUDULOASE

Matricea “vin” prezintă o importanță deosebită din punct de vedere al testării autenticității, deoarece a fost întotdeauna subiect pentru diferite practici frauduloase. Producția de vinuri și comercializarea acestora au fost întotdeauna asociate cu costuri ridicate și, de aceea, contrafacerea acestora și declarațiile false cu privire la originea acestora sunt tot mai întâlnite. Vinurile care sunt frecvent adulterate sunt vinurile de masă care sunt ambalate în ambalaje PET, comercializate sub diferite denumiri, și mai puțin vinurile de calitate.

În cadrul acestui studiu ne-am propus utilizare unor tehnici analitice avansate pentru testarea autenticității și trasabilității vinurilor, în scopul depistării unor practici frauduloase din industria vinurilor. În acest scop, 29 probe de vinuri de masă, ambalate în sticle PET, cumpărate de pe piață au fost investigate pentru depistarea adăugării frauduloase de zahăr, apă, îndulcitori sintetici și agenți de colorare sintetici. De asemenea, în acest studiu au fost investigate și 23 probe de vinuri roșii autentice obținute prin microvinificare în cadrul podgoriei Murfatlar (România), aceste probe fiind considerate drept probe de referință. Adiția exogenă de zahăr și apă în vinurile roșii de masă contrafăcute a fost depistată prin măsurarea conținutului izotopilor stabili ($\delta^{13}\text{C}$ și $\delta^{18}\text{O}$), și suplimentar, adulterarea vinurilor a fost confirmată pe baza unor parametri clasici, precum tăria alcoolică a vinurilor (% vol.), prezența 5-hidroximetil-2-furaldehidei (HMF), dar și a îndulcitorilor sintetici sau a coloranților sintetici roșii utilizați pentru a corecta deficiențele de gust și culoare. De asemenea, în scopul stabilirii autenticității vinurilor de masă, s-a investigat natura și profilul antocianilor, ca indicator al modificării culorii roșii a vinurilor, în urma proceselor de adulterare.

În prima parte a acestui studiu, pentru evaluarea autenticității probelor de vinuri investigate (comerciale și autentice), s-a utilizat metoda bazată pe analiza rapoartelor izotopilor stabili (SIRA) care presupune compararea valorilor izotopilor stabili ale vinurilor investigate (în cazul nostru, carbon și oxigen), cu bazele de date izotopice pentru vinuri autentice din aceleași regiuni geografice și ani de producție. Această procedură a permis detectarea vinurilor ale căror date izotopice se află în afara intervalului de variație, sugerând adulterarea prin adăugarea de zaharuri, alcool sau apă. Astfel, vinurile investigate (23 vinuri autentice și 29 de vinurile de masă comerciale) au fost grupate în patru categorii: vinuri autentice (23 probe), vinuri de masă bune (16 probe), vinuri de masă suspecte de adulterare (5 probe) și vinuri de masă adulterate (8 probe).

În același timp, în cazul vinurilor care prezintă caracteristici organoleptice modificate, pentru evaluarea autenticității acestora, se pot realiza și alte investigații analitice accesibile mai multor laboratoare, cum sunt investigațiile cromatografice care permit identificarea unor aditivi alimentari nepermisi în industria vinurilor (îndulcitori sintetici și coloranți roșii sintetici), precum și a 5-hidroximetilfurfuralului (HMF), pe baza căruia pot fi depistate anumite practici oenologice nepermise. Astfel, vinurile de masă clasificate drept adulterate au fost îndulcite prin adaos nepermis de îndulcitori sintetici (acesulfam de K, zaharina, aspartam) sau colorate artificial prin folosirea nepermisă a colorantului roșu sintetic - azorubin, confirmând astfel falsificarea exagerată a acestor vinuri pentru a corecta deficiențele de gust și culoare datorate adiției de apă exogenă. HMF a fost depistat într-o singură probă de vin de masă, indicând o posibilă adiție de sirop de fructoză din porumb (HFCS) pentru șaptalizare.

Deși profilul antocianic al vinurilor reprezintă instrumente valoroase pentru diferențierea vinurilor în funcție de soi [95, 227], noi am investigat acești compuși în strânsă legătură cu modificarea culorii roșii a vinurilor în urma realizării unor practici frauduloase.

Pentru vinurile de masă, s-au observat diferențe între profilele antocianilor din vinuri, în funcție de categoria în care au fost încadrate (vinuri de masă bune, vinuri de masă suspecte și

vinuri de masă adulterate), conținutul antocianilor fiind mai mare în vinurile de masă bune, comparativ cu cele suspecte de adulterare sau cu cele adulterate.

