

UNIVERSITATEA TEHNICĂ A MOLDOVEI

Cu titlu de manuscris C. Z. U.: 663.242(478)

BOIȘTEAN ALINA

**OPTIMIZAREA TEHNOLOGIEI ȘI CARACTERIZAREA CALITĂȚII
OȚETULUI DE VIN AUTOHTON**

**253. 01. - Tehnologia produselor alimentare de origine
vegetală**

Teză de doctor în științe inginerești

Conducător științific:

**CHIRSANOVA Aurica,
dr., conf. univ.**

Consultant științific:

**GAINA Boris
dr. hab., prof. univ., acad.**

Autorul:

BOIȘTEAN Alina

CHIȘINĂU, 2022

© **Boiștean Alina, 2022**

CUPRINS

ADNOTĂRI	6
LISTA TABELELOR	9
LISTA FIGURILOR	11
LISTA ABREVIERILOR	13
INTRODUCERE	14
1. ASPECTE FIZICO-CHIMICE ȘI MICROBIOLOGICE ALE OBȚINERII OȚETULUI DIN VIN	21
1.1. Microbiologia fermentării acetice	21
1.2. Aspecte fizico-chimice ale fermentării acetice	22
1.3. Procedee biotehnologice de fabricare a oțetului	23
1.3.1. Procedee cu fermentare submersă	25
1.3.2. Procedee rapide cu utilizarea coloanelor cu substrat	27
1.3.3. Procedeele lente tip Orleans	29
1.4. Tipuri de oțet	30
1.5. Compoziția chimică și calitatea oțeturilor	31
1.6. Alterarea oțetului	34
1.7. Băuturi nealcoolice cu oțet	35
1.8. Concluzii la capitolul 1	37
2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE	38
2.1. Materiale de cercetare	38
2.1.1. Materiale utilizate la selectarea bacteriilor acetice	38
2.1.2. Materiale utilizate la optimizarea tehnologiei de obținere a oțetului	38
2.1.3. Materii prime utilizate în calitate de substrat pentru bacteriile acetice	39
2.1.4. Materii prime utilizate la fabricarea băuturilor nealcoolice	39
2.1.5. Medii de cultură	40
2.1.6. Agenți de limpezire	40
2.2. Metode de analiză	41
2.3. Metoda real-time PCR	44
2.4. Prepararea probelor cu diferite doze de SO ₂	45
2.5. Determinarea numărului de bacterii în cultura starter	46
2.6. Analiza statistică	46
2.7. Concluzii la capitolul 2	47

3.	SELECTAREA TULPINILOR DE BACTERII ACETICE DIN MATERII PRIME AUTOHTONE	48
3.1.	Izolarea culturilor pure de bacterii acetice	48
3.2.	Caracteristicile morfologice și fiziologice ale tulpinilor izolate	51
3.3.	Detectarea și identificarea tulpinilor izolate	54
3.3.1.	Capacitatea bacteriilor izolate de a oxida alcoolul etilic în acid acetic	54
3.3.2.	Identificarea bacteriilor izolate prin teste biochimice	56
3.3.3.	Detectarea bacteriilor izolate prin metoda RT-PCR	57
3.4.	Concluzii la capitolul 3	59
4.	OPTIMIZAREA TEHNOLOGIEI DE OBȚINERE A OȚETULUI DIN VIN	60
4.1.	Analiza sortimentului de oțet pe piața Republicii Moldova	60
4.2.	Analiza opiniilor consumatorilor	63
4.3.	Obținerea oțetului din suc concentrat	65
4.3.1.	Fermentarea alcoolică	65
4.3.2.	Fermentarea acetică	69
4.4.	Influența parametrilor biochimici și tehnologici asupra fermentării acetice	73
4.4.1.	Determinarea parametrilor fizico-chimici ai materiei prime	73
4.4.2.	Impactul dioxidului de sulf	73
4.4.3.	Stabilirea dozei optime de cultură starter	77
4.4.4.	Influența diferitor tipuri de substrat	82
4.5.	Finisarea oțetului cu diferiți agenți de limpezire	89
4.5.1.	Parametrii fizico-chimici ai oțetului din vin alb nefiltrat	89
4.5.2.	Parametrii fizico-chimici ai agenților de limpezire	90
4.5.3.	Influența parametrilor tehnologici asupra calității oțetului limpezit	92
4.6.	Caracteristici fizico-chimice și microbiologice ale oțeturilor din vin alb	100
4.6.1.	Aciditatea totală	100
4.6.2.	Alcoolul rezidual (fracție volumică)	101
4.6.3.	Densitatea	102
4.6.4.	pH	102
4.6.5.	Extractul sec	103
4.6.6.	Proprietățile antimicrobiene ale oțetului obținut	104
4.7.	Optimizarea tehnologiei de fabricare a oțetului din vin	105
4.8.	Concluzii la capitolul 4	108

5. TEHNOLOGIA FABRICĂRII BĂUTURILOR NEALCOOLOCE CU OȚET DIN VIN ALB	110
5.1. Opinia consumatorilor cu referire la consumul băuturilor nealcoolice cu oțet	110
5.2. Schema tehnologică de obținere a băuturilor nealcoolice	111
5.3. Valoarea energetică a băuturilor nealcoolice	111
5.4. Indicele glicemic al băuturilor elaborate	113
5.5. Indicii de calitate ai băuturilor nealcoolice	117
5.5.1. Caracteristicile fizico-chimice și cromatice	117
5.5.2. Caracteristicile microbiologice	118
5.5.3. Caracteristicile organoleptice	119
5.6. Concluzii la capitolul 5	121
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI	122
BIBLIOGRAFIE	125
ANEXE	143
Anexa 1 Utilajul tehnologic proiectat și executat în cadrul proiectului	144
Anexa 2 Schema-bloc de extragere și detectare a ADN	145
Anexa 3 Adeverința de depozitare în CNMN a bacteriilor acetice izolate	147
Anexa 4 Chestionar privind utilizarea oțetului în bucătărie	148
Anexa 5 Schema-bloc a procesului de fermentare alcoolică a concentratului din suc de struguri albi cu utilizarea nutrimențelor	155
Anexa 6 Calculul cantității necesare de dioxid de sulf pentru utilizarea în cercetare	156
Anexa 7 Analiza chimică a oțetului din vin alb elaborat	157
Anexa 8 Certificat de implementare a bacteriilor <i>Acetobacter aceti</i> CNMN- <i>AcB-01</i> și instrucțiune tehnologică IT MD 67-41184408-01:2021	158
Anexa 9 Brevet de invenție și contract de licență neexclusivă a brevetului MD 1517 Y	160
Anexa 10 Rezultate sondajului privind opinia consumatorilor despre prepararea băuturilor nealcoolice cu oțet	162
Anexa 11 Schema-bloc de obținere a băuturilor nealcoolice cu oțet din vin alb	168
Anexa 12 Consimțământ informat al voluntarului	169
Anexa 13 Rezultate monitorizării glucozei plasmatice	170
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII	177
CURRICULUM VITAE	178

ADNOTARE

Boiștean Alina: "Optimizarea tehnologiei și caracterizarea calității oțetului de vin autohton", teza de doctor în științe inginerești, Chișinău, 2022.

Teza constă din introducere, 5 capitole, concluzii și recomandări, bibliografie (204 titluri) înserate în 110 pagini conținut de bază, inclusiv 43 figuri, 39 tabele (cu excepția celor indicate în anexe), 13 anexe. Rezultatele au fost reflectate în 14 lucrări științifice și 2 brevete.

Cuvinte-cheie: oțet, bacterii acetice, fermentare alcoolică, fermentare acetică, substrat, vin.

Scopul lucrării: constă în optimizarea tehnologiei de obținere a oțetului din vin cu utilizarea tulpinii de bacterii acetice izolate din produsele vitivinicole autohtone, inoculate pe substrat din materii prime locale și valorificarea acestuia pentru obținerea băuturilor nealcoolice.

Obiectivele cercetării: izolarea culturilor pure de bacterii acetice din produsele vitivinicole autohtone și identificarea lor după caracteristicile morfologice, culturale, fiziologice, biochimice și moleculare; studiul privind producătorii existenți și sortimentul de oțeturi în RM; evaluarea influenței diferitor factori asupra fermentării acetice; optimizarea tehnologiei de obținere a oțetului din vin; valorificarea oțetului din vin pentru obținerea unor băuturi nealcoolice.

Noutatea și originalitatea științifică. Pentru prima dată a fost efectuată izolarea și identificarea unei tulpini autohtone de bacterii acetice *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 provenite din oțet artizanal din vin alb obținut din soiul de viță-de-vie Noah. Au fost stabilite dozele-limită de dioxid sulf și de cultură starter pentru asigurarea derulării eficiente a fermentării acetice. În premieră a fost utilizată coaja de nuci grecești și alune în calitate de substrat pentru bacteriile acetice, astfel micșorând perioada de fermentare și sporind calitățile organoleptice a oțetului obținut. A fost examinată evoluția glicemiei după consumarea băuturilor nealcoolice elaborate și s-a constatat că băuturile se clasifică în grupa produselor cu indice glicemic scăzut și pot fi recomandate ca alternativă sănătoasă băuturilor din comerț.

Problema științifică soluționată: dezvoltarea și fundamentarea științifică a regimurilor biotehnologice de obținere a oțetului din vin prin fermentarea naturală cu utilizarea tulpinii de bacterii acetice izolate din materii prime autotone, dezvoltată pe substrat natural.

Semnificația teoretică. Aplicarea tehnicilor de biologie moleculară pentru izolarea și identificarea tulpinii studiate prin utilizarea metodei real-time PCR. A fost demonstrată posibilitatea ameliorării parametrilor cromatici ai oțetului din vin alb prin utilizarea cojii de nuci ca substrat pentru dezvoltarea bacteriilor acetice, măbind suprafața de contact cu produsul, astfel eficientizând procesul de fabricare a oțetului.

Valoarea aplicativă: constă în stabilirea condițiilor optime de fermentare acetică a vinului autohton și elaborarea instrucțiunilor tehnice pentru obținerea oțetului din vin. Procedeele tehnologice recomandate în baza studiului pot fi aplicate la întreprinderile de profil, iar utilizarea cojii de nuci soluționează problema deșeurilor agroalimentare. Au fost obținute 2 brevete de invenție.

Implementarea rezultatelor științifice. A fost elaborată instrucțiunea tehnologică IT MD 67-41184408-01:2021 privind fabricarea oțetului din vin și efectuate testări a tulpinii de bacterii acetice *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 în cadrul întreprinderii SRL V.DEVELOP. Rezultatele obținute au fost reflectate în rapoartele proiectului nr. 18.80015.5007.222T și în 2 brevete de invenție. Brevetul de invenție de scurtă durată cu nr. MD 1517 Y a fost solicitat de către SRL FERMENTED FRUTS care a încheiat contract de licență neexclusivă de folosire a acestuia, în scopul comercializării produsului obținut în urma aplicării procedurii descrise.

АННОТАЦИЯ

Боиштян Алина: „Оптимизация технологии и характеристики качества местного винного уксуса”, диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук, Кишинев, 2022.

Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключений и рекомендаций, списка литературы (204 источников), основной текст содержит 110 страницы, в том числе 43 рисунков и 39 таблиц (без учета приведенных в приложениях), 13 приложений. Полученные результаты отражены в 14 научных работах и в 2 патентах.

Ключевые слова: уксус, уксуснокислые бактерии, алкогольная ферментация, уксуснокислая ферментация, субстрат, вино.

Цель работы: заключается в оптимизации технологии получения уксуса из вина с использованием штамма уксуснокислых бактерий, выделенного из местной винодельческой продукции, инокулированного на субстрат из местного сырья и его использование для получения безалкогольных напитков.

Задачи работы: выделение чистых культур уксуснокислых бактерий из местных винодельческих продуктов и их идентификация по морфологическим, культуральным, физиологическим, биохимическим и молекулярным признакам; изучение существующих производителей и ассортимента уксусов в РМ; оценка влияния различных факторов на уксуснокислое брожение; оптимизация технологии получения винного уксуса; использование винного уксуса для получения безалкогольных напитков.

Научная новизна и оригинальность. Впервые проведено выделение и идентификация местного штамма уксуснокислых бактерий *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 из сырого белого винного уксуса, полученного из винограда сорта Noah. Установлены предельные дозы диоксида серы и заквасочной культуры, обеспечивающие эффективное протекание уксуснокислого брожения. Впервые в качестве субстрата для уксуснокислых бактерий была использована скорлупа грецкого ореха и фундука, что позволило сократить период брожения и повысить органолептические качества полученного уксуса. Было изучено изменение уровня глюкозы в крови после употребления разработанных безалкогольных напитков, и было установлено, что напитки относятся к группе продуктов с низким гликемическим индексом и могут быть рекомендованы в качестве здоровой альтернативы коммерческим напиткам.

Научная проблема: заключается в разработке и научном обосновании биотехнологических режимов получения уксуса из вина путем естественного брожения с использованием штамма уксуснокислых бактерий, выделенных из местного сырья, закрепленного на натуральном субстрате.

Теоретическая значимость. Применение методов молекулярной биологии для выделения и идентификации исследуемого штамма с помощью метода ПЦР в реальном времени. Продемонстрирована возможность улучшения хроматических параметров белого винного уксуса за счет использования скорлупы грецкого ореха в качестве субстрата для развития уксуснокислых бактерий, увеличение поверхности контакта с продуктом, что делает процесс производства уксуса более эффективным.

Практическая ценность работы: заключается в установлении оптимальных условий уксуснокислого брожения местного вина и разработке технических инструкций по получению винного уксуса. Технологические процессы, рекомендованные на основе исследования, могут быть применены на специализированных предприятиях, а использование скорлупы грецкого ореха решит проблему агропродовольственных отходов. Получено 2 патента на изобретения.

Внедрение научных результатов. Разработана технологическая инструкция IT MD 67-41184408-01:2021 по производству винного уксуса и проведены испытания штамма уксуснокислых бактерий *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 на предприятии SRL V.DEVELOP. Полученные результаты были отражены в отчетах проекта №. 18.80015.5007.222Т и в 2 патентах. Краткосрочный патент на изобретение №. MD 1517 Y был запрошен SRL FERMENTED FRUTS, которая заключила неисключительный лицензионный договор на его использование с целью маркетинга продукта, полученного в результате применения описанного процесса.

ABSTRACT

Boistean Alina: "Optimizing the technology and quality characteristics of local wine vinegar", doctoral thesis in engineering sciences. Chisinau, 2022.

The thesis consists of introduction, 5 chapters, general conclusion and recommendations, references (204 bibliographic sources), the basic text contains 110 pages, including 43 figures and 39 tables (except those indicated in the annexes), 13 annexes. The results are reflected in 14 scientific papers and 2 patents.

Keywords: vinegar, acetic bacteria, alcoholic fermentation, acetic fermentation, substratum, wine.

Purpose: consists in optimizing the technology for obtaining vinegar from wine using a strain of acetic acid bacteria isolated from local wine products, inoculated on a substrate from local raw materials and using it to produce soft drinks.

Objectives: isolation of pure cultures of acetic acid bacteria from local wine products and their identification by morphological, cultural, physiological, biochemical and molecular features; study of existing producers and range of vinegars in the Republic of Moldova; assessment of the influence of various factors on acetic acid fermentation; optimization of wine vinegar production technology; using wine vinegar to produce soft drinks.

Scientific novelty and originality. For the first time, a local strain of acetic acid bacteria *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 was isolated and identified from raw white wine vinegar obtained from Noah grapes. The limiting doses of sulfur dioxide and starter culture have been established, which ensure the effective flow of acetic acid fermentation. For the first time, walnut and hazelnut shells were used as a substrate for acetic acid bacteria, which made it possible to shorten the fermentation period and increase the organoleptic qualities of the resulting vinegar. The change in blood glucose levels after consumption of developed soft drinks was studied, and it was found that the drinks belong to the group of products with a low glycemic index and can be recommended as a healthy alternative to commercial drinks.

Solved scientific problem: consists in the development and scientific substantiation of biotechnological regimes for obtaining vinegar from wine by natural fermentation using a strain of acetic acid bacteria isolated from local raw materials, fixed on a natural substrate.

Theoretical significance. Application of molecular biology methods for the isolation and identification of the studied strain using the real-time PCR method. The possibility of improving the chromatic parameters of white wine vinegar by using walnut shell as a substrate for the development of acetic acid bacteria, increasing the contact surface with the product, which makes the vinegar production process more efficient, has been demonstrated.

Applicative value: consists in establishing the optimal conditions for the acetic fermentation of local wine and developing technical instructions for obtaining vinegar from wine. The technological procedures recommended on the basis of the study can be applied in specialized enterprises, and the use of walnut shells will solve the problem of agri-food waste. Received 2 patents for inventions.

Implementation of scientific results. The IT MD 67-41184408-01:2021 technological instruction on the manufacture of wine vinegar was developed and testing of the acetic bacteria strain *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 was carried out within the company SRL V.DEVELOP. The results obtained were reflected in the project reports no. 18.80015.5007.222T and in 2 patents. Short-term invention patent with no. MD 1517 Y was requested by SRL FERMENTED FRUTS, which concluded a non-exclusive license contract for its use, for the purpose of marketing the product obtained following the application of the described process.