Adulterarea vinurilor de masă prin aditie de apă conduce la un profil antocianic diminuat, ceea ce se reflectă în modificarea culorii roșii a vinurilor, markeri relevanți în acest sens fiind delfinidin-3-*O*-glucozida (De), petunidin-3-*O*-glucozida (Pt) și malvidin-3-*O*-glucozida (Mv). În mod deosebit, rapoartele antocianice reprezintă instrumente valoroase pentru diferențierea vinurilor de masă adulterate care prezintă o amprentă izotopică puternic modificată, caracterizate prin adulterarea excesivă cu plante C4 și aditie de apă. De asemenea, diluarea vinurilor cu apă, urmată de corectarea culorii prin adăugarea de coloranți sintetici cum este azorubinul, duce la modificarea profilului antocianilor.

Rezultatele indică faptul că profilul antocianilor și anumite rapoarte dintre antocianii individuali, împreună cu interpretarea statistică a datelor, oferă informații fiabile pentru diferențierea vinurilor investigate în funcție de calitatea acestora. Astfel, clasificarea vinurilor pe baza profilelor antocianice și a rapoartelor antocianice propuse, sunt în concordanță cu rezultatele obținute în urma investigațiilor izotopice prin IRMS.

Pin investigarea unui număr cât mai mare de parametri chimici, cum sunt parametri izotopici, aditivi alimentari (îndulcitori sintetici și coloranți roșii sintetici), dar și profilul antocianilor, se poate realiza o evaluare corectă a autenticității vinurilor de masă roșii de pe piață.

Clasificarea vinurilor pe baza profilelor antocianice și a rapoartelor antocianice propuse este în concordanță cu rezultatele obținute în urma investigațiilor izotopice prin IRMS. Prin urmare, crearea unei baze de date cu amprente antocianice corespunzătoare vinurilor roșii naturale, reprezintă un instrument valoros pentru identificarea vinurilor roșii adulterate de pe piață, aceasta fiind realizată prin utilizarea unor tehnici analitice disponibile în mai multe laboratoare.

Rezultatele acestui studiu arată că 28% din vinurile de masă investigate au fost adulterate și 17% au fost suspecte de falsificare, indicând o creștere alarmantă a practicilor frauduloase (adăugarea de zaharuri naturale sau artificiale, aditie de apă și agenți de colorare) în industria vinului.

CONCLUZII GENERALE

În cadrul acestei teze de doctorat au fost abordate diferite metodologii de autentificare și control ale vinurilor, cu accent pe evidențierea principalilor markeri de autentificare precum și a tehnicilor analitice folosite pentru clasificarea vinurilor în funcție de originea geografică de proveniență, soiul de strugure, anul de producție și calitate. Astfel, s-au realizat investigații referitoare la profilul compozițional al unor vinuri autentice provenite din areale viticole reprezentative ale României (Valea Călugărească, Murfatlar, Moldova, Drăgășani, Recaș, Miniș, Dealurile Vrancei, Terassele Dunării – Însurăței și Cuza Vodă), atât vinuri roșii (Fetească Neagră, Cabernet Sauvignon, Merlot, Pinot Noir, Mamaia, Burgund Mare), cât și vinuri albe (Fetească Regală, Tămâioasă Românească, Sauvignon Blanc, Fetească Albă, Riesling Italian, Muscat Ottonel și Chardonnay) și ani de producție diferiți (2009-2014). S-a realizat clasificarea vinurilor în funcție de originea geografică de proveniență, soiul de strugure și anul de producție, după caz, pe baza datelor analitice referitoare la compoziția elementală, compoziția diferitelor clase de compuși organici (compuși fenolici – acizi fenolici, flavan-3-oli, rutin, trans-resveratrol, antociani; acizi organici; aminoacizi; zaharuri) și amprenta izotopică, utilizând tehnici instrumentale avansate (ICP-MS, AAS, HPLC, RMN, IRMS, SNIF-RMN) și analiza statistică multivariată (PCA, LDA, ANOVA, AHC) pentru interpretarea datelor analitice.

De asemenea, s-a urmărit verificarea autenticității unor vinuri roșii de masă pe baza investigațiilor izotopice (prin IRMS) și cromatografice (prin HPLC) în scopul identificării practicilor frauduloase (aditia de zahăr și apă în vinuri, aditia îndulcitorilor sintetici și a coloranților roșii sintetici) utilizate în procesul tehnologic de obținere a vinurilor.