LISTA TABELELOR

Tabelul 1.1.	Caracteristicile substratelor folosite la fabricarea oțetului	27
Tabelul 1.2.	Varietatea de oțeturi produse în diferite țări	30
Tabelul 1.3.	Caracteristicile fizico-chimice ale oțeturilor din vin alb și roșu	31
Tabelul 2.1.	Caracteristica materiei prime autohtone utilizate pentru selectarea tulpinilor de bacterii acetice	38
Tabelul 2.2.	Caracteristica materiei prime utilizate pentru optimizarea tehnologiei de obținere a oțetului	38
Tabelul 2.3.	Caracteristica materiei prime utilizate pentru fabricarea băuturilor nealcoolice	39
Tabelul 2.4.	Medii nutritive pentru cultivarea și izolarea bacteriilor	40
Tabelul 2.5.	Agenți de limpezire	41
Tabelul 2.6.	Metode de analiză aplicate în cadrul tezei	41
Tabelul 2.7.	Analiza rezultatelor la detectarea bacteriilor prin RT-PCR	44
Tabelul 3.1.	Caracteristici morfologice și culturale ale coloniilor de microorganisme cultivate	48
Tabelul 3.2.	Caracteristicile morfologice și culturale ale microorganismelor cultivate în scopul izolării	52
Tabelul 3.3.	Rezultatele organoleptice ale probelor după fermentarea acetică	55
Tabelul 3.4.	Reacții calitative de identificare a bacteriilor izolate	56
Tabelul 3.5.	Analiza datelor obținute prin metoda RT-PCR	59
Tabelul 4.1.	Analiza comparativă a sortimentului de oțet la nivel mondial și în RM	61
Tabelul 4.2.	Caracteristica concentratului din struguri albi	65
Tabelul 4.3.	Parametrii fizico-chimici ai produselor rezultate din fermentarea alcoolică	67
Tabelul 4.4.	Parametrii fizico-chimici ai produselor rezultate din fermentarea acetică	71
Tabelul 4.5.	Parametrii fizico-chimici ai materiei prime	73
Tabelul 4.6.	Caracteristica bacteriilor acetice după metoda directă de însămânțare	77
Tabelul 4.7.	Evoluția volumului probelor cu diferite substraturi	83

Tabelul 4.8.	Numărul de bacterii acetice plantate pe substrat	84
Tabelul 4.9.	Parametrii cromatici ai probelor cu diferite tipuri de substrat	88
Tabelul 4.10.	Parametrii fizico-chimici a oțetului din vin alb	89
Tabelul 4.11.	Conținutul de umiditate a agenților de limpezire	91
Tabelul 4.12.	Valorile densității agenților de limpezire	91
Tabelul 4.13.	Modificările pH, AT și densității oțetului după limpezire în dependență de regimul de temperatură	96
Tabelul 4.14.	Modificările pH, AT și densității a oțetului după limpezire în dependență de durata procesului de limpezire	98
Tabelul 4.15.	Indici fizico-chimici ai oțetului după limpezire în comparație cu HG	99
Tabelul 4.16.	Caracteristica oțeturilor albe	100
Tabelul 4.17.	Proprietățile antimicrobiene ale oțeturilor studiate	104
Tabelul 5.1.	Rețetele băuturilor nealcoolice elaborate	111
Tabelul 5.2.	Valoarea energetică a băuturilor elaborate	112
Tabelul 5.3.	Valoarea energetică a băuturilor din comerț	113
Tabelul 5.4.	Caracteristicile participanților	114
Tabelul 5.5.	Evoluția IG în timp în urma consumului băuturilor elaborate	115
Tabelul 5.6.	Caracteristicile fizico-chimice și cromatice ale băuturilor elaborate	117
Tabelul 5.7.	Dinamica dezvoltării microbiotei băuturilor	119

LISTA FIGURILOR

Fig. 1.1.	Acetator pentru procedeul submers	25
Fig. 1.2.	Acetatorul cu coloană de substrat Frings	28
Fig. 2.1.	Aspectul graficului RT-PCR	44
Fig. 3.1.	Peliculă bacteriană	54
Fig. 3.2.	Aciditatea totală a probelor obținute prin oxidarea bacteriilor acetice	55
Fig. 3.3.	Reacția controlului pozitiv pe canalul FAM (a) și HEX (b)	57
Fig. 3.4.	Amplificarea ADN al bacteriilor acetice pe canalul FAM (a) și HEX (b)	57
Fig. 4.1.	Țările de proveniență a oțeturilor comercializate în RM	59
Fig. 4.2.	Ponderea producătorilor autohtoni de oțet pe piața RM	60
Fig. 4.3.	Tipurile de oțeturi comercializate în RM	61
Fig. 4.4.	Evoluția conținutului de zahăr și alcool pe parcursul fermentării alcoolice a sucului de struguri fără adaos de nutrimente	65
Fig. 4.5.	Evoluția conținutului de zahăr și alcool pe parcursul fermentării alcoolice a sucului de struguri cu adaos de nutrimente	65
Fig. 4.6.	Evoluția AT și pH pe parcursul fermentării acetice a probelor fără adaos de nutrimente	69
Fig. 4.7.	Evoluția AT și pH pe parcursul fermentării acetice a probelor cu adaos de nutrimente	69
Fig. 4.8.	Evoluția pH a vinului cu diferite concentrații SO ₂ pe parcursul fermentării acetice	73
Fig. 4.9.	Evoluția densității vinului cu diferite concentrații SO ₂ pe parcursul fermentării acetice	74
Fig. 4.10.	Evoluția AT a vinului cu diferite concentrații SO ₂ pe parcursul fermentării acetice	75
Fig. 4.11.	Curba de creștere a culturii bacteriene	77
Fig. 4.12.	Evaluarea densității optice a vinului alb pe parcursul cultivării bacteriilor acetice	78
Fig. 4.13.	Evoluția densității probelor cu diferite cantități de maia (oțet din vin alb nefiltrat) pe parcursul fermentării acetice	79
Fig. 4.14.	Evoluția pH probelor cu diferite cantități de maia (oțet din vin alb nefiltrat) pe parcursul fermentării acetice	80
Fig. 4.15.	Evoluția AT a probelor cu diferite cantități de maia (oțet din vin alb nefiltrat) pe parcursul fermentării acetice	81
Fig. 4.16.	Evoluția AT a probelor cu substrat	84
Fig. 4.17.	Evoluția pH probelor cu substrat	85
Fig. 4.18.	Evoluția densității probelor cu substrat	86
Fig. 4.19.	Reprezentarea culorilor probelor conform sistemului CIELab	87
Fig. 4.20.	Valoarea pH suspensiilor agenților de limpezire la temperatura 18±2 ⁰ C	89
Fig. 4.21.	Valoarea indicelui de porozitate al agenților de limpezire	90
Fig. 4.22.	Modificarea indicelui de gonflare după 2 și 48 ore	91

Fig. 4.23.	Influența concentrației agenților de limpezire asupra densității optice a oțetului	92
Fig. 4.24.	Influența dozei agentului de limpezire asupra pH oțetului	92
Fig. 4.25.	Influența dozei agentului de limpezire asupra AT oțetului	92
Fig. 4.26.	Influența dozei agentului de limpezire asupra densității oțetului	93
Fig. 4.27.	Influența temperaturii asupra procesului de limpezire	94
Fig. 4.28.	Influența duratei de contact asupra procesului de limpezire	95
Fig. 4.29.	Influența duratei procesului de centrifugare asupra densității optice a oțetului tratat cu diferiți agenți	97
Fig. 4.30.	Valorile AT a oțeturilor din vin alb	99
Fig. 4.31.	Valorile alcoolului rezidual al oțeturilor din vin alb	100
Fig. 4.32.	Valorile densității oțeturilor din vin alb	100
Fig. 4.33.	Valoarea pH al oțeturilor din vin alb	101
Fig. 4.34.	Valorile extractului sec al oțeturilor din vin alb	101
Fig. 4.35.	Schema-bloc optimizată de obținere a oțetului din vin alb	105
Fig. 5.1.	Profilul senzorial al probelor	118
Fig. A.1.1.	Utilajul tehnologic proiectat și executat în cadrul proiectului	141
-A.1.5		
Fig. A.2.1.	Schema-bloc de extragere și detectarea a ADN	142
-A.2.2.		
Fig. A.3.1.	Adeverința de depozitare în CNMN a bacteriilor acetice izolate	144
Fig. A.4.1.	Rezultate sondajului privind utilizarea oțetului în bucătărie	145
-A.4.22.		
Fig. A.5.1.	Schema-bloc a procesului de fermentare alcoolică a concentratului din suc de struguri albi cu utilizarea nutrienților	152
Fig. A.7.1.	Analiza chimică a oțetului din vin alb elaborat	154
Fig. A.8.1.	Certificat de implementare a bacteriilor <i>Acetobacter aceti</i> CNMN-	155
- A.8.2.	<i>AcB-01</i> și instrucțiune tehnologică IT MD 67-41184408-01:2021	
Fig. A.9.1.	Brevet de invenție și contract de licență neexclusivă a brevetului MD	157
- A.9.2.	1517 Y	
Fig. A10.1.	Rezultate sondajului privind opinia consumatorilor despre prepararea	159
-A.10.18	băuturilor nealcoolice cu oțet	
Fig.A.11.1.	Schema-bloc de obținere a băuturilor nealcoolice cu oțet din vin alb	165
Fig.A.12.1.	Consimțământ informat al voluntarului	166
Fig.A.13.1.	Rezultatele monitorizării glucozei plasmatice în băuturile cercetate	167
-A.13.7.		

LISTA ABREVIERILOR

ADH	alcool dehidrogenază
ADN	acid dezoxiribonucleic
ALDH	aldehidă dehidrogenază
ANOVA	analiza varianței (eng. <i>ANalysis Of VAriance</i>)
AT	aciditatea totală
a*	componenta roșu/verde
b*	componenta galben/albastru
C*	Cromaticitate
CIELab	spațiu tridimensional de reprezentare a culorilor
DO	densitate optică
EN	standard european
GOST	standard interstatal
GYC	mediu microbiologic din glucoză, extract de drojdie, carbonat de calciu (eng. <i>Medium glucose, yeast extract, calcium carbonate</i>)
H°	unghi de nuanță
HG	Hotărârea Guvernului
HORECA	o abreviere <i>Hotel, Restaurant, Catering / Cafenea</i>
Ic	intensitatea culorii
ICS	întreprindere cu capital străin
IG	indice glicemic
IMC	indicele masei corporale
ISO	standard al Organizației Internaționale de Standardizare
L*	Luminozitate
Nc	nuanța culorii
OIV	Organizația Internațională a Viei și Vinului (eng. <i>International Organisation of Vine and Wine</i>)
PCR	reacția de polimerizare în lanț (eng. <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
pH	potențial de hidrogen
RAE	mediu microbiologic întărit cu acid acetic și etanol (eng. <i>Medium reinforced with acid acetic and ethanol</i>)
RM	Republica Moldova
SA	societate pe acțiuni
SRL	societate cu răspundere limitată
SM	standard moldovean
SPSS	pachetul statistic pentru științele sociale (eng. <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>)
SR	standard român
STAS	standard român elaborat până la 28 august 1992
SU	substanță uscată
SUA	Statele Unite ale Americii
T	temperatură, °C
TSS	totalul materiilor solide în suspensie (eng. <i>Total Solubil Solids</i>)
UAP	unitate de alimentație publică
UTM	Universitatea Tehnică a Moldovei
v/v	volum/volum (eng. <i>volume/volume</i>)
ΔE*	diferență globală de culoare

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța temei abordate

Viticultura constituie unul dintre sectoarele-cheie ale economiei Republicii Moldova (RM). În conformitate cu datele oferite de Organizația Internațională a Viei și Vinului, suprafața podgoriilor constituie 140 mii ha din teritoriul RM, reprezentând 1,9% din suprafață totală a plantațiilor viticole din întreaga lume. Ponderea cea mai mare a plantațiilor o dețin soiurile tehnice destinate producerii vinului și sucului. RM a contribuit la producerea vinului în lume în anul 2018 cu 2 milioane de hectolitri [1]. Soiurile cultivate în țară au un potențial genetic determinat de o productivitate înaltă. Realizarea acestui potențial este influențată negativ de următorii factori: monocultura și stresurile periodice climaterice [2]. O altă problemă ține de relațiile politice dintre țări, care stopează comercializarea vinurilor.

Pandemia COVID-19 a afectat industria mondială inclusiv cea vitivinicolă - ramură prioritară și strategică pentru RM. Conform statisticilor, exporturile de produse vinicole din Moldova au scăzut cu 9% în martie 2020 față de aceeași perioadă a anului 2019. Principalele motive ale declinului includ constrângerile logistice datorită măsurilor de carantină, reducerea cererii pe piețele tradiționale și amânarea sau anularea acțiunilor de promovare a vinului [3, 4].

Una dintre sarcinile principale ale politicii RM în domeniul alimentației sănătoase este extinderea gamei și îmbunătățirea calității produselor prin utilizarea mai deplină a materiilor prime locale și îmbunătățirea tehnologiilor de procesare [5]. Prelucrarea rațională a materiilor prime locale, inclusiv producția de oțet natural solicitat de consumatori la întreprinderile HORECA și de industria alimentară, este de o importanță majoră pentru asigurarea cu produse de înaltă calitate. Cel mai des este utilizat oțetul sintetic diluat, iar oțetul natural de calitate superioară este propus în rețelele comerciale într-un sortiment restrâns.

În RM, oțetul se obține prin diluarea alcoolului etilic și fermentarea acestuia. Produsul obținut este lipsit de macro- și micronutrimente, de valoare nutritivă și poate fi recomandat doar pentru utilizare industrială.

În prezent, produsele naturale sunt din ce în ce mai solicitate în rândul populației. Oțetul natural, datorită proceselor metabolice cauzate de bacteriile acetice, este bogat în minerale, oligoelemente, acizi organici, o serie de enzime și aminoacizi, o cantitate mică de esteri, aldehide și alți compuși organici, care îi conferă un gust deosebit și o aromă plăcută. Oțetul sintetic pentru uz alimentar este produs, de regulă, cu adăugarea unei varietăți de arome (identice cu cele naturale și sintetice). În unele țări (SUA, Franța, Bulgaria) producția de oțet în scop alimentar din acid acetic sintetic este interzisă [6].

E de menționat că o bună parte din oțeturile oferite pe piața RM provin din import. Volumul redus al producției autohtone de oțet este determinat de unele impedimente, cum ar fi instrucțiunile tehnice, unele acte normative învechite și lipsa de cultură starter bazată pe bacterii acetice autohtone. Problemele legate de optimizarea unor etape tehnologice, lărgirea sortimentului și îmbunătățirea calității oțetului sunt elucidate în lucrările savanților naționali și internaționali, inclusiv: B. Gaina [7], D. Beceanu [8], M. Begea [9], J. Horiuchi [10], C. Vegas [11] și al.

Utilizarea tradițională și integrarea oțeturilor în cultura consumului poate fi urmărită din timpuri străvechi. Moștenirea culturală din fiecare civilizație include obținerea oțeturilor prin ”acrire”, ceea ce ulterior a fost demonstrat de acțiunea microorganismelor implicate în fermentarea alcoolică și acetică [12].

În ultimii ani, vectorul cercetărilor în producerea oțeturilor naturale este îndreptat spre următoarele:

- lărgirea sortimentului de materie primă utilizată la producerea oțeturilor din fructe și pomușoare;
- identificarea tulpinilor de bacterii acetice utilizate pentru fermentarea controlată cu un randament înalt;
- utilizarea nutrimenților pentru sporirea procesului de fermentare;
- aplicarea noilor substanțe adjuvante pentru tratarea materiei prime (vinurile);
- trecerea la metode de fermentare în flux continuu;
- mărirea sortimentului oțetului prin valorificarea combinațiilor de materii prime, plantelor aromatice, ierburilor spontane și altele [13].

În prezent, pe teritoriul RM funcționează un număr limitat de întreprinderi specializate în producerea oțetului cum ar fi: STA ”Interterm” SRL cu marca comercială BELMAR, ”Haruz-Grup” SRL cu marca comercială NORA, ”Triodor” SRL cu marca comercială MOȘ ION, ADORYS și ROCCO, ”Liada-Nord” SRL cu marca comercială LIADA, cantități neesențiale de oțeturi mai sunt produse periodic de alte companii, de exemplu Natur Bravo SA ICS [14].

În acest sens, s-au efectuat cercetări științifice în ceea ce privește optimizarea unor parametri tehnologici de obținere a oțetului pe cale fermentativă naturală, utilizând suc concentrat din struguri albi și vin alb, materii prime accesibile în țara noastră.

Una dintre problemele cu care se confruntă mulți producători autohtoni este procurarea culturilor de bacterii acetice de import și adaptarea acestora la materiile prime locale. Din punct de vedere economic, utilizarea acestor culturi nu este eficientă, deoarece acestea afectează direct costul produselor finite [15]. Prezența tulpinilor de bacterii acetice izolate din materii prime locale

cu productivitate sporită izolate din produsele folosite la fabricarea oțetului permite producătorilor să obțină un produs mai calitativ într-un timp mai scurt.

O altă problemă este sulfitarea vinurilor, tehnică necesară pentru producerea vinului. Dioxidul de sulf se introduce în suc, must sau vin, chiar și în vinurile organice, dar în doze mai mici. Mulți producători refuză utilizarea vinului industrial la producerea oțetului, deoarece anhidrida sulfuroasă inhibă activitatea bacteriilor acetice, iar cantitatea maximă admisibilă pentru realizarea fermentării prin diferite metode nu este cunoscută [16].

Prezența dioxidului de sulf nu este singurul obstacol în calea bacteriilor acetice. Implicarea lor în procesul de fermentare acetică este influențată de valoarea populației inițiale, temperatură, pH, conținutul de alcool, oligoelemente, compușii fenolici, conținutul de zaharuri reducătoare, glicerol etc. [17]. Sunt cunoscute și alte cerințele privind factorii de creștere a bacteriilor acetice din lucrările lui Prescott și Dunn [18]. Majoritatea speciilor au nevoie în special de acid pantotenic, nicotinamidă, acid para-aminobenzoic și mai rar tiamină. Pe de altă parte, reproducerea bacteriană necesită prezența următorilor aminoacizi: valină, izoleucină, alanină, cisteină, histidină, prolină [19].

Se cunoaște că pentru obținerea oțetului se utilizează diferite substraturi cum ar fi: așchii sau rumeguș de lemn, știuleți de porumb, tulpina trestiei de zahăr și altele [20]. În premieră, la fermentarea acetică s-au utilizat în calitate de substrat materii prime autohtone: coaja de nucă (*Juglans regia L.*) și de alune (*Corylus L.*). Aproximativ 49-50% din masa nucului reprezintă coajă, care nu este valorificată la justa valoare, doar uneori fiind folosită la fabricarea brichetelor sau ca îngrășămintă.

În baza celor menționate, este evidentă actualitatea elaborării și aplicării tehnologiei noi, optimizate și ameliorarea calității oțetului din vin prin valorificarea materiei prime autohtone cu implicarea bacteriilor acetice locale.

Scopul cercetării expuse în prezenta lucrare constă în optimizarea tehnologiei de obținere a oțetului din vin cu utilizarea tulpinii de bacterii acetice izolate din produsele vitivinicole autohtone, inoculate pe substrat din materii prime locale și valorificarea acestuia pentru obținerea băuturilor nealcoolice.

Pentru atingerea scopului propus au fost stabilite următoarele **obiective ale cercetării**:

1. Izolarea culturilor pure de bacterii acetice din produsele vitivinicole autohtone și identificarea lor după caracteristicile morfologice, culturale, fiziologice, biochimice și moleculare

Obiective specifice în cadrul obiectivului 1:

- studiul microflorei produselor vitivinicole autohtone;

- selectarea tulpinilor de bacterii acetice izolate din materii prime autohtone;
- identificarea bacteriilor izolate prin teste biochimice și prin metoda moleculară real-time PCR (RT-PCR).

2. Studiul privind producătorii existenți și sortimentul de oțeturi în RM

Obiective specifice în cadrul obiectivului 2:

- analiza sortimentului de oțeturi din comerț;
- identificarea producătorilor autohtoni și celor din import;
- analiza opiniei respondenților cu privire la sortimentul de oțet.

3. Evaluarea influenței diferitor factori asupra fermentării acetice

Obiective specifice în cadrul obiectivului 3:

- caracteristica organoleptică și fizico-chimică a vinului și oțetului;
- stabilirea dozei-limită de dioxid de sulf asupra fermentării acetice;
- stabilirea dozei optime de bacterii acetice asupra fermentării acetice;
- evaluarea impactului utilizării substratului asupra fermentării acetice.

4. Optimizarea tehnologiei de obținere a oțetului din vin

Obiective specifice în cadrul obiectivului 4:

- folosirea tulpinilor izolate din materii prime autohtone în tehnologia de obținere a oțetului;
- obținerea oțetului din suc concentrat de struguri;
- evaluarea impactului adăugării nutrimenților asupra procesului de fermentare;
- limpezirea oțetului cu diferiți agenți.

5. Valorificarea oțetului din vin pentru obținerea unor băuturi nealcoolice

Obiective specifice în cadrul obiectivului 5:

- elaborarea schemei tehnologice și identificarea parametrilor optimi de fabricare a unor băuturi nealcoolice;
- evaluarea indicilor calității băuturilor nealcoolice prin metode organoleptice, fizico-chimice și microbiologice;
- influența consumului băuturilor nealcoolice asupra indicelui glicemic.

Ipotezele de cercetare rezultă din analiza situației în domeniu și constau în următoarele:

1. Eficiența tehnologiilor de fabricare a oțetului din vin poate fi sporită prin utilizarea tulpinilor de bacterii acetice autohtone cu proprietăți tehnologice avansate, adaptate la calitatea materiei prime și condițiile specifice de producere.

2. Valorificarea vinului de calitate inferioară, a culturilor acetice izolate și a substraturilor ecologice de proveniență autohtonă în procesul de fabricare a oțetului din vin prin asigurarea unui efect pozitiv dublu - tehnologic și igienic.

Sinteza metodologiei de cercetare și justificarea metodelor de cercetare alese. Pentru realizarea lucrării au fost utilizate metode clasice și de înaltă performanță. Pentru izolarea și identificarea tulpinii bacteriilor acetice din materii prime autohtone au fost utilizate: analiza morfologică, fiziologică și biochimică a culturii; confirmarea apartenenței bacteriilor izolate la genul *Acetobacter* prin compararea ADN al bacteriilor, folosind metoda RT-PCR. Pentru controlul și confirmarea calității procesului de fermentare au fost aplicate metode microbiologice și fizico-chimice. Efectul substratului asupra indicilor cromatici a fost evaluat prin spectroscopia UV/Vis și prin sistemul CIELab. Au fost utilizate metode de determinare a calității alimentelor elaborate (senzoriale, fizico-chimice și microbiologice), precum și indicele glicemic al acestora.

Noutatea și originalitatea științifică. Pentru prima dată a fost efectuată izolarea și identificarea unei tulpini autohtone de bacterii acetice *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 provenite din oțet artizanal din vin alb obținut din soiul de viță-de-vie Noah. Au fost stabilite dozele-limită de dioxid de sulf și de cultură starter pentru asigurarea derulării eficiente a fermentării acetice. În premieră a fost utilizată coaja de nuci grecești și alune în calitate de substrat pentru bacteriile acetice, astfel micșorând perioada de fermentare și sporind calitățile organoleptice ale oțetului obținut. A fost examinată evoluția glicemiei după consumarea băuturilor nealcoolice elaborate în bază fructelor, pomuşoarelor, plantelor aromatice, oțetului din vin alb etc., constatându-se că băuturile se clasifică în grupa produselor cu indice glicemic scăzut și pot fi recomandate ca alternativă sănătoasă băuturilor din comerț.

Semnificația teoretică. Aplicarea tehnicilor de biologie moleculară pentru izolarea și identificarea tulpinii studiate prin utilizarea metodei real-time PCR. A fost demonstrată posibilitatea ameliorării parametrilor cromatici ai oțetului din vin alb prin utilizarea cojii de nuci ca substrat pentru dezvoltarea bacteriilor acetice, măbind suprafața de contact cu produsul, astfel eficientizând procesul de fabricare a oțetului.

Sumarul compartimentelor tezei

Teza constă din introducere, 5 capitole, concluzii și recomandări, bibliografie (204 titluri) înserate în 110 pagini conținut de bază, inclusiv 43 figuri, 39 tabele (cu excepția celor indicate în anexe), 13 anexe. Rezultatele au fost reflectate în 14 lucrări științifice și 2 brevete.

Introducerea cuprinde argumentarea actualității temei abordate, noutatea științifică a lucrării, valoarea teoretică și aplicativă a rezultatelor obținute; formularea obiectivelor și problemelor de cercetare.

În capitolul I, „*Aspecte fizico-chimice și microbiologice ale obținerii oțetului din vin*”, este prezentată definiția, descrisă compoziția chimică și clasificarea oțeturilor, aspectele microbiologice, procesele tehnologice de obținere a acestuia, precum și parametrii fizico-chimici de calitate. Capitolul finalizează cu concluzii și formularea obiectivelor de cercetare.

Capitolul II, „*Materiale și metode de cercetare*”, conține descrierea obiectelor de cercetare, metodele și tehnicile utilizate pe parcursul investigațiilor științifice; metodologia folosită care întrunește totalitatea metodelor standardizate și moderne, metodele de determinare a indicilor organoleptici, fizico-chimici, microbiologici și metodologia prelucrării statistice a datelor experimentale.

În capitolul III, „*Selectarea tulpinilor de bacterii acetice din materii prime autohtone*”, sunt reflectate rezultatele procesului de izolare a bacteriilor acetice din produsele vitivinicole autohtone, caracteristicile morfologice și fizico-chimice ale tulpinilor selectate, detectarea bacteriilor acetice prin diferite teste și prin metoda RT-PCR.

În capitolul IV, „*Optimizarea tehnologiei de obținere a oțetului din vin*”, sunt expuse rezultatele procesului obținerii oțetului din concentrat de struguri cu/și fără utilizarea nutrimentelor, rezultatele fermentării acetice cu ajutorul substratului din coaja de nucă și alune, ale determinării influenței factorilor tehnologici și de calitate ai oțetului obținut, influența diferitor agenți de limpezire asupra parametrilor fizico-chimici ai oțetului. Capitolul finalizează cu concluzii și recomandări tehnologice.

În capitolul V, „*Aplicarea oțetului din vin în tehnologia de fabricare a băuturilor nealcoolice*”, este prezentată schema tehnologică de obținere a băuturilor nealcoolice pe bază de oțet din vin: din prune cu levănțică, din piersici cu scorțișoară, din mere cu vanilie, din zmeură cu mentă, din căpșună cu busuioc. Sunt prezentați indicii organoleptici, fizico-chimici, microbiologici și valoarea energetică a acestor băuturi, precum și impactul consumului băuturilor elaborate asupra indicelui glicemic.

Teza se încheie cu **concluzii finale și recomandări**.

Valoarea aplicativă: constă în stabilirea condițiilor optime de fermentare acetică a vinului autohton și elaborarea instrucțiunilor tehnice pentru obținerea oțetului din vin. Procedeele tehnologice recomandate în baza studiului pot fi aplicate la întreprinderile de profil, iar utilizarea cojii de nuci soluționează problema deșeurilor agroalimentare. Au fost obținute 2 brevete de invenție.

Aprobarea rezultatelor. Rezultatele principale ale tezei au fost comunicate și discutate la un șir de conferințe și simpozioane științifice naționale și internaționale: Simpozionul Internațional „Euro-Aliment”, Galați, 2019; Conferința Internațională „Zilele Academiei de Științe Tehnice din România”, 2019, ediția a XIV-a cu tematica „Creativitatea în dezvoltarea Societății Cunoașterii” organizată de Academia de Științe Tehnice din România și din Chișinău împreună cu Universitatea Tehnică a Moldovei la 17-18 octombrie 2019; Conferința Tehnico-Științifică a Colaboratorilor, Doctoranzilor și Studenților, UTM, Chișinău, 2020; Conferința internațională pentru studenți, masteranzi și doctoranzi „Student în Bucovina”, 18 decembrie 2020; Conferința științifico-practică națională „Inovația: factor al dezvoltării social-economice”, ediția a V-a, Cahul, 17 decembrie 2020; Simpozionul științific național cu participare internațională: Biotehnologii moderne - soluții pentru provocările lumii contemporane, Chișinău, 2021, 20-21 mai; a 16-a Conferința internațională de proiectare constructivă și optimizare tehnologică în domeniul construcției de mașini, Bacău, 25-27 mai 2021; Conferința Internațională de Cercetare Inovatoare EUROINVENT, 20-21 mai 2021, Iași, România; Conferința științifică a școlii de doctorat, SCDS-UDJG a 9-a ediție, Galați, 10-11 iunie 2021; EURO-ALIMENT 2021, the 10th International Symposium, 7-8 October, Galați, România; Salonul Cercetării Științifice, Inovării și Inventicii PROINVENT, ediția a XIX-a, 20-22 octombrie 2021, Cluj-Napoca, România; Expoziția Internațională Specializată INFOINVENT, ediția a XVII-a din 17-20 noiembrie 2021; Simpozionul Științific Internațional „Sectorul Agroalimentar - Realizări și Perspective” 19-20 noiembrie 2021, Chișinău, Moldova.

Publicații la tema tezei. Conținutul de bază al tezei de doctor este expus într-un capitol dintr-o monografie internațională; în 4 articole publicate în reviste științifice indexate în BDI; 1 lucrare fără coautori; două brevete de invenție în RM; 9 teze în culegeri și rezumate la manifestări științifice naționale și internaționale.

Cuvinte cheie: oțet, bacterii acetice, fermentare alcoolică, fermentare acetică, substrat, vin.

1. ASPECTE FIZICO-CHIMICE ȘI MICROBIOLOGICE ALE OȚETULUI DIN VIN

Compartimentul dat conține analiza comparativă succintă a situației existente în domeniu, a materialelor științifice referitoare la procesul de fermentare acetică și la procedeele biotehnologice lente și rapide de obținere a acidului acetic. În continuare, este prezentată o scurtă caracteristică a compoziției chimice, calității și condițiilor de admisibilitate a oțeturilor și a căilor de alterare a lor.

1.1. Microbiologia fermentării acetice

Acidul acetic, sub formă de oțet, este produs cu ajutorul bacteriilor acetice. Din punct de vedere taxonomic, bacteriile acetice fac parte din familia *Pseudomonadoceae*, genul *Acetobacter* și genul *Gluconobacter*. Ele sunt frecvent întâlnite în natură pe materii prime vegetale [21].

Bacteriile acetice se identifică prin forma lor de bastonașe. Fiind Gr⁻ ele pot fi grupate în perechi sau lanțuri, având dimensiuni fluctuante. Bacteriile acetice se dezvoltă sub forma unui voal fragil, inoculate pe medii lichide, creșterea cărora în dimensiuni are loc în ascensiune pe pereții vasului (*A.ascendee*, *A.acetic*), iar alte specii (*A.Xylinium*, *A.Xilivoidec*) sunt capabile să producă o peliculă gelatinoasă de natură β-gluconică atât în vin, cât și în oțet [22].

Bacteriile acetice se referă la mezofile (temperatura optimă 30°C) și pot declanșa procesul de fermentare acetică într-un interval de temperatură de la 0 până la 35°C. Totodată, aceste bacterii au termorezistență joasă în mediul lichid (inactivarea la temperatura 60°C, timp de 1 min.) și în suporturi solide, ca de exemplu doagele de lemn, în care termorezistența lor este mai ridicată (inactivarea la temperatura 100°C) [23].

Bacteriile acetice fac parte din grupa bacteriilor acido-tolerante care se dezvoltă la pH optim 5,5. Aceasta se justifică prin faptul că membrana acestor bacterii are un conținut ridicat în acizi grași saturați și este impermeabilă pentru acidul acetic [21].

În calitate de surse de carbon, bacteriile folosesc glucidele și alcoolul etilic. Ca rezultat, alcoolul etilic se oxidează în acid acetic, iar glucoza trece în acid gluconic. În calitate de surse de azot, bacteriile utilizează sărurile de amoniu, aminoacizii și peptidele. Totodată, bacteriile acetice au capacitatea de a se dezvolta și în mediul mineral, dar numai în condițiile în care se adaugă extract de drojdie [24].

Speciile genului *Acetobacter* implicate în procesul de acescență în oțetul din vin sunt în principal *A. aceti*, *A. cerevisiae*, *A. estunensis*, *A. malorum*, *A. oeni*, *A. pasteurianus*, *A. pomorum*, *G. oxydans*, *Ga. entanii*, *Ga. europaeus*, *Ga. hansenii*, *Ga. intermedius*, *Ga. liquefaciens*, *Ga. oboediens*, *Ga. Xylinus* [25]. *A. pasteurianus*, de obicei, domină în producția de oțeturi cu un conținut scăzut de acid acetic (4-7% g/v), în timp ce speciile *Gluconacetobacter* (*Ga. xylinus*, *Ga. Europaeus*, *Ga. Intermedius*

și *Ga. Oboediens*) se găsesc în oțeturile industriale cu aciditate ridicată (până la 15-20% g/v) [26]. Trček și colaboratorii au demonstrat că *Ga. europaeus* se adaptează la concentrații ridicate de acid acetic datorită modificării conținutului de fosfolipide în membrana citoplasmatică [27].

Pentru oțetul cu aciditate medie, cum ar fi oțetul balsamic tradițional, speciile predominante sunt *A. pasteurianus*, *Ga. europaeus* și *Ga. Xylinus*. Astfel, diferite specii de bacterii acetice pot fi asociate în timpul producției de oțet pentru a optimiza proprietățile fiecărei specii. *Acetobacter spp.* este un producător bun de acizi, dar poate oxida complet acidul acetic până la CO₂ și H₂O, în timp ce *Gluconobacter* nu oxidează acidul acetic. Toleranța mai mare a *Gluconacetobacter* la acidul acetic ar putea explica contribuția acestuia la sfârșitul proceselor în care conținutul de acid acetic este mai mare. În funcție de tulpinile utilizate, fermentare secundare asociate cu fermentarea acidului acetic adesea conduc la formarea unor arome și gusturi tipice ale oțetului [28]. Unele tulpini de *Ga. Europaeus* folosite pentru producția de oțet de orez sunt cunoscute ca producătoare de acetone, care afectează calitatea organoleptică a oțetului. O modificare genetică a bacteriilor acetice poate reduce producția de acetonă prin utilizarea tulpinii *Ga. europaeus* [29].

Referitor la bacteriile acetice implicate în producerea oțetului din vin, predominant pe tot parcursul procesului de fermentare sunt bacteriile *A. pasteurianus* [30, 31]. Cu toate acestea, o altă specie, *Ga. Europaeus*, se dezvoltă când concentrația de acid acetic este mai mare de 6% (masă/volum). Prin urmare, diferitele tulpini de bacterii acetice se dezvoltă consecutiv în funcție de concentrația de acid acetic, fapt care urmează a fi luat în considerație la utilizarea culturii starter pentru a îmbunătăți controlul procesului de obținere a oțetului și calitățile senzoriale ale acestuia [31].

Viteza de trecere a alcoolului etilic în acid acetic depinde atât de natura microorganismelor, cât și de tipul substratului, gradul de aerare, de temperatură care este invers proporțională și care scade odată cu creșterea concentrației acidului acetic prezent în mediu [32].

În desfășurarea procesului de fermentare acetică este important numărul microorganismelor la începutul alterării. Viteza de dezvoltare a bacteriilor în acest proces depinde de numărul celulelor care se găsesc la suprafață, fiind reținute de forțele capilare ce intră în contact cu pereții vasului și cu lichidul. După formarea voalului, cantitățile de acid acetic obținute devin foarte apropiate, indiferent de cantitatea inițială a populației de bacterii acetice [33].

1.2. Aspecte fizico-chimice ale fermentării acetice

Procesul de oțetire se desfășoară cu atât mai repede, cu cât temperatura este mai înaltă. S-a demonstrat că la temperatura de 28°C aciditatea volatilă formată la începutul alterării a fost de patru ori mai mare de cât la temperatura de 18°C [34]. În procesul de multiplicare a bacteriilor acetice, oxigenul este catalizatorul de bază. În aceste condiții, bacteriile acetice au nevoie de mult aer pentru

a se multiplica și a iniția fermentarea acetică. S-a constatat că în timpul fermentării bacteriile acetice au nevoie de oxigen în volum de 2 litri pentru obținerea unui gram de acid acetic din alcool. Holt și coleg. au determinat pH limită pentru dezvoltarea bacteriilor acetice în vinurile cu 8% alc. În cazul vinurilor cu $\text{pH} > 3,0$, s-a format voalul cu levurile micodermice la suprafață [35].

Pentru dezvoltarea bacteriilor acetice nivelul de alcool este un factor decisiv. În practica oenologică este cunoscut faptul că în vinurile cu grad alcoolic mai ridicat oțetirea apare mai rar. Totodată, este greu de stabilit concentrația alcoolică la care vinul devine incapabil de a crea condiții pentru multiplicarea bacteriilor acetice. Se atestă că procesul de oțetire a vinurilor cu un conținut mai mare de 12% alc. este specific regiunilor vitivinicole nordice, iar pentru cele sudice -15% alc. [36].

Substanțele tanante din vinuri nu favorizează dezvoltarea bacteriilor acetice, dimpotrivă, o diminuează esențial, mai ales, în concentrații sporite. Cercetătorul Zancanaro a demonstrat că procesul de oțetire la vinurile roze au decurs mai rapid în comparație cu cele roșii. S-a constatat că consistența voalului a crescut odată cu micșorarea conținutului de taninuri în vinuri [37].

În activitatea de multiplicare a bacteriilor acetice pot interveni și alți factori cum ar fi sărurile minerale din vin. Literatura de specialitate atestă că, de obicei, conținutul de săruri minerale este suficient pentru dezvoltarea bacteriilor acetice. Robert și colab. au confirmat ipoteza că conținutul mare de citocromi din celulele bacteriilor acetice necesită cantități sporite de fier. Reducerea cantității de fier sub un miligram la litru din vin, prin tratarea cu ferocianură de potasiu sau fitat de calciu, nu conduce la încetinirea dezvoltării bacteriilor acetice [38].

În practica industrială, în procesul de acidifiere uneori sunt utilizate preparate pe bază de fosfați ce favorizează fermentarea acetică. Totodată, Fe, Mn, Fe_2O_3 coloidal și sărurile de uraniu catalizează dezvoltarea bacteriilor acetice. Dezvoltarea acestor bacterii necesită prezența aminoacizilor: histidină, alanină, valină, leucină, cisteină și prolină. De asemenea, azotul amoniacal contribuie la diferențierea unor specii de bacterii acetice. Majoritatea speciilor de bacterii au nevoie de vitamine ca PP, B₅, B₁₀ etc. Fermentarea spontană, ce decurge în absența anhidridei sulfuroase a mustului din strugurii alterați, duce deseori la dezvoltarea bacteriilor acetice prin simbioză cu unele levuri, astfel formându-se proporții mai mari de acizi volatili. Acest proces se intensifică mai ales la temperaturi ridicate [36].

1.3. Procedee biotehnologice de fabricare a oțetului

Procesele biotehnologice, indiferent de tehnologia aplicată, sunt bazate pe fermentarea acetică a unor componenți alcoolici. Tehnologia de fabricare a oțetului constă în următoarele etape de bază: prepararea substratului hidroalcoolic, fermentarea acetică și operația de maturare care poate fi aplicată selectiv, în funcție de tipul fermentării.

La fabricarea oțetului se utilizează diverse materii prime, inclusiv vin, cidru, alcool etilic și alte soluții alcoolice obținute după fermentarea alcoolică. În cazul fermentării acetice, în calitate de materie primă de bază pot servi sucurile de fructe, mierea, mustul de malț etc. Principala condiție de obținere a oțetului din aceste materii prime este prezența alcoolului etilic. Materia primă menționată anterior poate fi folosită separat sau în amestec, cu/sau fără adaos de apă. Concentrația soluțiilor hidroalcoolice obținute din materia primă poate să varieze de la 4% până la 16% (v/v). De concentrația alcoolică în materia primă depinde tăria acetică și randamentul de conversie corespunzător tehnologiei aplicate [36].

În scopul desfășurării fermentării acetice în condiții favorabile, pe lângă prezența alcoolului etilic sunt necesare nutrimente secundare și factori de creștere. În calitate de materie primă se utilizează vinul sau lichidele alcoolice provenite din fermentarea sucurilor de fructe și a mustului de malț. În aceste condiții adăugarea nutrimenților secundare nu este necesară. Totodată, până la o anumită limită, fermentarea acetică poate fi dirijată în condiții relativ acceptabile, indiferent de folosirea amestecurilor din materiile prime descrise mai sus, precum apă și alcool etilic. În situația în care fracția de vin, must de malț și suc de fructe fermentat este mai mică de 50-60%, este necesară adăugarea suplimentară a elementelor nutritive. Substanțele nutritive utilizate au efect pozitiv, inclusiv asupra substraturilor formate exclusiv din vin. Cantitatea și proporția dintre aceste nutrimente depinde de natura substratului. De regulă, sunt utilizate săruri de amoniu - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$; săruri de fosfor - K_2SO_4 , K_3PO_4 ; săruri de potasiu și extracte de malț condiționate sub diverse forme [39].

Martin și colab. menționează că oțetul colectat se păstrează minimum o lună în vase pentru desfășurarea maturării și limpezirii, urmată de o corecție compoziției, filtrare, îmbuteliere, depozitare temporară precum și livrare. În funcție de situație, poate fi aplicată etapa de stabilizare a oțetului [39].

Shukla și colab. au raportat că în oțetul obținut se conțin impurități, care au un aspect tulbure sau sunt ușor colorate. În cazul prezenței impurităților, se recurge la operația de filtrare sau "cleirea" cu gelatină. În scopul intensificării culorii oțetului se recurge la administrarea anumitor coloranți alimentari. Se interzice adăugarea în oțet a substanțelor artificiale, inclusiv: aromatizatori, conservanți și îndulcitori sintetici. Numai după maturare, după formarea aromei și buchetului oțetul din vin poate fi propus în consum [40].