Principalii markeri, tehnicile analitice și metodele chemometrice utilizate în prezenta teză pentru autentificarea vinurilor, au fost:

Markeri	Tehnici instrumentale/statistice	Autentificarea vinurilor
Profilul elemental	ICP-MS, AAS / PCA, LDA, ANOVA	Originea geografică
Raportul isotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	ICP-QMS / LDA	
Compușii fenolici: <i>acizi fenolici, flavan-3-oli, flavonoli, stilbeni, antociani</i>	HPLC-PDA / ANOVA	Autentificare soi Originea geografică Autentificare an de producție
Acizii organici	HPLC-PDA / LDA	Autentificare soi
Amprenta RMN	RMN / LDA	Autentificare an de producție
Amprenta izotopică ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ și D/H)	IRMS, SNIF-NMR / LDA	Autentificare an de producție Autentificare soi
Amprenta izotopică ($\delta^{13}\text{C}$ și $\delta^{18}\text{O}$)	IRMS / LDA, HCA	Identificarea manoperelor frauduloase
Aditivi alimentari (îndulcitori, coloranți), HMF, profilul antocianic	HPLC-PDA / LDA, ANOVA	

Rezultatele prezentate în cadrul tezei de doctorat constituie punctul de plecare pentru construirea unor baze de date cu principalele clase de compuși chimici aflați în compoziția chimică naturală a vinurilor (minerale, compuși fenolici, zaharuri, aminoacizi, compuși volatili), alături de baza de date cu valori izotopice, deja existentă, pe baza căreia să se poată realiza autentificarea unor vinuri necunoscute.

Metodologiile de clasificare a vinurilor propuse în cadrul prezentei teze de doctorat pot fi aplicate și pentru vinurile provenite din alte regiuni viticole, diferite soiuri și ani de producție, fiind astfel utile pentru prevenirea practicilor frauduloase din industria de profil.

ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATOARE ALE TEZEI

Originalitatea tezei constă în investigarea compoziției chimice naturale a vinurilor din România și punerea în valoare a metodelor analitice și statistice prin intermediul cărora se poate realiza discriminarea vinurilor în funcție de originea geografică, soi, anul de producție și calitate.

În prezenta teză de doctorat s-a investigat, pentru prima dată, posibilitatea utilizării profilului elemental și a raportului isotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ pentru diferențierea originii geografice a unor vinuri provenite din regiunile viticole reprezentative din România, metoda de determinare a raportului isotopic $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ din vinuri fiind implementată pentru prima dată în România.

De asemenea s-a studiat potențialul compușilor fenolici din vinuri, cu evidențierea markerilor specifici pentru diferențierea vinurilor în funcție de soi, anul de producție și regiunea geografică de proveniență. Pentru prima dată în România s-a realizat un studiu referitor la monitorizarea conținutului de *trans*-resveratrol în pielea strugurilor roșii, cu stabilirea momentului optim de recoltare, în vederea obținerii unor vinuri cu conținut ridicat de *trans*-resveratrol, principiu biologic activ cu numeroase efecte benefice asupra sănătății. Investigarea conținutului de *trans*-resveratrol într-un număr de 70 vinuri roșii și albe din România a demonstrat faptul că vinurile roșii aparținând soiurilor Mamaia, Pinot Noir și Fetească Neagră se dovedesc a fi o bună sursă de introducere a *trans*-resveratrolului în alimentație.

Pentru prima dată s-a investigat posibilitatea diferențierii unor vinuri roșii în funcție de soi și anul de producție, pe baza investigațiilor analitice multiparametru realizate cu ajutorul unor

tehnici analitice avansate precum HPLC, RMN, IRMS și SNIF-RMN și stabilirea markerilor specifici pentru fiecare tip de clasificare în parte.

În cele din urmă, această teză oferă informații valoroase referitoare la posibilitatea autentificării vinurilor roșii de masă adulterate, de pe piață, pe baza metodei izotopilor stabili (carbon și oxigen) și a bazei de date izotopice pentru depistarea adității de apă și zaharuri în vinuri și utilizarea unor investigații analitice alternative pentru confirmarea practicilor frauduloase depistate. Profilul antocianilor majoritari din vinurile roșii a fost utilizat pentru prima dată pentru evaluarea calității unor vinuri roșii de masă.

Rezultatele cercetărilor întreprinse în cadrul acestor teze de doctorat au fost diseminate prin elaborarea și publicarea ca prim autor a unui număr de 7 lucrări științifice în reviste indexate ISI; publicarea a 5 lucrări originale în reviste indexate în baze de date naționale și internaționale; participarea la 5 manifestări științifice internaționale; participarea la 8 manifestări științifice naționale.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

2. Versari A, Laurie VF, Ricci A, et al. (2014), *Food Research International* 60:2–18.
9. Dordevic N, Wehrens R, Postma GJ, et al. (2012), *Analytica Chimica Acta* 757:19–25.
11. Di Paola-Naranjo RD, Baroni M V, Podio NS, et al. (2011). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:7854–65.
22. Selih VS, Sala M, Drgan V (2014), *Food Chemistry* 153:414–23.
23. Fabani MP, Arrúa RC, Vázquez F, et al. (2010), *Food Chemistry* 119:372–379.
34. Pérez-Trujillo JP, Hernández Z, López-Bellido FJ, Hermosín-Gutiérrez I (2011), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:6150–64.
35. Pérez-Trujillo JP, Hernández Z, López-Bellido FJ, Hermosín-Gutiérrez I (2011), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:6150–64.
40. Mardones C, Hitschfeld A, Contreras A, et al. (2005), *Journal of Chromatography A* 1085:285–292.
41. Charlton AJ, Wrobel MS, Stanimirova I, et al. (2010), *European Food Research and Technology* 231:733–743.
43. Almeida CMR, Vasconcelos MTSD (2003), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:4788–98.
56. Mitić MN, Obradović M V, Grahovac ZB, Pavlović AN (2010), *Molecules* (Basel, Switzerland) 15:2016–27.
61. Coletta A, Berto S, Crupi P, et al. (2014), *Food Chemistry* 152:467–74.
62. Rastija V, Srečnik G (2009), *Food Chemistry* 115:54–60.
74. Dekic S, Milosavljevic S, Vajs V, et al. (2008), *J Serb Chem Soc* 73:1027–1037.
75. Iacopini P, Baldi M, Storchi P, Sebastiani L (2008), *Journal of Food Composition and Analysis* 21:589–598.
78. Kallithraka S, Arvanitoyannis I, El-Zajouli A, Kefalas P (2001), *Food Chemistry* 75:355–363.
81. Avar P, Martin S, Nikfardjam P, Kunsági-Máté S, Montskó G, Szabó Z, Böddi K, Ohmacht R (2007), *International Journal of Molecular Sciences* 8:1028.
82. Stervbo U, Vang O, Bonnesen C (2007), *Food Chemistry* 101:449–457.
84. Ratola N, Faria JL, Alves A (2004), *Food Technol Biotechnol* 42:125–130.
95. González-Neves G, Franco J, Barreiro L, et al. (2006), *European Food Research and Technology* 225:111–117.
128. Ogrinc N, Košir IJ, Kocjančič M, Kidrič J (2001), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:1432–1440.
143. Marchionni S, Braschi E, Tommasini S, et al. (2013), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61:6822–31.
141. Almeida CMR, Vasconcelos MTS. (2004), *Food Chemistry* 85:7–12.
144. Durante C, Baschieri C, Bertacchini L, et al. (2015), *Food Chemistry* 173:557–63.

148. Košir IJ, Kocjančič M, Ogrinc N, Kidrič J (2001), *Analytica Chimica Acta* 429:195–206.
154. Calderone G, Guillou C (2008), *Food Chemistry* 106:1399–1405.
155. Dordevic N, Camin F, Marianella RM, et al. (2013), *Australian Journal of Grape and Wine Research* 19:324–330.
174. Kawasaki A, Oda H, Hirata T (2002), *Soil Science and Plant Nutrition* 48:635–640.
179. Makris DP, Kallithraka S, Mamalos A (2006), *Talanta* 70:1143–52.
181. Aluyen JK, Ton QN, Tran T, et al. (2012), *Journal of dietary supplements* 9:45–56.
185. Sun B, Ribes AM, Leandro MC, et al. (2006), *Analytica Chimica Acta* 563:382–390.
187. Fernández-Mar MI, Mateos R, García-Parrilla MC, et al. (2012), *Food Chemistry* 130:797–813.
206. Fraige K, Pereira-Filho ER, Carrilho E (2014), *Food Chemistry* 145:395–403.
207. Noriega MJ, Casp A (2007), *J Int Sci Vigne Vin* 41:111–119.
208. Muccillo L, Gambuti A, Frusciante L, et al. (2014), *Food Chemistry* 143:506–13.
221. Kelebek H, Selli S, Canbas A, Cabaroglu T (2009), *Microchemical Journal* 91:187–192.
227. Dimitrovska M, Bocevska M, Dimitrovski D, Murkovic M (2011), *European Food Research and Technology* 232:591–600.