Procesul tehnologic de obținere a acidului acetic pot fi lent, de tip Orleans, și rapid sau cu fermentare submersă, în care se utilizează coloane cu substrat.

1.3.1. Procedee cu fermentare submersă

După anii 1950 s-a observat un progres industrial în fermentarea acetică de tip submers datorită experienței acumulate în obținerea antibioticelor. Așadar, acetatorul de tip clasic pentru fermentarea acetică submersă, cu suprafața de transfer gaz-lichid formată cu ajutorul substratului, este înlocuită cu suprafața unor bule de aer cu dimensiuni mici, care sunt distribuite în toată masa lichidului aflat în acetator. De asemenea, „cuibul de oțet” este substituit cu bacteriile acetice din culturile selecționate [41].

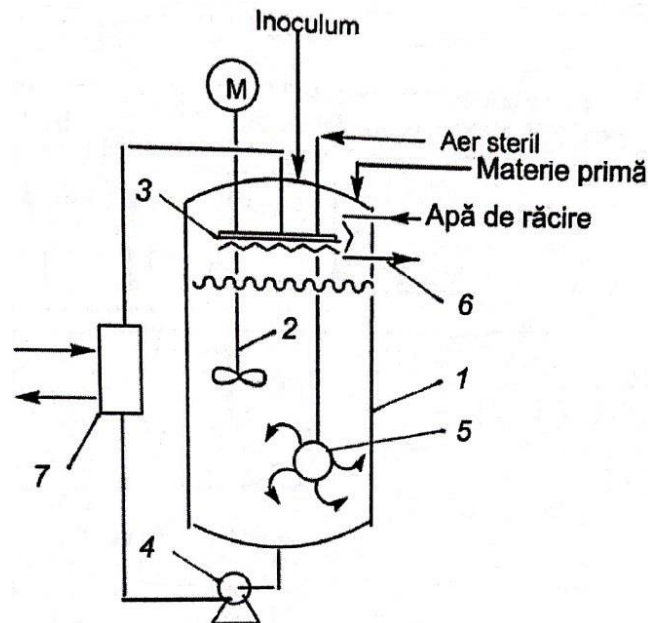


Fig. 1.1. Acetator pentru procedeul submers

1- corpul acetatorului; 2 - agitator; 3 - distribuitor de materie primă;
4 - pompă de recirculare; 5 - distribuitor de aer; 6 - condensator;
7 - schimbător de căldură.

Lynch și colab. au menționat că primele aparate în care se efectua fermentarea submersă, în scopul repartizării bulelor de oxigen avea o placă din sticlă groasă sinterizată. Apoi au apărut bioreactoarele moderne industriale care produc oțetul prin fermentarea submersă care sunt de tipuri Vogelbusch. Ele generează o suprafață mai mare de contact între aer și lichid cu ajutorul mijloacelor mecanice speciale [42].

Bohumil Sikyta a raportat că un bioreactor tipic din această clasă este construit dintr-un recipient din oțel inoxidabil, cu rezistență sporită la acizi sau obținut din polipropilenă armată cu fibre de sticlă. Aparatul este dotat cu sistem mecanic de distribuire a aerului sub formă de bule cu diametrul mic format din turbină cu sau fără autoaspirație, injector special combinat cu un sistem de palete în scopul creării unui regim puternic turbionar. În interiorul recipientului, pe suprafața de transfer termic sunt

montate un schimbător de căldură extern, spărgător de spumă (tip mecanic, cu elemente active), condensator pentru recuperarea vaporilor de acid acetic, aparate de automatizare și control [43].

Totodată, acetatorul trebuie să fie dotat cu elemente pentru măsurarea temperaturii, conținutului de oxigen dizolvat, conținutului de alcool, precum și a nivelului de lichid și spumă. Dirijarea procesului se efectuează automat, fiind conectat la un calculator ce permite reglarea continuă a temperaturii și a conținutului de oxigen dizolvat (figura 1.1.) [44].

Acetatoarele moderne asigură extragerea automată a 30-50% din volumul de lichid în momentul atingerii a 0,2% din conținutul rezidual de alcool etilic, după care are loc suplinirea treptată a materiei prime în scopul menținerii temperaturii în diapazonul optimal pentru bacteriile acetice.

García-García și colab. menționează că productivitatea agitatoarelor moderne depinde de nivelul de aerare ($5-15 \text{ m}^3 \text{ aer/m}^3 \text{ soluție pe oră}$) și de eficacitatea distribuirii aerului sub formă de bule fine. Acetatorul de tip submers are capacitatea de a produce un volum util de $25-30 \text{ m}^3$ în 24 de ore. Volumul util se consideră 60-70% din volumul total. De exemplu, în cazul unui acetator cu un volum util de 21 m^3 , durata fermentării este de aproximativ 30 de ore pentru obținerea unei tării finale de 120 g/L de acid acetic. Acest randament este net superior în comparație cu acetatoarele cu substrat, care au capacitatea maximă de 98% din randamentul teoretic [45].

Fermentarea submersă oferă posibilitatea de a obține soluții cu o tărie acetică de peste 150 g/L de acid acetic. La obținerea unei concentrații mai mari de acid acetic are loc separarea fermentării în două trepte ce se desfășoară în diferite bioreactoare, cu culturi diferite și parametri specifici.

Heinrich Frings menționează în brevet că din punctul de vedere al operării, acetatoarele submerse sunt mai sensibile decât cele cu coloană de substrat. Dezavantajul constă în faptul că în absența aerării pe durate foarte scurte (sub 1 min.) provoacă o reducere considerabilă a numărului de bacterii acetice active, influențând atât durata ciclului, cât și randamentul. Astfel de situații sunt remediate prin folosirea unor surse de rezervă pentru alimentarea cu energie și a unor sisteme de automatizare cu siguranță mare în exploatare [46].

Oțetul obținut prin fermentare submersă are transparența soluției mai joasă și este mai puțin aromat în comparație cu cel produs în acetatoare cu substrat. De aceea, oțetul este supus operației de limpezire/filtrare și în anumite cazuri se supune operației de maturare/învechire în butoaie de lemn. Ca rezultat se obține un oțet bogat în componenți biologici, rezultat al autolizei celulelor bacteriene [47].

În urma analizei tehnicilor expuse, putem afirma că fermentarea submersă, din punct de vedere economic, este mai avantajoasă, ținând cont de faptul că prețul unității de suprafață

construită este mare. Acest tip de fermentare acetică este preconizat pentru realizarea unor linii de producție a acidului acetic glacial de origine biologică. De aceea, acidul acetic de fermentare se extrage cu ajutorul acetatului de etil, după care se separă și se concentrează prin distilare.

1.3.2. Procedee rapide cu utilizarea coloanelor cu substrat

Peppler și colab. menționează că pentru desfășurarea procedeele de fermentare rapidă cu utilizarea substratului, în scopul atingerii unui nivel înalt de oxigen dizolvat, masa se repartizează în coloana cu substrat, ce asigură o suprafață mare de transfer gaz-lichid. Repartizarea masei se efectuează în proces continuu (procedeu în care se practică stropirea uniformă a părții superioare a coloanei cu substrat) sau discontinuu (procedeu în care se practică imersia periodică a coloanei cu substrat). Mai frecvent este utilizată prima variantă, fiindcă acest mod de aerare fluctuează mai puțin și, ca rezultat, fermentarea acetică decurge în condiții mai bune atât din punct de vedere al randamentului, cât și al vitezei [48].

Bourgeois și colab. au raportat că aparatul Frings, proiectat în secolul al XIX-lea și perfecționat pe parcurs, a constituit principalul tip de acetator utilizat până la dezvoltarea industrială a fermentării acetice submerse (figura 1.2.) [49]. De regulă, substratul este format din talaș de fag roșu, dar poate fi utilizat talașul de stejar, piatra ponce, cocsul sau mangalul tratat în prealabil cu HCl diluat. Densitatea și capacitatea de îmbibare a unor materiale de substrat sunt incluse în tabelul 1.1.

Tabelul. 1.1. Caracteristicile substratelor folosite la fabricarea oțetului [50]

Caracteristici	Talaș de mesteacăn	Talaș de fag	Piatră ponce	Mangal	Cocs
Capacitatea de absorbție, m ³ /kg	200	40 – 450	260 - 370	280	8
Densitate, kg/ m ³	160	180 – 225	430	240	450

Constructiv, acetatorul Frings include un vas tronconic cu volumul de 10-25m³, având o ușoară înclinație în interiorul căruia este amplasată o coloană cu substrat fixată între două grătare. Bourgeois și colab. au menționat că extragerea soluției alcoolice (parțial acetificată) din partea inferioară a aparatului poate fi realizată prin recirculația continuă utilizând o pompă. Ulterior, soluția este dispersată uniform pe substrat cu ajutorul unui distribuitor [49].

Zhengliang și colab. au menționat că pentru a obține o suprafață maximă cu transferul de gaz și lichid în direcția curgerii gravitaționale, distribuitorul trebuie să asigure o dispersie bună și uniformă a soluției. Aerul proaspăt circulă în forma de curent prin coloana în direcția opusă a mișcării lichidului. Pe toată înălțimea aparatului, aerul pătrunde prin orificiile repartizate în spirală și se elimină din acetator prin segmentul de sus [51].

Ghosh și coleg. au menționat că conversia fiecărui mol de alcool etilic este însoțită de eliberarea unei cantități de căldură de aproximativ 500 kJ. Ponderea cea mai însemnată a energiei termice este transmisă curentului de aer, ce circulă în mediul exterior. În cazul în care viteza de conversie a alcoolului etilic în acid acetic crește peste o limită, sau temperatura mediului exterior este ridicată, este important preluarea surplusului de căldură cu ajutorul unui schimbător de căldură. Este cunoscut faptul că, regimul termic normal de funcționare a acetatorului corespunde următoarelor nivele de temperatură: $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ în partea de sus; $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ în partea centrală și $32\pm 2^{\circ}\text{C}$ în partea de jos. Este necesar de monitorizat temperatura pe toată înălțimea coloanei utilizate [52].

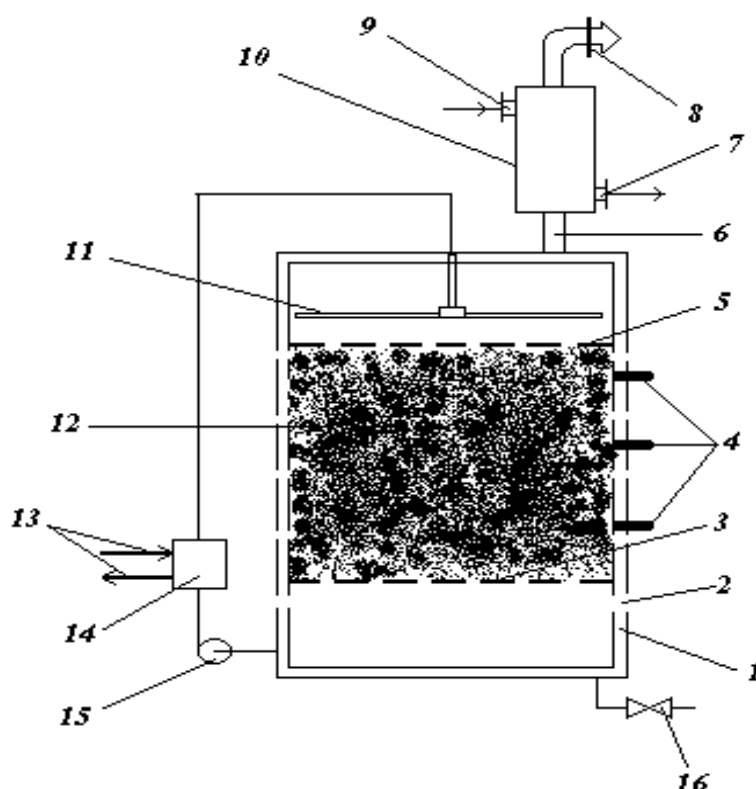


Fig. 1.2. Acetatorul cu coloană de substrat Frings [53]

1 - corpul acetatorului; 2 - orificii de admisie a aerului; 3 - grătar inferior; 4 - termometru;
5 - grătar superior; 6 - racord de evacuare a aerului din acetator; 7 - racord de ieșire a agentului de răcire; 8 - racord de evacuare a aerului din condensator; 9 - racord de intrare a agentului de răcire; 10 - condensator; 11 - dispozitiv de stropire; 12 - coloană cu substrat; 13 - racorduri pentru agentul de răcire; 14 - schimbător de căldură; 15 - pompă;
16 - racord de evacuare

García-García și colab. au demonstrat că monitorizarea procesului de fermentare se efectuează prin acționarea asupra parametrilor: debitul de aer proaspăt (are loc la deschiderea orificiilor de aerisire); temperatura lichidului, care este distribuit pe partea superioară a coloanei (are loc prin modificarea temperaturii agentului de răcire folosit la schimbătorul de căldură) și gradul de recirculare (prin modificarea volumului lichidului pompat).

La prima pornire a aparatului se utilizează un amestec de materie primă și soluție alcoolică, care este aflată în stare de fermentare acetică, ca de exemplu cuib de oțet, ce este preluat din alt acetator. Prima pornirea a acetatorului este un proces delicat, fiind recomandat să fie urmărită cu atenție temperaturile în cele trei zone ale substratului și în caz de necesitate să se intervină prin modificarea fluxului de aer sau a regimului de pompare [53].

Miranda și colab. au menționat că un regim de pompare care derulează cu întreruperi poate avea loc când cantitatea de cuib este destul de mică. Conținutul de alcool etilic de 2 g/L permite desfășurarea fermentării acetice. S-a constatat că pentru funcționarea acetatorului este nevoie de alimenta continuu cu materii prime și de a asigura extragerea a 50-70% din oțetul obținut. Este important ca temperatura să fie monitorizată permanent pe parcursul procesului de fermentare. Pentru obținerea oțetului cu conținutul de 90 g/L de acid acetic este necesar să asigurăm funcționarea continuă a acetatorului începând cu a 8 până la a 12 zi. Tot odată, este posibilă obținerea oțetului cu o tărie până la 120 g/L de acid acetic, însă perioada de producere va crește considerabil [54].

Surse bibliografice atestă, că productivitatea unui anumit volum de oțet depinde de trei factori de bază: capacitatea aparatului/acetatorului, a coloanei cu substrat, precum și de durata ciclului de funcționare. Mai mult decât atât, coloanele nu au aceeași productivitate în toate segmentele constructive. Astfel s-a constatat că productivitatea cea mai mare se obține în partea de sus unde conversia alcoolului etilic în acid acetic constituie circa 40%. În partea de jos a acetatorului conversia alcoolului etilic în acid acetic nu depășește 3%. Totodată, productivitatea unei unități de volum a substratului poate atinge timp de 24 de ore în medie o cantitate de 2,1-4,6 kg acid acetic/m³. Nieto și colab. au demonstrat că randamentul teoretic tot timpul este mai mare, decât cel practic. De regulă diferența între ele constituie 20-25% [45, 55].

1.3.3. Procedul lent tip Orleans

Procesul Orleans include utilizarea unui acetator ce asigură obținerea oțetului de calitate înaltă timp de aproximativ 14 săptămâni. Savantul Inès Peyret a menționat că în procesul tehnologic se utilizează bacteriile acetice și un substrat hidroalcoolic. Dar tot odată este necesar de asigurat accesul aerului la bacteriile acetice, astfel mărind suprafața de contact a acestora [41]. De regulă, se utilizează butoaie de stejar sau de fag ce sunt împlute doar minimum 45 și maximum 75%. Raspor și colab. au demonstrat că în cazul utilizării procedului Orleans se formează un vual specific din bacterii acetice [28].

Fermentarea acetică depinde de mai mulți factori, cum ar fi: compoziția inițială a soluției alcoolice, temperatura de fermentare, speciile de bacterii acetice ce populează substratul, suprafața

de contact a substratului dintre lichid și aer. La finele procesului de fermentare se îndepărtează 55-65% din volumul inițial. Procesul de fermentare poate fi reluat de la început după ce volumul rămas se completează cu materie primă. Din literatura de specialitate se cunoaște că oțetul obținut poate avea până la 70 g/L de acid acetic și are caracteristici organoleptice foarte bune, în special, se evidențiază aroma ce este fină și specifică [52].

Printre dezavantajele utilizării procedeului Orleans pot fi enumerate următoarele: costul investițiilor în producere sunt destul de mari; pentru asigurarea procesului de fermentare se utilizează recipiente într-un număr mare, ceea ce mărește suprafața de producere necesară pentru asigurarea procesului tehnologic de fabricație.

1.4. Tipuri de oțet

Materia primă utilizată la fabricarea oțetului conferă aromă și culoare specifică acestui produs. Conform reglementărilor normative din RM oțetul se clasifică în 16 tipuri. În conformitate cu HG, oțetul de vin este un produs obținut prin fermentarea acetică a vinului sau a unui amestec ce poate fermenta. Vinul se utilizează în proporție de minimum 70% din volum total [56, 57, 58].

Se cunoaște o varietate mare de oțeturi. Unele dintre sortimentele de oțet sunt incluse în tabelul 1.2., fiind clasificate în funcție de originea producției.

Tabelul 1.2. Varietatea de oțeturi produse în diferite țări [59]

Varietatea de oțeturi	Principalele țări producătoare
Oțet de mere	În toate țările lumii
Oțet din vin alb	Turcia, Italia
Oțet din vin roșu	În toate țările lumii
Oțet sherry, Jerez	Spania
Oțet balsamic	Italia
Oțet de bere	Germania
Oțet de trestie	Filipine
Oțet de șampanie	Franța , SUA
Oțet de nucă de cocos	Asia de Sud-Est
Oțet distilat	SUA
Oțet de fructe	Austria
Oțet Kombucha	Japonia
Oțet de malț	Anglia
Oțet de cartofi	Japonia
Oțet de orez	SUA, Taiwan
Oțet de Tarhon	SUA

1.5. Compoziția chimică și calitatea oțeturilor

Oțetul reprezintă un lichid ce conține acid acetic, care în independență de materia primă utilizată conține substanțe tanante, glucide, alcool etilic, compuși cu azot, săruri minerale, vitamine etc.

Principalele caracteristici analitice ale oțeturilor din vin alb și a celor din vin roșu sunt inserate în tabelul 1.3.

Tabelul 1.3. Caracteristicile fizico-chimice ale oțeturilor din vin alb și roșu [60]

Variabile	Oțet din vin alb		Oțet din vin roșu	
	intervalul de încredere	media	intervalul de încredere	media
Densitatea la 20°C (g/L)	1009,4 - 1010,4	1009,9	1009,8 - 1010,7	1010,3
Metanol (mg/L)	0,1 - 11,8	3,8	11,3 - 27,2	19,3
Etanol (g/L)	0,7 - 2,2	1,5	0,4 - 2,2	1,3
Acetat de etil (mg/L)	112 - 265	189	62 - 311	186
Aciditatea fixă (g% acid acetic)	0,10 - 0,20	0,15	0,14 - 0,23	0,18
Aciditatea volatilă (g% acid acetic)	4,24 - 4,44	4,34	4,20 - 4,62	4,40
Aciditatea totală (g% acid acetic)	4,34 - 4,63	4,49	4,40 - 4,79	4,59
pH	2,69 - 2,83	2,76	2,72 - 2,81	2,79
Extract uscat redus (g/L)	7,16 - 9,27	8,22	7,79 - 9,93	8,86
Extract uscat (g/L)	8,02 - 10,63	9,32	8,40 - 11,15	9,78
Zaharuri reducătoare totale (g/L)	1,34 - 2,73	2,04	1,29 - 2,46	1,88
Cenușă (g/L)	1,36 - 1,64	1,50	1,23 - 1,70	1,46
Prolină (mg/L)	0,1 - 19,3	9,6	9,7 - 22,6	16,2
Alcalinitatea cenușii (meq/L)	5,6 - 11,1	8,4	6,3 - 10,9	8,6
Densitate optică (520 nm)	-	-	0,036 - 0,060	0,048
Densitate optică DO (420 nm)	0,062 - 0,165	0,114	0,037 - 0,058	0,047
Colorarea (DO ₄₂₀ /DO ₅₂₀)	-	-	0,912 - 1,085	0,998
Intensitatea culorii (DO ₄₂₀ +DO ₅₂₀)	-	-	0,073 - 0,118	0,096
Cloruri (mg/L)	62 - 585	262	37 - 354	167
Fosfor (mg/L)	45 - 172	109	73 - 156	114
Sodiu (mg/L)	42 - 391	217	20 - 227	123
Fier (mg/L)	0,8 - 1,9	1,4	1,5 - 8,0	4,0
Calciu (mg/L)	33 - 130	82	47 - 121	84
Magneziu (mg/L)	11 - 22	16	19 - 31	25
Potasiu (mg/L)	190 - 471	330	301 - 549	425
Cupru (mg/L)	0,1 - 0,3	0,2	0,1 - 0,3	0,2
Mangan (mg/L)	0,1 - 4,9	2,5	0,5 - 4,6	2,6
Zinc (mg/L)	0,1 - 0,3	0,2	0,2 - 0,4	0,3

* Nivelul de probabilitate a intervalului de încredere de 99%.

- Analizele care nu sunt compatibile cu oțeturile din vin alb.

Aciditatea volatilă este aciditatea conferită oțetului și vinului de acizii monocarboxilici saturați (alcanoici) aparținând seriei acidului acetic. Ei se găsesc în stare liberă sau sub formă de săruri. Principalul constituent al acidității volatile este acidul acetic. Oțetul pentru consum conține, de regulă, 40-60 g/L de acid acetic. În mai multe țări, legislația stabilește pentru oțet conținutul de minim 40 g/L de acid acetic. Conținutul de alcool rezidual din oțet din vin nu trebuie să depășească 0,5-1% conform HG nr.1403 din 09.12.2008 și în SM SR EN 13188:2012 până la 1,5% [56, 57].

Este cunoscut că metanolul este un alcool format în urma hidrolizei pectinei strugurilor și eliberat în timpul macerării în vinificație. Prin urmare, acesta provine din vin și deoarece nu este oxidat de bacteriile acetice, cantitatea lui nu se modifică în procesul fermentării acetice. Metanolul se conține cca 25 mg/L în oțetul din vin alb și cca 50 mg/L în oțetul din vin roșu [61].

Unele țări nu stabilesc limita de metanol pentru oțeturile din vin. De exemplu, în Spania conținutul de metanol în oțetul de vin nu depășește 100 mg/L, în timp ce în oțeturile italiene, limita de metanol este cuprinsă între 60 mg/L și 130 mg/L [62].

Tesfaye și colab. au demonstrat că acetatul de etil este cel mai important ester al vinului și oțetului din vin. Acest component definește în mare măsură aroma oțetului și se găsește în cantități mari în oțetul de calitate înaltă. Conținutul de cenușă din oțet este identic celui din vin. În ceea ce privește alcalinitatea cenușii, aceasta este mai mică decât a vinului, ceea ce demonstrează că acizii din vin sunt preponderent sub forma liberă. Pe de altă parte, există și mici diferențe între oțeturile de vin alb și din vin roșu [63].

Chinnici și colab. au raportat că și prolina este unul dintre cei mai importanți aminoacizi din vinuri. Azotul prolinei este puțin metabolizat la fermentarea alcoolică cu drojzii și la cea acetică cu bacterii. Prin urmare, cantitatea de prolină este mai mult sau mai puțin constantă la transformarea mustului în vin și a vinului în oțet. Pe de altă parte, există o anumită relație între conținutul de prolină și varietatea strugurilor din care este produs vinul. Deci, prolina este o componentă importantă privind determinarea originii oțetului din vin [64].

Ting Xia și colab. au demonstrat că potasiul este un cation important al vinului și al oțetului, deoarece reprezintă aproximativ 40% din masa totală a cenușii. Oțeturile din vin roșu au un conținut mai mare de potasiu în comparație cu cele din vin alb datorită macerării pielii boabelor de struguri la obținerea vinurilor roșii [19].

Conținutul de Fe, Cu și Zn în oțet reprezintă o reflectare a concentrației în vin, deși prin contactul cu anumite materiale sau după aplicarea unor tratamente specifice (de limpezire și stabilizare a vinurilor și oțetului) conținutul lor poate crește [65].

Solieri și colab. menționează că calitatea finală a oțetului depinde în mare măsură de natura și compoziția culturilor starter participante la procesul de fermentare. Alți factori includ calitatea materiilor prime, metoda de producție și, dacă este cazul, maturarea. În general, indicii organoleptici și fizico-chimici ai oțeturilor fabricate prin metode tradiționale la scară industrială sunt foarte diferiți [36].

În ultimii ani s-au înregistrat progrese semnificative privind identificarea compușilor responsabili de calitatea organoleptică a produselor, iar metodele de producție au fost modificate pentru a obține oțeturi de înaltă calitate cu prețuri reduse. Compușii aromatici au un impact decisiv asupra calității oțeturilor. Până în prezent, au fost identificați mai mult de 100 de compuși care participă la formarea aromei oțetului din vin, inclusiv compușii carbonilici, eterii, acetalii, lactonele, acizii, alcoolii, fenolii și esterii volatili. Complexitatea aromatică depinde în mare măsură de condițiile de maturare a oțetului [66, 67].

Callejón și colab. au stabilit că aroma caracteristică a oțetului din vin pelicular implică mai mulți compuși volatili, cum ar fi diacetilul, acetatul de izoamil, acidul izovaleric, acetatul de etil și sotolonul [68].

García-Parrilla și colab. au menționat că un factor determinant al calității oțetului este și conținutul de compuși polifenolici, care au activitate antioxidantă și sunt responsabili de culoarea și astringența oțetului. Neajunsul acestor compuși este că ei să oxidează ușor în contact cu oxigenul. Gradul de oxidare a polifenolilor este diferit și depinde de structura lor și de disponibilitatea oxigenului. De exemplu, conținutul de flavonol din oțet este influențat în mare măsură de disponibilitatea de oxigen în timpul fermentării submerse. În contrast, aldehydele fenolice (eliberate de butoaiile din lemn) din oțeturile obținute prin fermentarea de suprafață practic nu sunt afectate de procesul de oxidare [69].

Andlauer și colab. au raportat reducerea cu 50% a compușilor fenolici în oțetul din vin roșu obținut în comparație cu oțetul din vin alb și cidru [70].

García-Parrilla și colab. au menționat că procesul de maturare a oțetului în butoaie de lemn implică difuzia compușilor fenolici din lemn în oțet, polimerizarea parțială, dar și unele pierderi ale lor prin evaporare. Cantitatea și calitatea substanțelor fenolice din oțet vor depinde de tipul lemnului și de tratamentul termic aplicat, de raportul suprafeței de contact la volumul lichidului și de timpul de maturare [71].

Tesfaye și colab. au raportat că aprecierea organoleptică a oțetului este una dificilă datorită senzațiilor intense pe care le provoacă. Pungența (gustul picant din cauza acidității agresive) datorită conținutului mare de acid acetic combate alte arome, de aceea pentru aprecierea

organoleptică a oțetului este necesară o anumită familiarizare prealabilă cu produsul. Atributele utilizate pentru a descrie probele de oțet sunt culoarea, intensitatea aromatică, aroma lemnoasă, nuanța de iarbă, nuanța de fructe a acetatului de etil, mirosul din vin și senzația de picant [72].

Oțeturile de calitate înalte conțin un număr mare de compuși inclusiv: vanilină, eugenol și benzaldehidă. Această caracteristică ar putea fi propusă ca o particularitate senzorială de bază a oțeturilor de calitate înaltă [63].

1.6. Alterarea oțetului

Schmoeller și colab. au demonstrat că oțetul, ca și vinul, este supus unor modificări cauzate în principal de lipsa condițiilor adecvate de igienă în timpul procesului de preparare [73].

Principalele modificări care pot apărea în oțet sunt datorate următorilor agenți:

- ✓ anghilei de oțet sau viermelui de oțet (*Anguillula aceti*) care este un nematod mic, de la 1 mm până la 2 mm în lungime, ce se dezvoltă în oțet cu un conținut mic de acid acetic și care conferă oțetului mirosuri neplăcute și aspect nedorit, deși nu este dăunător sănătății;
- ✓ muscăi de oțet (*Drosophylla melanogaster*) care este purtătoare de mai multe microorganisme patogene în oțet;
- ✓ elementelor chimice: fierul și cuprul, în concentrații mari provoacă brunificarea, turbiditatea și gustul metalic;
- ✓ diverselor microorganisme (există mai multe specii de bacterii, ciuperci și acarieni) care pot contamina oțetul, făcându-l, în cazuri extreme, impropriu pentru consum [65].

Cannon a studiat o problemă importantă la fabricarea industrială a oțetului legată de proliferarea rapidă a bacteriilor din specia *Acetobacter xilynum*. *A. xilynum* este o bacterie aerobă din sol din familia bacteriilor *A. aceti*, care transformă glucidele în oțet, producând cantități importante de substanțe gelatinoase ce contribuie la formarea "cuibului de oțet" [74].

Mai multe surse bibliografice atestă că variația culorii și a clarității oțeturilor din vin roșu se datorează excesului de fier și tanine, care provoacă casarea ferică. În oțeturile din vin alb, care nu au tanine și substanțe colorante roșii, dar conțin cantități mari de fier și fosfat, schimbarea clarității se datorează precipitării fosfatului feric alb, fenomen numit "casarea albă" [74, 75].

Meneguzzo și colab. au demonstrat că conținutul ridicat de cupru în oțetul din vin poate provoca turbiditate, care este accelerată de lumină. În oțeturile din vin pot exista, de asemenea, anumite defecte de turbiditate de origine proteică datorită formării cristalelor de bitartrat și prezenței unor particule ale agenților de filtrare (bentonite, gelatină ș.a.) [65].

1.7. Băuturi nealcoolice cu oțet

Oțetul este descris în Vechiul și Noul Testament, fiind o materie primă utilizată de către alchimiști. Aelis Galenus, un mare medic al antichității, recomanda un amestec din miere și oțet în calitate de medicament pentru ameliorarea tusei. În perioada medievală, oțetul era utilizat în calitate de medicament pentru curățarea și tratarea rănilor. Romanii îl utilizau în calitate de băutură în amestec cu apă și diverse condimente [76]. În funcție de tip, oțetul este astăzi un supliment alimentar extrem de popular pentru marinate, umpluturi, sosuri, unele deserturi și băuturi [77].

În ultimii ani, băuturile cu oțet devin din ce în ce mai populare. Gustul și aroma răcoritoare ale acestor băuturi le-au făcut populare pe piața de consum. Cele mai solicitate băuturi cu oțet sunt:

- Sekanjabin - una dintre cele mai vechi băuturi iraniene, este obținută din miere și oțet. Sekanjabin se servește de obicei vara. Uneori este condimentată cu mentă [78, 79];
- Switchel (switzel, swizzle) - băutură obținută din oțet cu apă și condimentată cu ghimbir. De obicei, este îndulcită cu melasă, dar poate fi folosită mierea, zahărul tos, zahărul brun sau siropul de arțar. În statul Vermont din SUA, în băutură poate fi adăugată făină de ovăz și suc de lămâie [80, 81];
- Posca - băutură antică romană obținută dintr-un amestec de oțet, apă și uneori ierburi aromatice. Soldații, clasele inferioare și sclavii preferau posca, dar aristocrația disprețuia această băutură [82, 83];
- Shrub (drink) - cocktail sau băutură răcoritoare populară în timpul erei coloniale americane, obținută prin amestecarea unui sirop de oțet cu băuturi spirtoase, apă plată sau apă carbogazoasă. Termenul poate fi aplicat și pentru un sirop pe bază de oțet îndulcit din care este obținut cocktailul. Consumul băuturilor cu oțet este adesea infuzat cu suc de fructe, ierburi aromatice și condimente, pentru utilizare în băuturile mixte [84, 85].

Tipul englez al shrub-ului a apărut în cărțile medicinale din secolul al XV-lea. Băutura a câștigat popularitate în rândul contrabandiștilor în anii 1680, aceștia încercând să evite plata impozitelor la import pentru mărfurile expediate din Europa continentală. Pentru a evita detectarea, contrabandiștii scufundau uneori butoaie cu băuturi spirtoase pentru a fi preluate ulterior; adăugarea de arome de fructe a ajutat la mascarea gustului alcoolului degajat de apa de mare. Toland a menționat că ”*shrub*”. în varianta americană își are originile în Anglia secolului al XVII-lea, unde oțetul era folosit ca alternativă a sucurilor de citrice la conservarea fructelor de pădure și a altor fructe pentru extrasezon. Conservele de fructe preparate în acest mod au fost cunoscute sub numele de ”*shrub*”. Până în secolul al XIX-lea, rețetele tipice americane prevedeau oțetul turnat

peste fructe - în mod tradițional fructe de pădure - care erau lăsate să se infuzeze peste noapte sau până la câteva zile. Ulterior, fructele erau îndepărtate, iar lichidul rămas era amestecat cu un îndulcitor precum zahărul sau mierea, apoi redus pentru a face un sirop. Siropul dulce-acrișor poate fi amestecat cu apă plată sau apă carbogazată și servit ca băutură răcoritoare, sau poate fi folosit ca mixer în cocktailurile alcoolice. Băutura și-a pierdut popularitatea odată cu apariția frigiderelor de uz casnic [86].

D'Ambrosio a raportat că consumarea băuturilor de tip ”*shrub*” cu oțet a devenit populară, începând cu 2011 în restaurantele și barurile americane, precum și în Canada și Londra. Proprietățile senzoriale deosebite contribuie ca ”*shrub*”-ul să fie un aperitiv bun, acesta fiind folosit ca alternativă a ”*absintului*” în cocktailuri. Spre deosebire de cocktailurile acidulate cu citrice, băuturile pe bază de oțet rămân limpezi la agitare [87].

1.8. Concluzii la capitolul 1

Studiul bibliografic realizat cu privire la aspectele fizico-chimice și microbiologice ale obținerii oțetului din vin a permis formularea următoarelor concluzii:

- În RM, oțetul se obține prin diluarea alcoolului etilic și fermentarea acestuia. Produsul obținut este lipsit de macro-, micronutrimente și nu posedă o valoare nutritivă importantă. Astfel, acest produs poate fi recomandat doar pentru utilizare industrială.
- Oțetul natural datorită proceselor metabolice cauzate de bacteriile acetice, este bogat în minerale, oligoelemente, acizi organici ș.a. Valoarea nutritivă importantă contribuie ca oțetul natural să fie solicitat în creștere de către consumatori în scopul utilizării în alimentația sănătoasă cât și de agenți economici pentru utilizare industrială în fabricarea produselor organice.
- Fabricarea oțetului din vin în mod natural cu utilizarea substratului caracteristic RM prezintă una din problemele de bază a întreprinderilor și cercetătorilor din domeniului.
- Conform studiilor realizate, un rol important în fabricarea oțetului natural îl au bacteriile acetice, care prin activitatea lor vitală asigură proprietăți specifice produsului finit. În scopul dirijării proceselor biochimice și obținere oțetului natural cu proprietăți organoleptice superioare se folosesc culturi pure ce asigură un efect dublu- tehnologic și igienic. Valorificarea tulpinilor de bacterii acetice izolate din habitatul lor natural permit selectarea microorganismelor adaptate la calitatea materiilor prime și au proprietăți biotehnologice sporite, sigure și stabile. Acest fapt permite obținerea oțetului natural de o calitate înaltă.

- Optimizarea tehnologiei de obținere a oțetului din vin prin fermentarea naturală cu utilizarea tulpinilor izolate din materii prime accesibile, dezvoltate pe substrat natural reprezintă o posibilitate eficientă de valorificare a vinurilor de o calitate medie sau slab competitive pe piața.

Cercetările științifice realizate în prezent au permis formularea **problemei de cercetare** ce constă în dezvoltarea și fundamentarea științifică a regimurilor biotehnologice de obținere a oțetului din vin prin fermentarea naturală cu utilizarea tulpinii izolate din materii prime autohtone, dezvoltată pe substrat natural.

2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Cercetarea cuprinsă în teză a fost efectuată în cadrul laboratoarelor științifice ale Facultății Tehnologia Alimentelor (Universitatea Tehnică a Moldovei), precum și în condiții industriale la întreprinderea de profil SRL „V.DEVELOP”.

2.1. Materiale de cercetare

2.1.1. Materiale utilizate la selectarea bacteriilor acetice

Pentru izolarea bacteriilor acetice a fost utilizată materia vitivinicolă autohtonă redată în tabelul 2.1.

Tabelul 2.1. Caracteristica materiei prime autohtone utilizate pentru selectarea tulpinilor de bacterii acetice

Nr.d/o	Codul	Denumirea materiei prime	Proveniența	Anul
1	SAN	Struguri albi soi Noah	s. Pitușca, r-nul Călărași	2019
2	VAC9	Vin alb	s. Pitușca, r-nul Călărași	2019
3	VACA8	Vin alb cu aciditate sporită	s.Pitușca, r-nul Călărași	2018
4	VAT	Vin alb	s.Chițcanii Vechi, r-nul Telenești	2019
5	VAH	Vin alb	s.Cărpineni r-nul Hâncești	2019
6	OSNL	Oțet din struguri albi Noah	Obținut în laborator UTM	2019
7	OVAC	Oțet din vin alb, netratat	Din comerț, producător Anglia	-

2.1.2. Materiale utilizate la optimizarea tehnologiei de obținere a oțetului

Materiile prime principale utilizate la optimizarea tehnologiei corespund calității documentelor normative și sunt prezentate în tabelul 2.2.

Tabelul 2.2. Caracteristica materiei prime utilizate pentru optimizarea tehnologiei de obținere a oțetului

Nr.d/o	Denumirea produsului	Marca comercială	Țara producătoare
1	Suc concentrat de struguri (conc.zah. 65%)	„KINETA”	RM
2	Levuri	„ENARTIS FERM SC”	Italia
3	Activator	„NUTRIFERM SPECIAL”	Italia
4	Activator	„NUTRIFERM ADVANCED”	Italia
5	Oțet din vin alb	„RAW”	Anglia
6	Oțet din vin alb	„RAPUNZEL”	Germania
7	Oțet din vin alb	„GALAXY”	Grecia
8	Oțet din vin alb	„ОЛИМПИК ФУДС”	Rusia
9	Oțet din vin alb	„МОȘ ION”	RM

Pentru optimizarea tehnologiei de fabricare a oțetului, în calitate de cultură starter s-a utilizat oțet din vin alb artizanal din r-nul Ialoveni și oțet obținut în condiții de laborator din struguri albi soiul Noah din r-nul Călărași.

Linia biotehnologică pentru fabricarea oțetului a fost instalată la întreprinderea SRL ”V.DEVELOP” de către compania autohtonă SRL ”URI ENGINEERING”, echipamentul fiind montat conform proiectelor și standardelor companiei austriece VOGELBUSCH. Acestea sunt reprezentate în figurile A1.1-A1.6. din anexa 1.

2.1.3. Materii prime utilizate în calitate de substrat pentru bacteriile acetice

În cadrul cercetărilor au fost alese substraturi din materii prime autohtone considerate deșeuri din industria agroalimentară.

Au fost utilizate:

1. Așchii de lemn de măr - AM (*Malus domestica*) mărimea 6x12x3 mm. Producător Smart Energy Solutions SRL.
2. Coajă de nuci grecești - CN (*Juglans regia L.*) recoltate în anul 2019, cu mărimea ce nu trec prin sita metalică cu diametrul găurilor 4 mm.
3. Coajă de alune – CA (*Corylus avellana*) recoltate în anul 2019, cu mărimea ce nu trec prin sita metalică cu diametrul găurilor 4 mm.
4. Tescovină din soiul de struguri -TM (*Vitis vinifera Muscat*) în forma uscată, roada anului 2020, raionul Cimișlia, vinăria Javgur.