LISTA PUBLICAȚIILOR ÎN DOMENIUL TEZEI DE DOCTORAT

I. A) în reviste reviste cotate ISI

1. Verifying the red wines adulteration through isotopic and chromatographic investigations coupled with multivariate statistic interpretation of the data, **Geană, E.I.**, Popescu, R., Costinel, D., Dincă, O.R., Ștefănescu, I., Ionete, R.E., Bala, C., *Food Control*, 62, 2016, 1-9, (IF = 2,806).
2. Classification of red wines using suitable markers coupled with multivariate statistic analysis, **Geană, E.I.**, Popescu, R., Costinel, D., Dinca, O.R., Ionete, R.E., Ștefănescu, I., Artem, V., Bala, C., *Food Chemistry*, 192, 2016, 1015-1024, (IF = 3,391).
3. Monitoring trans-Resveratrol in Grape Berry Skins during Ripening and in Corresponding Wines by HPLC, **Geană, E.I.**, Dinca, O.R., Ionete, R.E., Artem, V., Niculescu, V., *Food Technology and Biotechnology*, 53 (1), 2015, 73-80, (IF = 0,920).
4. Differentiation of Romanian Wines on Geographical Origin and Wine Variety by Elemental Composition and Phenolic Components, **Geană, E.I.**, Marinescu, A., Iordache, A.M., Sandru, C., Ionete, R.E., Bala, C., *Food Analytical Methods*, 7 (10), 2014, 2064-2074, (IF = 1,956).
5. Characterization of Wines by Trans-Resveratrol Concentration: A Case Study of Romanian Varieties, **Geană, E.I.**, Costinel, D., Marinescu, A., Ionete, R.E., Bala, C., *Analytical Letters*, 47 (10), 2014, 1737-1746, (IF = 1,030).
6. Geographical origin identification of Romanian wines by ICP-MS elemental analysis, **Geană, E.I.**, Iordache, A.M., Ionete, R.E., Marinescu A., Ranca A., Culea M., *Food Chemistry*, 138 (2-3), 2013, 1125-1134, IF = 3,391.
7. Phenolic composition of Romanian wines with different geographical origins, **Geană, E.I.**, Ionete, R.E., Tudorache, A., Pașa, R., Postolache, E., Ranca, A., *Asian Journal of Chemistry*, 23 (12), 2011, 5197-5201, (IF = 0,335).
8. Comparison of three digestion methods for heavy metals determination in soils and sediments materials by ICP-MS technique, **Geană, E.I.**, Iordache, A.M., Voica, C., Dehelean, A., Ionete, R.E., *Asian Journal of Chemistry*, 23 (12), 2011, 5213-5216, (IF = 0,335).

B) articole în reviste fără cotație ISI

1. Simultaneous determination of artificial sweeteners in possible counterfeited wines, using, high performance liquid chromatography with DAD detection, **Geană, E.I.**,

- Iordache, A.M., Ionete, R.E., Ovidius University Annals of Chemistry (categoria B+), 23 (1), 2012, 77-81, ISSN-1223-7221.
2. Assessing The Wine Anthocyanin Profile For Red Grape Varieties Identification, **Geană, E.I.**, Iordache, A.M., Ionete, R.E., Progress of Cryogenics and Isotopes Separation, 14 (1), 2011, 127-133, ISSN: 1582-2575.
 3. Practical Analytical Tools For Assessing The Addition Of Synthetic Dyes In Wines, Ranca, A., Artem, V., Galip, A., Ionete, R.E., **Geană, E.I.**, Savin, C., Paşa, R., Vasile, A., Progress of Cryogenics and Isotopes Separation, 14 (2), 2011, 155-170, ISSN: 1582-2575.
 4. Analysis and quantification of trans-resveratrol in wine from Muntenia and Oltenia region, Romania, **Geană, E.I.**, Iordache, A.M., Ionete, R.E., Proceedings of the 4th International Symposium „New Researchers in Biotechnology” SimpBTH 2011, 176-183, ISSN 1224-7774.
 5. The optimization of the method for metals content determination in romanian wines by ICP-MS after microwave mineralization, Iordache, A.M., **Geană, E.I.**, Ionete, R.E., Culea, M., Progress of Cryogenics and Isotopes Separation, 13 (1), 2010, 137-145, ISSN: 1582-2575.