2.1.4. Materii prime utilizate la fabricarea băuturilor nealcoolice

Pentru elaborarea băuturilor nealcoolice cu oțet din vin alb s-a utilizat materia primă de bază și auxiliară procurată în rețeaua comercială din RM, iar caracteristicile lor sunt redate în tabelul 2.3.

Tabelul 2.3. Caracteristica materiei prime utilizate pentru fabricarea băuturilor nealcoolice

Nr.d/o	Denumirea produsului	Denumirea în limba latină	Documentul normativ
1	2	3	4
1	Prune	<i>Prúnus doméstica</i>	SM SR 3156:2006
2	Piersici	<i>Prúnus pérsica</i>	SM SR 3156:2006
3	Mere	<i>Malus domestica Jonathan</i>	SM SR 2714:2006
4	Căpșună	<i>Fragária ananássa</i>	SM SR 13487:2006
5	Zmeură	<i>Rúbus idéeus rubin</i>	SM 120:1996
6	Levăntică	<i>Lavandula L.</i>	SM SR 13487:2006
7	Scorțișoară	<i>Cinnamomum zeylanicum B.</i>	SM ISO 690:2012
8	Vanilie	<i>Vanilla fragrans</i>	STAS 6862/78

Continuarea tabelului 2.3.

1	2	3	4
9	Mentă verdeață	<i>Mentha L.</i>	SM SR 13487:2006
10	Busuioc verdeață	<i>Ocimum L.</i>	SM SR 13487:2006
11	Zahar-tos	-	SM 98 :1998
12	Oțet din vin alb	-	SM SR EN 13188:2012/AC:2012

2.1.5. Medii de cultură

Pentru examenele microbiologice și izolarea bacteriilor acetice au fost folosite medii uzuale și speciale preparate la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie (tabelul 2.4.).

Tabelul 2.4. Medii nutritive pentru cultivarea și izolarea bacteriilor

Nr. d/o	Denumirea mediului	Compoziția	pH	Scopul
1	Mediu Hoyer [88,89]	(NH ₄) ₂ SO ₄ -1 g/L, K ₂ HPO ₄ -0,1g/L, KH ₂ PO ₄ -0,9 g/L, MgSO ₄ -0,25g/L, C ₂ H ₅ OH 96% - 30 mL/L, FeCl ₃ 1% - 0,5 g/L, H ₂ O dist.	7,0 ± 0,2	Cultivarea, izolarea și identificarea bacteriilor acetice
2	Mediu GYC [90,91]	Extract de drojdie -10 g/L, CaCO ₃ - 10 g/L, Glucoză - 3 g/L, Agar - 15 g/L	7,4 ± 0,2	Cultivarea, izolarea și identificarea bacteriilor acetice
3	Mediu RAE [92,93]	Glucroză - 4g/L, Peptonă - 1g/L, Extract de drojdie -1g/L, Acid citric xH ₂ O – 0,15g/L, Na ₂ HPO ₄ x 2H ₂ O- 0,34g/L, Acid acetic glacial -1 mL/L, C ₂ H ₅ OH 96% -1mL/L	3,8± 0,2	Cultivarea, izolarea și identificarea bacteriilor acetice
4	Sabouraud cu dextroză GOST ISO 11133-2016 [94]	Extract peptic de carne și cazeină - 10g/L, dextroză monohidratată - 40g/L, agar -15g/L	5,6 ± 0,2	Cultivarea drojdiei și mucegaiului
5	Agar GOST 30712-2001 [95]	Extract peptic de cazeină 5 g/L, extract peptic de carne 5 g/L, D(+)- Glucoză 20 g/L	5,6 ± 0,2	Cultivarea drojdiei și mucegaiului

2.1.6. Agenți de limpezire

Lista agenților de limpezire utilizați în cercetare ce se găsesc pe piața RM este inserată în tabelul 2.5.

Tabelul 2.5. Agenți de limpezire*

Nr. d/o	Denumirea agentului	Proprietățile fizico-chimice și Microbiologice	Aspectul fizic	Țara de origine
1	Maxibent P (Bentonită sodică activată)	Umiditate < 15%, Pb < 5 mg/kg, Hg < 1 mg/kg, As < 2 mg/kg, Fe < 600 mg/kg, Al < 2,5 g/kg, Ca+Mg < 100 med/100g, Na < 3 g/kg.	În formă de praf	Spania
2	Maxibent G (Bentonită sodică)	Umiditatea < 15%, Fe < 600 mg/kg, Pb < 5 mg/kg, Al < 2,5 g/kg, Hg < 1 mg/kg, Ca + Mg < 100 med/100g, As < 2 mg/kg, Na < 3 g/kg.	În forma granulată	Spania
3	Gelatina Vinigel ORO	Reziduul sec > 8,5%(p/p), SO ₂ -2000-4000 mg/kg, pH-4,5-5,5, Densitate -1,02-1,05 g/cm ³ , Turbiditate < 80 NTU, Număr total de germeni < 104 UFC/g, Drojdii și mucegaiuri < 103 UFC/g, E. coli -Absent UFC/g, Salmonella - Absent UFC/25g, S. aureus - Absent UFC/25g.	În forma granulată	Spania
4	PVVIN (PVPP - polivinilpirolidona)	Umiditate < 5%, pH 5,0-8,0, Solubilitate în apă < 0,5%, Cenuși sulfatată < 0,4%, Nitrogen - 11,0-12,8%, Metale grele < 10 mg, Arseniu < 2, Plumb < 2.	În formă de praf	Spania
5	Bentonită POLVERE Oro	Umiditate < 12-14%, pH 9,0, SiO ₂ - 54,25%, Fe ₂ O ₃ - 4,70%, Al ₂ O ₃ - 20,29%, MgO - 4,29%, Na ₂ O - 3,17%, CaO - 3,77%.	În formă de praf	Italia

**Elaborat de autor conform informației de pe etichetă.*

Cercetările realizate au fost asigurate de o serie de reactivi chimici și materiale de laborator care au fost de calitate și corespundeau unui grad de puritate analitică, procurate de la furnizorul local "Ecochimie" SRL.

2.2. Metode de analiză

La efectuarea cercetărilor au fost utilizate un șir de metode microbiologice, biochimice, fizico-chimice și altele care sunt rezumate în tabelul 2.6.

Tabelul 2.6. Metode de analiză aplicate în cadrul tezei

Nr. d/o	Denumirea metodei	Principiul metodei	Sursa
1	2	3	4
Metode de analiză microbiologică			
1	Colorarea Gram	Condiționarea de structură și compoziție chimică a peretelui celular. Colorarea froțiului fixat cu violet de gențiană, citoplasma bacteriilor se colorează în violet.	[96]
2	Microscopia preparatului nativ	Coloniile se examinează la microscop direct. Acest examen denotă prezența sau lipsa microorganismelor, precum și informații privind proprietățile morfotincoriale ale acestora.	[97]

Continuarea tabelului 2.6.

3	Metoda de însămânțare directă	Identificarea directă a bacteriilor acetice prin adăugarea produsului direct pe placa Petri în volum de 0,1 g-1mL/vas.	[98]
4	Determinarea drojdiilor și mucegaiurilor	Se realizează după termotratare la temperatura de 25°C timp de 72 de ore prin determinarea indirectă pe baza coloniilor de celule microbiene în proba analizată.	[98]
5	Metoda culturala Koch	Metodă fizică de izolare și obținere a culturilor pure de microorganisme. Se bazează pe răspândirea microorganismelor recoltate din medii naturale într-un mediu nutritiv și fixarea distanțată a celulelor în urma solidificării mediului cu formarea, prin multiplicare, de colonii izolate între ele.	[99, 100]
6	Testarea la catalază	Testul demonstrează prezența catalazei, o enzimă care catalizează eliberarea de oxigen din peroxidul de hidrogen (H ₂ O ₂). Este utilizat pentru a diferenția bacteriile care produc o enzimă - catalaza.	[101, 102]
7	Testarea cu KOH	Ca și colorarea pe Gram, testul KOH se bazează pe diferențele în chimia peretelui celular bacterian. În prezența hidroxidului de potasiu, pereții celulelor Gram negative sunt defalcați. KOH dizolvă cu ușurință stratul subțire de peptidoglican al pereților celulari de bacterii gram negative.	[103]
Metode aplicate la studierea proprietăților fizico-chimice ale vinului și oțetului			
8.	Determinarea acidității totale pentru oțet	Aciditatea totală reprezintă suma acidităților titrabile. Analiza se efectuează prin metoda volumetrică.	[57]
9.	Determinarea acidității fixe	Aciditatea fixă reprezintă diferența dintre aciditatea totală și aciditatea volatilă a probei. Ea include acizii din oțet precum: acetic, citric, tartric, malic și sărurile lor acide.	[104]
10.	Determinarea conținutului de acid volatil	Calcularea diferenței dintre aciditatea totală și aciditatea fixă exprimată în grame de acid acetic per L.	[105]
11	Determinarea conținutului de alcool rezidual	Distilarea oțetului, oxidarea etanolului cu dicromat de potasiu și determinarea conținutului său prin titrarea excesului de dicromat de potasiu cu o soluție de sulfat de fier și amoniu.	[57]
12	Determinarea pH	Se măsoară diferența de potențial dintre doi electrozi cufunțați în lichidul de analizat. Unul dintre electrozi are un potențial care este o funcție definită a pH al lichidului, în timp ce celălalt are un potențial stabilit și cunoscut și reprezintă electrozul de referință.	[106]
13	Determinarea extractului sec	Metoda se bazează pe uscarea probelor din vin sau oțet într-o creuzetă până la obținerea unei mase constante a probelor.	[107]
14	Determinarea densității	Densitatea reprezintă masa per unitate de volum de produs la temperatura 20°C.	[106]
15	Determinarea acidității totale pentru vin	Aciditatea totală se definește ca totalitatea substanțelor cu reacție acidă prezente în vin, care se pot titra cu o soluție alcalină în prezența unui indicator ce virează la pH=7. Substanțele cu reacție acidă din vin sunt acizi organici sau săruri acide.	[108]
16	Determinarea concentrației acidului sulfuros liber	Metoda se bazează pe oxidarea bioxidului de sulf liber cu iod în mediul acid. Procesul de titrare se consideră finisat când apare culoarea albastru-violet care se menține minimum 15 secunde.	[109]
17	Determinarea conținutului de acid sulfuros total	Metoda se bazează pe oxidarea bioxidului de sulf liber cu iod în mediul acid. Se titrează iodometric conținutul total de substanțe reducătoare, se oxidează anhidridă sulfuroasă cu apă oxigenată, după care se titrează iodometric celelalte substanțe.	[109]

Continuarea tabelului 2.6.

Metode aplicate la studierea proprietăților cromatice			
18	Determinarea intensității culorii	Metoda se bazează pe măsurarea absorbantelor (densităților optice) la lungimea de undă 420 nm cu ajutorul spectrofotometrului.	[110]
19	Determinarea nuanței culorii	Metoda se bazează pe măsurarea absorbantelor (densităților optice) la lungimea de undă 420 și 520 nm cu utilizarea spectrofotometrului și determinarea nuanței culorii Nc.	[110]
20	Determinarea parametrilor cromatici prin CIELab	Metoda se bazează pe măsurarea parametrilor cromatici a^* și b^* ai spațiului CIELab cu ajutorul Chroma meter-ului CR-400 pentru a determina ΔE - expresia matematică a diferenței de culoare dintre probele analizate $\Delta E_{ab} = \sqrt{(L_2 - L_1)^2 + (a_2 - a_1)^2 + (b_2 - b_1)^2}$ unde: L_1, a_1, b_1 – coordonatele de culoare ale probei martor; L_2, a_2, b_2 – coordonatele probei analizate.	[111]
21	Determinarea saturației/ cromă C*	Metoda se bazează pe măsurarea parametrilor cromatici a^* și b^* ai spațiului CIELab cu ajutorul Chroma meter-ului CR-400 și calcularea saturației culorii prin formula $C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$.	[112]
22	Determinarea unghiului nuanței H*	Metoda se bazează pe măsurarea parametrilor cromatici a^* și b^* ai spațiului CIELab cu ajutorul Chroma meter CR-400 și calcularea unghiului nuanței prin formula $H^* = \arctg(b^*/a^*)$.	[113]
Metode de determinare a parametrilor fizico-chimici ai agenților de limpezire (AL)			
23	Determinarea porozității AL	Determinarea porozității se datorează prezenței canalelor și cavitațiilor de diferite dimensiuni din structura particulelor de argilă. Porozitatea influențează difuzia din interiorul particulelor.	[114]
24	Determinarea umidității AL	Conținutul de umiditate a bentonitei brute se determină cu scopul de a putea determina cantitatea necesară de apă care trebuie adăugată pentru formarea suspensiei necesare pentru limpezirea oțetului din vin sau a altor produse.	[115]
25	Determinarea densității AL	Densitatea este un indicator fizic al bentonitei, care se determină cu scopul de a obține date referitoare la concentrația și puritatea acesteia. Se determină ca raportul dintre masă și volum.	[114]
26	Determinarea indicelui de gonflare a AL	Principiul metodei se caracterizează prin volumul pe care îl are bentonita în urma absorbției apei. În mediul apos lamele încărcate negativ se resping și se hidrolizează, provocând gonflarea masivă a bentonitei.	[116]
27	Coloidalitatea AL	Este o proprietate care se datorează prezenței sarcinilor negative pe suprafața particulelor de bentonită. Caracterul coloidal are ca scop acoperirea fiecărei particule de argilă cu un strat dublu de ioni solubili în apă, cu sarcină pozitivă.	[117]
28	Determinarea pierderilor la calcinarea AL	Determinarea pierderilor suportate de bentonită în urma procesului de calcinare se realizează cu scopul de a determina conținutul de săruri de carbonat de calciu (CaCO_3).	[118]
Metode de determinare a indicelui glicemic			
29	Aprecierea calității senzoriale	Metoda se bazează pe evaluarea caracteristicilor senzoriale, utilizând scara de punctaj de la 0 până la 5 puncte, obținând punctajul mediu al grupei de degustători.	[119]
30	Metodologia efectuării analizei organoleptice	Principiul metodei se bazează pe evaluarea calității organoleptice a anumitor tipuri de produse.	[120]
31	Determinarea indicele masei corporale	Body mass index, sau BMI este un indicator statistic al masei unei persoane raportată la înălțimea persoanei respective.	[121]
32	Determinarea indicelui glicemic (IG)	Principiul metodei se bazează pe testarea indicelui glicemic efectuată prin determinarea glucozei în sângele capilar (glicemie) la voluntari cu ajutorul glucometrului.	[122]

2.3. Metoda real-time PCR

RT-PCR este o metodă *in vitro* ce se bazează pe aplicarea enzimatică a unei anumite secvențe de ADN [123]. Amplificarea s-a efectuat cu ajutorul unui aparat RT-PCR CFX96 Deep Well (Bio-Rad, USA). Experimentul a fost efectuat pe fiecare tulpină izolată în parte, pe mediul de cultură RAE. Amplificarea s-a realizat în microprubete PCR de 0,2 μ L (Eppendorf, Germania), acestea fiind considerate potrivite pentru detectarea bacteriilor *Acetobacter*. Reacțiile au fost efectuate în duplicat.

Pentru identificarea bacteriilor acetice s-a folosit kitul "*For everyone Detection Kit B Acetics Screening*" (PIKA Weihenstephan GmbH, Germany), care conține toate materialele necesare acestei determinări. Reacția extragerii și detectării ADN din bacteriile acetice a fost efectuată conform protocolului producătorului [124]. La configurarea amplificatorului au fost alese ca detector undele FAM care au o emisie de 520 nm și HEX - 550 nm. De asemenea, FAM are rolul de a detecta organismele-țintă, iar HEX detectează reacția internă de control pozitiv. Acești parametri sunt necesari ulterior pentru evaluarea rezultatelor (tabelul 2.7.).

Tabelul 2.7. Analiza rezultatelor la detectarea bacteriilor prin RT-PCR [124]

Detectarea țintei (Canal FAM)	Control intern reacție (Canal HEX)	Rezultatul analizei
+	+	Pozitiv: ADN țintei (ref. Secțiunea 1) este prezent
+	-	Pozitiv: ADN țintei (ref. Secțiunea 1) este prezent
-	+	Negativ: ADN țintei (ref. Secțiunea 1) nu este detectat
-	-	Rezultatul nu este evaluabil: fie diluează ADN extras cu tampon de rehidratare 1:1000 și repetă PCR sau se va repeta extracția ADN cu o cantitate mai mică de probă, aplicând o spălare mai extinsă.

Apartenența canalelor FAM și HEX la calificativul pozitiv sau negativ este determinată de valoarea C_t - numărul de cicluri la care semnalul fluorescent al reacției depășește linia de prag (threshold line) (figura 2.1).

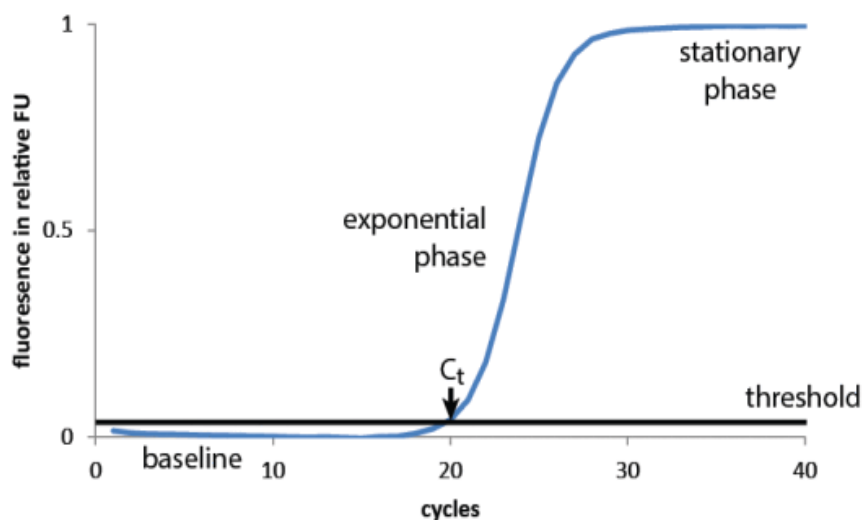


Fig. 2.1. Aspectul graficului RT-PCR [124]

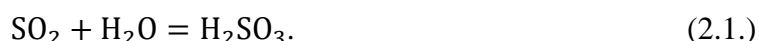
Interpretarea rezultatelor:

- Negativ: $C_t = 0$ ciclu sau $C_t = 40$ cicluri;
- Pozitiv: $C_t < 37$ cicluri;
- Incert: $37 < C_t < 40$ cicluri (retestare).

Etapele de izolare și detectare a ADN sunt reprezentate în figurile A.2.1 și A.2.2 (anexa 2).

2.4. Prepararea probelor cu diferite doze de SO₂

Dioxidul de sulf face parte din categoria aditivilor de conservare admiși pentru a fi introduși în scopuri tehnologice în vin. Actualmente, SO₂ este unul dintre mijloacele cele mai sigure și imediate cu care se poate acționa în vederea conservării vinului [125]. Fiind introdus în vin, dioxidul de sulf suferă o serie de modificări: o parte din el se degajă în spațiul liber al vasului, iar cea mai mare parte se combină cu apa, formând acidul sulfuros:



La rândul său, acidul sulfuros este supus unei serii de modificări. O mică parte din el se combină cu oxigenul, formând acidul sulfuric care reacționează cu cationii ce se găsesc în vin:



Astfel, pentru determinarea acidului sulfuros, în industria vinicolă se utilizează metoda iodometrică prin titrarea directă. Concentrația de SO₂ se exprimă în mg/dm³. Conținutul de acid sulfuros total maximal pentru vinurile seci constituie 200 mg/dm³, inclusiv forma liberă 30 mg/dm³, pentru vinurile cu zahăr rezidual – SO₂ total 300 mg/dm³, inclusiv liber 30 mg/dm³ [126].

În probele studiate s-a utilizat metoda *Sulfitatea cu soluții apoase de SO₂*. Calculul s-a efectuat în baza metodei reflectate în anexa 6. Probele au fost păstrate în borcane de sticlă închise

ermetic pentru a avea loc interacțiunea vinului cu dioxidul de sulf, depozitate într-un loc ferit de lumină la o temperatură constantă de $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ timp de 48 ore.

După 48 ore, probele au fost deschise și acoperite cu hârtie de filtru dublă pentru a permite accesul oxigenului și evitarea pătrunderii microorganismelor nedorite din aer, fiind depozitate într-un loc ferit de lumină, la o temperatură constantă de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$. Prin această metodă se depistează impactul cantității de SO_2 asupra dezvoltării bacteriilor acetice, evoluția procesului de fermentare acetică în vinuri și influența asupra culorii.

2.5. Determinarea numărului de bacterii în cultura starter

Pentru determinarea numărului de bacterii acetice inițial în materia primă (în vin și oțet) a fost utilizată metoda directă de însămânțare pe placa Petri. Pe parcursul cultivării bacteriilor acetice numărul acestora a fost determinat cu ajutorul metodei spectrofotometrică la lungimea de undă de 600 nm descrisă de Lee și alții [127].

Metoda cultivării prin însămânțare directă a fost utilizată pentru determinarea numărului de bacterii acetice din produs și a permis izolarea culturilor pure. După uniformizarea și gelifierea mediului, plăcile au fost termostatate la $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ timp de 24-48 ore. Metoda s-a bazat pe numărarea coloniilor caracteristice de bacterii acetice și s-a raportat la 1 g (1 cm^3) produs analizat.

Metoda spectrofotometrică s-a bazat pe măsurarea absorbanțelor la lungimea de undă 600 nm cu ajutorul spectrofotometrului LLG uniSPEC-2. În cazul unei culturi de celule bacteriene sau eucariote, densitatea optică măsurată la 600 nm reflectă concentrația de celule din mediu. Densitatea optică a culturii la 600 nm determină efectul răspândirii luminii ce este direct proporțională cu concentrația de celule din mediu [128].

2.6. Analiza statistică

Rezultatele cercetării a fost prelucrate utilizând procedeul de analiză statistică ANOVA (*ANalysis Of VAriance*). Inițiatorul metodei este R. Fisher, fiind utilizată pentru a examina diferențele dintre valorile medii ale variabilei dependente sub efectul unor variabile independente controlate și, respectiv, influența variabilelor independente necontrolate [129].

Avantajele testului ANOVA:

- ✓ elimină riscul cumulării unei erori mari de tip I;
- ✓ pune în evidență diferențe semnificative între mediile mai multor grupuri, chiar și când nici una dintre ele nu diferă semnificativ (testul t);
- ✓ poate fi utilizată și în cazurile în care există numai două grupuri.

A fost efectuată analiza multifactorială ANOVA (Two-way ANOVA) cu tehnici de comparație multiplă, care a permis evidențierea probelor ce diferă de valorile medii. Pentru stabilirea gradului de corelare dintre datele obținute pentru pH, aciditatea totală și densitatea față de timpul de fermentare, s-a folosit testul exact Fisher. Acesta a fost efectuat automat, folosind pachetul software XLSTAT (Addinsoft, Paris, Franța). Toate experimentele au fost realizate în duplicate sau triplicate. Pragul semnificației statistice ales: $p \leq 0,05$.

2.7. Concluzii la capitolul 2

În capitolul doi al tezei sunt prezentate materiile prime și metodele aplicate pe parcursul efectuării cercetărilor. Obiectele principale de cercetare sunt produse vitivinicole autohtone: struguri albi de soi Noah și vin alb din acest soi de struguri, recoltați și produse în perioada anilor 2018-2019, provenite din zona geografică a raionului Călărași.

A fost stabilită metodologia de cercetare experimentală și identificate procedeele și tehnicilor analitice clasice sau moderne. Echipamentele și metodele utilizate în studiul au asigurat atât identificarea tulpinii *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 din materii prime autohtone, cât și descrierea proprietăților tehnologice valoroase a bacteriilor acetice, a oțetului și a băuturilor nealcoolice obținute prin valorificare acestuia.

A fost determinată metodologia de cercetare a băuturilor nealcoolice elaborate în vederea determinării calității (analiza senzorială, fizico-chimică și microbiologică) și indicelui glicemic în urma consumului acestora. Concomitent au fost identificate metodele de prelucrare și interpretare matematico-statistică a datelor cercetării.

3. SELECTAREA TULPINILOR DE BACTERII ACETICE DIN MATERII PRIME AUTOHTONE

În acest capitol sunt expuse rezultatele obținute în urma izolării unei culturi de bacterii acetice pure care a fost obținută în 3 etape:

Etapa 1 - studiul microflorei inițiale a materialelor selectate, folosind medii nutritive selective; detectarea și izolarea bacteriilor acetice din acestea.

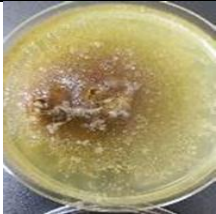
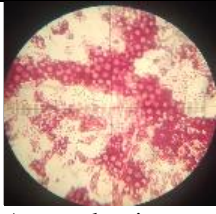
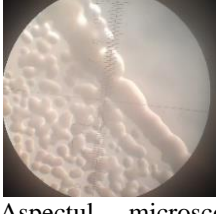
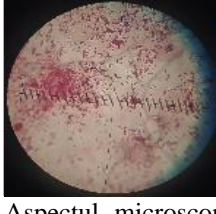
Etapa 2 - tulpina selectată de bacterii acetice a fost expusă analizei morfologice, fiziologice și biochimice.

Etapa 3 - confirmarea apartenenței bacteriilor izolate la genul *Acetobacter* prin compararea ADN al bacteriilor acetice obținute, folosind metoda RT-PCR.

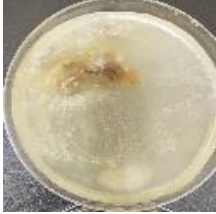
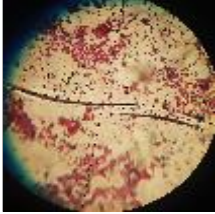
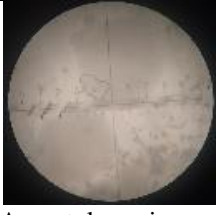
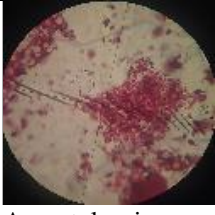
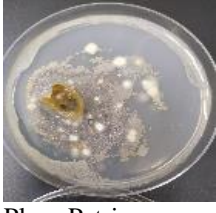
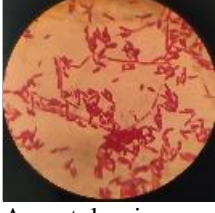

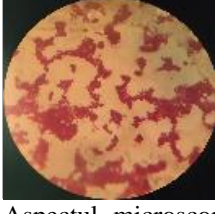


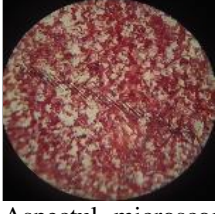
3.1. Izolarea culturilor pure de bacterii acetice

Au fost cercetate 5 materii prime, caracteristica cărora este reflectată în tabelul 3.1. În majoritatea materiilor prime s-a determinat o cantitate importantă de bacterii acetice. A fost investigată izolarea concomitentă a acestor bacterii. Fiecare probă a fost inoculată pe trei medii de cultură specifice cultivării bacteriilor acetice. S-a utilizat metoda de însămânțare profundă în mediul solid. Prin această metodă coloniile cresc în mod izolat - individual (aceasta se argumentează prin faptul că bacteriile acetice sunt aerobe), ceea ce oferă posibilitatea de a studia în detalii caracteristicile morfologice ale coloniilor.


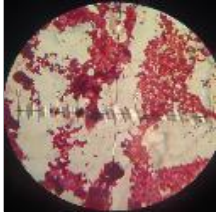
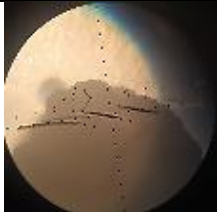
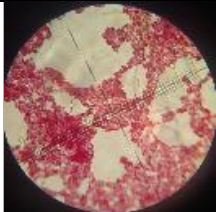

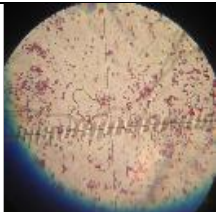

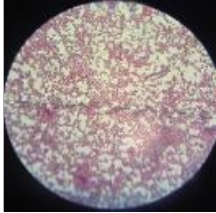

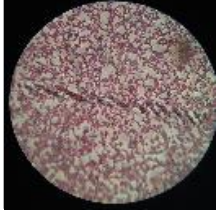
Tabelul 3.1. Caracteristici morfologice și culturale ale coloniilor de microorganisme cultivate

Mediul	Caracteristica culturii	Imaginea la microscop	Caracteristici morfologice	Imaginea la microscop
1	2	3	4	5
SAN - struguri albi Noah				
GYC	Profil - convex Culoare – galben-albicios Margine - ondulată Formă - iregulată Luciu - prezent Dimensiuni - 0,4-0,5 mm Transparență - transparent	 Placa Petri	Celule rotunde de dimensiuni mari	 Aspectul microscopic, mărirea x100
	Profil - plat Culoare - bej Margine - rotundă, ușor ondulată Formă - iregulată Strălucire - prezentă Dimensiuni - 2-4 mm Transparență - opac	 Aspectul microscopic, mărirea x40	Celule în formă de tijă de dimensiuni mici	 Aspectul microscopic, mărirea x100


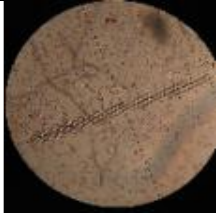
Continuarea tabelului 3.1.

1	2	3	4	5
	<p>Profil - ușor convex, crescând în substrat Culoare - albă Margine - ramificată Formă - rotundă Luciu - mat Dimensiuni - 0,5-1 mm Transparență - opacă în centru, translucidă la margini</p>	 Placa Petri	<p>Celule rotunde, de dimensiuni foarte mici dispuse individual</p>	 Aspectul microscopic, mărirea x100
	<p>Profil - punctiform Culoare - crem Margine - întregi Formă - rotundă Strălucire - prezentă Dimensiuni - 0,4-0,5 mm Transparență - transparent</p>	 Aspectul microscopic, mărirea x40	<p>Celule ocrotice de dimensiuni nedetectabile dispuse în grupuri</p>	 Aspectul microscopic, mărirea x100
Hoyer	<p>Relief - plat Culoare - alb-crem Margine - ondulată Formă - circulară Luciu - mat Diametru - 7±1 mm Fără transparență</p>	 Placa Petri	<p>Celulele sunt cilindrice, formând conglomerate. Există celule în stare de înflorire.</p>	 Aspectul microscopic, mărirea x100
	<p>Profil - convex Culoare - crem cu nuanță roz Margine - lobat Formă - rotundă Strălucire - prezentă Dimensiuni - 0,5-1 mm Transparență - translucidă</p>	 Aspectul microscopic, mărirea x40	<p>Celulele rotunjite conectate în lanțuri</p>	 Aspectul microscopic, mărirea x100
RAE	Nu au fost depistată creșterea coloniilor			
VAC9 - vin alb artizanal, nesulfat, nepasteurizat 2019				
GYC	<p>Profil - convex Culoare - galben în centru, crem spre margini Margine - șerpuită Formă - iregulată, în formă de floare Strălucire - prezentă Dimensiuni - 5-7 mm Transparență - opac</p>	 Placi Petri  Aspectul microscopic, mărirea x40	<p>Bastonășe mici</p>	 Aspectul microscopic, mărirea x100
Hoyer	Nu au fost depistată creșterea coloniilor			
RAE	Nu au fost depistată creșterea coloniilor			

Continuarea tabelului 3.1.

1	2	3	4	5
VACA8 - vin alb artizanal cu aciditate sporită				
GYC	<p>Profil - în formă de crater, cu o ușoară înălțare în centru și plată spre margini</p> <p>Culoare - laptelui</p> <p>Margine - dreaptă</p> <p>Formă - obișnuită, rotunjită, cu margine ondulată</p> <p>Luciu - mat</p> <p>Dimensiuni - 2-3 mm</p> <p>Transparență - opac</p>	 <p>Placa Petri</p>	<p>Celule rotunde de dimensiuni medii</p>	 <p>Aspectul microscopic, mărirea x100</p>
Hoyer	<p>Profilul are formă de picătură (coloniile în vârstă - tuberculoase)</p> <p>Culoare - albă</p> <p>Margine - netedă, rotundă, la unele colonii ușor ondulată</p> <p>Formă - rotundă</p> <p>Luciu - mat</p> <p>Dimensiuni - 1-3 mm</p> <p>Transparență - opac</p>	 <p>Aspectul microscopic, mărirea x40</p>	<p>Celule ovale de dimensiuni medii</p>	 <p>Aspectul microscopic, mărirea x100</p>
RAE	<p>Profil - plat</p> <p>Culoare - bej</p> <p>Margine - dreaptă</p> <p>Formă - cerc drept</p> <p>Luciu - mat</p> <p>Dimensiuni - 0,3-0,5 mm</p> <p>Transparență - transparent</p>	 <p>Aspectul microscopic, mărirea x40</p>	<p>Celule mici, rotunde</p>	 <p>Aspectul microscopic, mărirea x100</p>
OCA- oțet din vin alb, nefiltrat, nepasteurizat din comerț				
GYC	Nu au fost depistată creșterea coloniilor			
Hoyer	Nu au fost depistată creșterea coloniilor			
RAE	<p>Profil - în formă de crater</p> <p>Culoare - crem</p> <p>Margine - rotunjită, cu nereguli ușoare</p> <p>Formă - rotundă</p> <p>Luciu - mat</p> <p>Dimensiuni - 1-2 mm</p> <p>Transparență - opac</p>	 <p>Placa Petri</p>	<p>Bastonașe mici</p>	 <p>Aspectul microscopic, mărirea x100</p>
OEL-oțet din struguri albi Noah obținut în laboratorul UTM				
GYC	<p>Profil - plat</p> <p>Culoare - albicioasă</p> <p>Margine - ondulată</p> <p>Formă - iregulată</p> <p>Luciu - mat</p> <p>Dimensiuni - 10-12 mm</p> <p>Transparență - transparent</p>	 <p>Placa Petri</p>	<p>Bastonașe cilindrice alungite cu capetele ovale</p>	 <p>Aspectul microscopic, mărirea x100</p>
Hoyer	Nu au fost depistată creșterea coloniilor			

Continuarea tabelului 3.1.

1	2	3	4	5
RAE	Profil - plat Culoare - bej cu nuanță gălbuie Margine - dreaptă Formă - rotunjită, sunt prezente forme neregulate Luciu - mat Dimensiuni - 5-10 mm Transparență - opac	 Placa Petri	Bastonase foarte mici	 Aspectul microscopic, mărirea x100

Morfologia tulpinilor și proprietățile coloniilor sunt prezentate în tabelul 3.1. și denotă că ciiorchinele de struguri au o microfloră bogată și diversă, ceea ce complică procesul de izolare a bacteriilor acetice.

Vinul, de asemenea, nu este o sursă perfectă de bacterii acetice, deoarece prezența acestora a fost în cantități foarte mici pe unul (GYC) din cele trei medii. În baza caracteristicilor morfologice ale celulelor, bacteriile izolate pot fi atribuite genului *Acetobacter*. Se presupune că prezența unui număr mare de alte microorganisme în vin împiedică dezvoltarea lor normală.

Vinul cu aciditatea sporită este o sursă mai potrivită de bacterii acetice, deoarece numărul lor domină. Pe toate cele trei medii nutritive au crescut specii diferite de colonii, dintre care două tulpini, conform morfologiei celulare, pot fi atribuite la bacteriile acetice.

Din oțetul nefiltrat și nepasteurizat din comerț a fost izolat un număr mic de microorganisme cultivate pe 3 medii nutritive dintre care numai pe un mediu nutritiv (RAE) a fost izolată o cultură bacteriană. Se presupune că la sfârșitul fermentării, bacteriile acetice își pierd activitatea sub influența lipsei de alcool. Cu toate acestea, oțetul a fost supus și procesului de filtrare. Din coloniile de microorganisme din oțetul din vin obținut în condiții de laborator au fost izolate bacterii acetice pe două medii nutritive (RAE, GYC).

Conform caracteristicilor morfologice, aceste microorganisme pot fi clasificate ca bacterii acetice, iar faptul că în fiecare placă Petri a crescut doar un singur tip de colonie oferă posibilitatea de a continua izolarea.


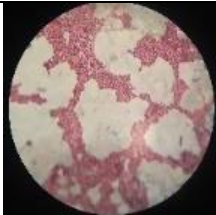

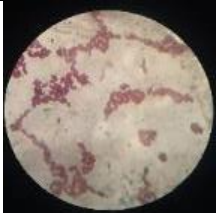

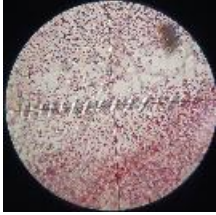

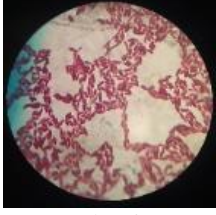
3.2. Caracteristicile morfologice și fiziologice ale tulpinilor izolate

Pentru izolarea bacteriilor acetice au fost alese microorganisme, care sunt similare și au caracteristici culturale - celule mici, ovale sau rotunde. Însămânțările au fost efectuate pe trei medii de cultură, în două însămânțări paralele. Izolarea a fost efectuată prin metoda de contact - zigzag/linii, pe suprafața mediului nutritiv solid. Această metodă este recomandată pentru izolare,


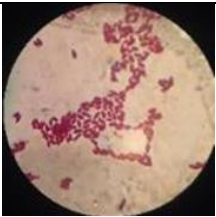
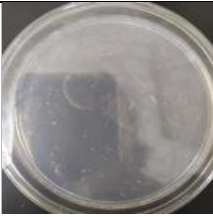
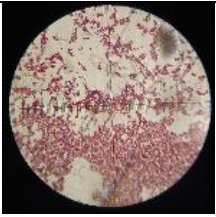
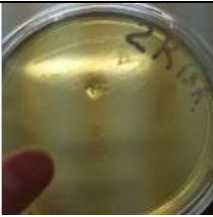
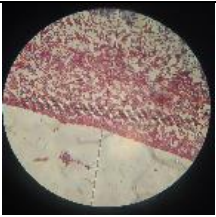

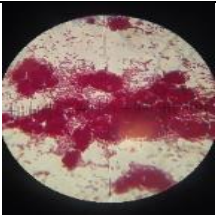
deoarece coloniile cresc în număr mare, iar microorganismele se dezvoltă destul de rapid (există o suprafață mai mare de contact cu aerul decât la însămânțarea profundă).

În tabelul 3.2. se observă o creștere a microorganismelor cultivate pe fiecare placă Petri. S-a remarcat faptul că coloniile au crescut destul de selectiv, adică pe unul sau două medii de cultură. Niciunul dintre microorganismele aflate în studiu nu au crescut pe toate cele trei medii. Acest lucru dovedește încă o dată selectivitatea fiecărui mediu. În continuare, sunt descrise și cercetate caracteristicile culturale ale tuturor coloniilor.

Tabelul 3.2. Caracteristicile morfologice și culturale ale microorganismelor cultivate în scopul izolării

Produs inițial	Caracteristicile culturale	Imaginea la microscop	Caracteristici morfologice	Imaginea la microscop
1	2	3	4	5
Izolarea pe mediul GYC				
Struguri albi	Profil - plat Culoare - crem Margine - dreaptă Formă - solid neregulat Strălucire - prezentă Dimensiuni - diametru 4-5 mm Transparență - transparent	 Placa Petri	Microorganisme medii oval-rotunde	 Aspectul microscopic, mărirea x100
Vin cu aciditate sporită	Profil - plat Culoare - bej cu nuanță gălbuie Margine - dreaptă Formă - neregulată, solidă Strălucire - prezentă Dimensiuni - 2-7 mm Transparență - transparent	 Placa Petri	Microorganisme de formă ovală. Dimensiuni: de la mic până la mediu	 Aspectul microscopic, mărirea x100
Oțet obținut	Profil - plat Culoare - lapteului Margine - ondulată Formă - neregulată, continuă, pe unele porțiuni există colonii separate de formă rotundă Strălucire - medie Dimensiuni - 1-4 mm Transparență - transparent	 Placa Petri	Celule ușor alungite, localizate singure, mici	 Aspectul microscopic, mărirea x100
Izolarea pe mediu Hoyer				
Struguri albi	Profil - plat Culoare - alb-zăpadă Margine - ondulată Formă - neregulată, solidă Luciu - mat Dimensiuni - diametru 5-8 mm Transparență - opac	 Placa Petri	Bastoane mari, ovale	 Aspectul microscopic, mărirea x100

Continuarea tabelului 3.2.

1	2	3	4	5
Vin cu aciditate sporită	Profil - plat Culoare - alb cu nuanță crem Margine - sfâșiată Formă - de la continuu cu goluri la rotunde Luciu - mat Dimensiuni - diametru 3-6 mm Transparență - opac	 Placa Petri	Bastoane mari, ovale	 Aspectul microscopic, mărirea x100
Oțet obținut	Profil - plat Culoare - galben-crem Margine - incertă (încețoșat) Formă - neregulată, nedeterminată Strălucire - medie Dimensiuni - diametru 0,5 mm Transparență - transparent	 Placa Petri	Bastonașe mici, alungite	 Aspectul microscopic, mărirea x100
Izolare pe mediu RAE				
Struguri albi	Nu au fost depistată creșterea coloniilor			
Vin cu aciditate sporită	Profil - plat Culoare - albicioasă Margine - ondulată Formă - rotundă, neregulată Strălucire - prezentă Dimensiuni - 1-3 mm Transparență - translucidă	 Placa Petri	Microorganisme rotunde, de dimensiuni mici și ovale	 Aspectul microscopic, mărirea x100
Oțet obținut	Profil - în formă de crater, convex Culoare - alb-galben Margine - sfâșiată, ramificată Formă - colonie continuă Luciu - mat Dimensiuni - 3-6 mm Transparență - opac	 Placa Petri	Amestec de bastonașe mici și celule mari	 Aspectul microscopic, mărirea x100

S-au studiat 8 tipuri de colonii crescute pe medii nutritive în funcție de caracteristicile culturale, utilizând colorarea simplă și microscopia. La studierea coloniilor cultivate pe mediul GYC, se pot observa în jurul coloniilor hălosuri caracteristice și transparente. Aceasta este caracteristic bacteriilor acetice, deoarece unele dintre ele consumă calciu în timpul ciclului de viață, iar acest element este unul dintre ingredientele mediului nutritiv GYC. În urma microscopiei bacteriilor acetice izolate s-a confirmat apartenența lor la genul *Acetobacter*. Acest fapt este confirmat de caracteristicile lor morfologice (bastoane mici și mijlocii).

Rezultatele cercetării atestă că coloniile de pe struguri și din vinul oxidat, izolate pe mediul Hoyer, sunt similare între ele, și anume, au culoare albă, mată, sunt opace. După studiul morfologic a celulelor la microscop, se remarcă faptul că celulele nu aparțin aceluiași tip. Aceste celule nu au caracteristici similare cu bacteriile acetice și, prin urmare, au fost excluse din cercetările ulterioare.

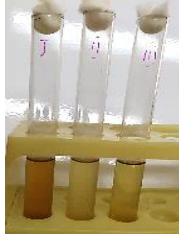
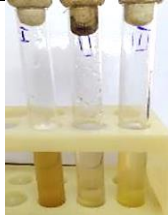
Coloniile izolate din vin oxidat cultivate pe mediul RAE s-au dezvoltat destul de rar, dar au fost similare din punct de vedere cultural cu bacteriile acetice - translucență, prezența luciului. Faptul că aceste bacterii sunt acetice se dovedește și prin imaginea lor microscopică – celulele sunt ușor alungite, de dimensiuni foarte mici. În ceea ce privește oțetul obținut, putem observa că pe mediul RAE au crescut două tipuri de colonii, adică a avut loc o izolare incompletă. Aceasta s-ar putea întâmpla din cauza unei concentrații mari de celule străine în produsul inițial (oțet de casă fermentat din soiul de struguri Noah). În timpul studiului microscopic s-a observat un amestec de celule mici și mari alungite. De aici rezultă că pe mediul RAE au crescut două tipuri de microorganisme: bacteriile acetice și drojdiile. Coloniile de bacterii acetice se disting prin strălucirea lor caracteristică și sunt mai deschise la culoare decât coloniile de drojdie, totodată, fiind posibilă izolarea lor. Microorganismele atribuite la bacteriile acetice au fost incluse în cercetările ulterioare.

3.3. Detectarea și identificarea tulpinilor izolate

3.3.1. Capacitatea bacteriilor izolate de a oxida alcoolul etilic în acid acetic

Pentru a studia capacitatea bacteriilor acetice izolate de a fermenta alcoolul etilic până în acid acetic, s-a decis introducerea acestora în câteva substraturi de vin. Pentru aceasta au fost selectate trei tipuri de vin alb produs în condiții de casă. Ca substraturi pentru creșterea microorganismelor au fost folosite: 1 - vin alb din raionul Călărași, 2 - vin alb din raionul Telenești și 3 - vin alb din Hâncești. Din bacteriile acetice izolate au fost preparate inoculate. Coloniile cultivate au fost introduse în 10 mL apă sterilă. Din inoculatul rezultat s-a introdus 1 mL într-o eprubetă cu substratul din vin. Fermentarea probelor a durat 14 zile la temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$, fără acces de lumină. La sfârșitul fermentării, probele au fost evaluate atât din punct de vedere organoleptic (aspect, culoare, aromă), cât și al parametrului fizico-chimic - aciditatea totală (tabelul 3.3).

Tabelul 3.3. Rezultatele organoleptice ale probelor după fermentarea acetică

Sursa	Substraturi pentru creșterea m/o	Caracteristica probelor		
		imagine	miros	culoare, aspect
M/o izolate din vin alb cu aciditate sporită	1 - vin alb din r-nul Călăraș		predomină mirosul de vin cu notă acrie	culoare brună cu aspect limpede
	2 - vin alb din r-nul Telenești		predomina mirosul de vin cu notă acrie	culoare aurie cu aspect turbure
	3 - vin alb din r-nul Hâncești		predomină mirosul acid de oțet	culoare galbenă deschisă cu aspect turbure
M/o izolate din oțet obținut în condiții de laborator	1 - vin alb r-nul Călăraș		cu miros pronunțat de acid acetic	culoarea chihlimbarului cu aspect limpede
	2 - vin alb din r-nul Telenești		cu miros înțepător caracteristic oțetului	culoarea paiului cu aspect limpede și transparent
	3 - vin alb din r-nul Hâncești		cu miros înțepător caracteristic oțetului	culoare galbenă deschisă cu aspect limpede

În timpul fermentării, la a treia zi pe suprafața lichidului a apărut un film turbure, dislocându-se pe perete (figura 3.1). Aceasta denotă că bacteriile acetice sunt suficient de active.

Pentru a caracteriza gradul de fermentare, în calitate de reper a fost utilizat indicele de aciditate totală determinat prin metoda titrimetrică (figura 3.2). În urma interacțiunii bacteriilor acetice izolate din vinul alb cu aciditate sporită, cultivate ulterior pe mediul RAE și introduse pentru inițierea fermentării acetice în 3 tipuri de vin artizanal, au cauzat mărirea acidității.

**Fig. 3.1. Peliculă bacteriană**

Cantitatea maximală de acid acetic de 69 g/L a fost înregistrată în proba 2 - vin alb din r-nul Telenești fermentat de către bacteriile izolate din oțetul obținut în condiții de laborator. Pe locul doi se clasează proba 3 - vin alb din r-nul Hâncești fermentat pe același substrat cu o cantitate de acid acetic 57 g/L. Conținutul minimal de acid acetic de 51 g/L a fost înregistrat în proba 1 - vin alb din r-nul Călărași.

Valori mici a conținutului de acid acetic au fost obținute la fermentarea substratului de bacterii izolate din vin cu aciditate sporită. Totuși, o concentrație mai mare are proba 3 - vin alb r-nul Hâncești - 54 g/L de acid acetic. Prin urmare, proba 1 din vin alb r-nul Călărași și proba 2 din vin alb r-nul Telenești au acumulat o cantitate de acid acetic de 12 g/L și 36 g/L, respectiv.

În documentele normative ale RM este prevăzută cantitatea de acid total în oțetul din vin care trebuie să fie de minimum 60 g/L (calculat în acid acetic) și nu mai mult decât cantitatea obținută ca urmare a fermentării biologice [56, 57].

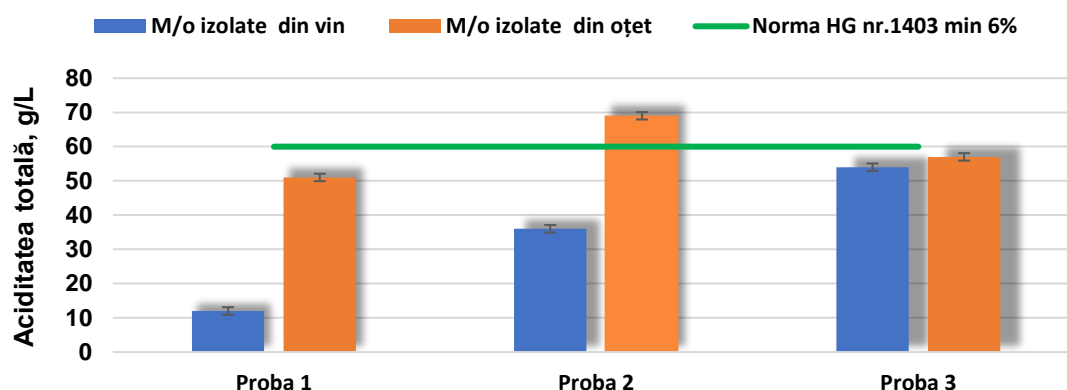



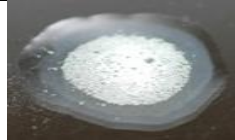
Fig. 3.2. Aciditatea totală a probelor obținute prin oxidarea bacteriilor acetice

Ținând cont de aceste prevederi și comparându-le cu datele obținute (figura 3.2), concluzionăm că tulpina izolată din oțetul obținut în laborator depășește după a 14 zi de fermentare acetică valoare minimă stipulată în HG. Putem concluziona că tulpina de *Acetobacter* are un potențial biotehnologic avantajos.

3.3.2. Identificarea bacteriilor izolate prin teste biochimice

Următoarea etapă a fost identificarea bacteriilor acetice, folosind diverse teste biochimice. Primul test identifică enzima catalaza, care este o componentă a bacteriilor producătoarelor de acid acetic. Rezultatul pozitiv confirmă natura microorganismelor și apartenența lor la bacteriile din genul *Acetobacter*. Testul KOH și colorația Gram oferă informații despre fiziologia celulelor, și anume, structura peretelui celular. Rezultatele testelor sunt inserate în tabelul 3.4.

Tabelul 3.4. Reacții calitative de identificare a bacteriilor izolate

№ d/o	Sursa de bacterii	Colorarea Gram	Testul KOH	Testul la catalază	
				rezultat	imagine
1	Vin alb cu aciditate sporită	-	-	-	
2	Oțet obținut în laborator	-	++	+	

Notă. “++” – reacție intensiv pozitivă, “+” – reacție pozitivă, “-” – reacție negativă.

Bacteriile izolate din oțetul obținut în laborator pe mediul RAE și pe mediul GYC corespund pe deplin, prin identificare, cerințelor față de bacteriile acetice, și anume:

- răspuns pozitiv la catalază;
- conform colorării Gram - negativ;
- test pozitiv la interacțiunea cu KOH.

S-a constatat că bacteriile izolate din vin alb cu aciditate sporită pe mediul RAE îndeplinesc o singură cerință cu referire la colorarea Gram. Astfel s-a constatat că bacteriile aflate în studiu sunt Gram⁻. Determinarea calitativă a activității catalazei a dat rezultat negativ. La fel și testul interacțiunii cu KOH a fost negativ. Aceste răspunsuri pot avea două motive: culturile și-au pierdut activitatea pe parcursul realizării etapelor cercetării sau nu fac parte din familia *Acetobacter* [130, 131].

3.3.3. Detectarea bacteriilor izolate prin metoda RT-PCR

Conform rezultatelor prezentate anterior, bacteriile izolate au fost clasificate în genul *Acetobacter* prin metode microscopice, fizico-chimice și biochimice. Luând în considerație că metodele enumerate nu sunt suficiente pentru identificarea exactă a unei tulpini, în continuare a fost utilizată metoda RT-PCR. Această metodă are un grad înalt de exactitate, deoarece se bazează pe compararea ADN bacteriilor izolate cu ADN tehnic al unei bacterii acetice de reper din kituri speciale. Două probe cu bacterii au fost supuse amplificării, pentru a putea confirma cu siguranță apartenența bacteriilor izolate la genul *Acetobacter*.

Rezultatele au fost prezentate sub formă de diagrame, unde curbele ilustrează creșterea exponențială a dependenței intensității fluorescenței de numărul de cicluri. Vizualizarea AND a bacteriilor testate la o lungime specifică de undă, demonstrează prezența ADN specific genului căutat.

Pentru detectare au fost utilizate următoarele probe:

1. Oțet obținut din struguri albi Noah în condiții de laborator;
2. M/o izolate pe mediul RAE din oțetul obținut în condiții de laborator;
3. Control pozitiv - ADN din kit standardizat;
4. Control negativ – marker din kit standardizat.

S-a efectuat analiza RT-PCR a ADN purificat al bacteriilor acetice inclus în kitul de referință folosind concomitent și amestecurile care conțin polimerază. A fost folosit kitul: 2401-15-4everyone-DetectionKit-B-Acetics_Screening și amestecul de reacție în lanț a polimerazei în timp real: TaqMan Universal Master Mix II. După cum se observă din figura 3.3 în ambele amestecuri de enzime a avut loc cu succes amplificarea, iar semnalul fluorescent este detectat atât

prin canalele FAM, cât și prin HEX. Amestecul enzimatic inclus în kit a oferit o performanță mai bună, amplificând ADN mai eficient și dând o valoare C_t mai mare.

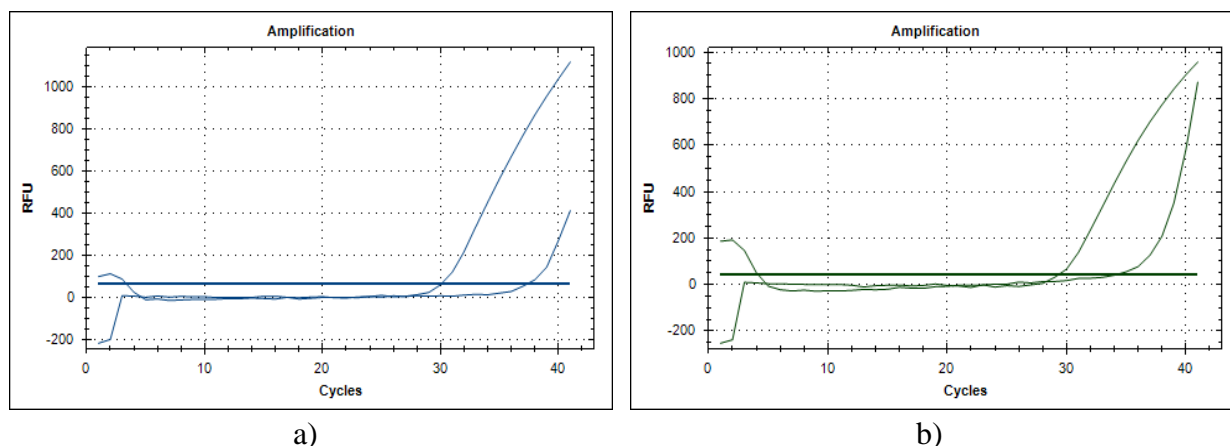


Fig. 3.3. Reacția controlului pozitiv pe canalul FAM (a) și HEX (b)

În continuare, s-au analizat următoarele probe: ADN purificat din oțetul fiind în proces de fermentare și ADN purificat din coloniile inoculate din acest oțet pe mediul RAE, folosind amestecul enzimatic inclus în kit. Rezultatele acestei analize sunt reprezentate în figura 3.4, a și b.

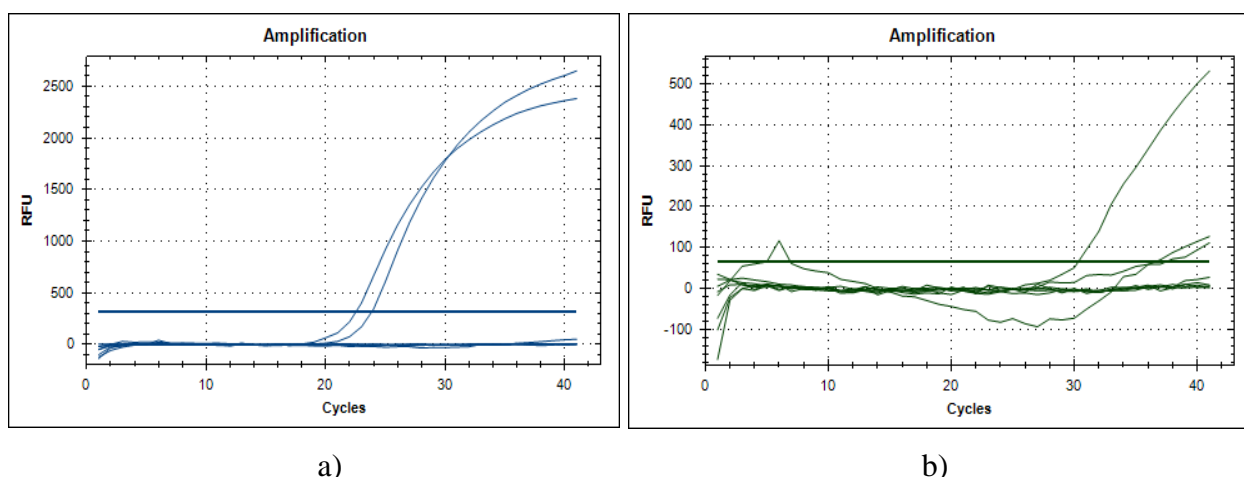


Fig. 3.4. Amplificarea ADN al bacteriilor acetice pe canalul FAM (a) și HEX (b)

ADN purificat din coloniile bacteriene cultivate pe mediul RAE au prezentat amplificarea pozitivă (figura 3.4, a). În figura 3.4, b, cele trei curbe care traversează linia de bază reprezintă diagramele de amplificare ale eșantionului de control negativ (din kitul de referință) și ADN izolat din coloniile bacteriene care au dat semnalul pozitiv pe HEX. Astfel, rezultatul a fost obținut pentru trei probe. Pentru eșantioanele care conțin ADN izolat direct din oțet nu s-a detectat un semnal pe FAM sau HEX. Acest fapt poate fi cauzat de numărul mic de celule bacteriene active în oțet la momentul determinării. Analizând datele din tabelul 3.5, putem observa că FAM trece linia de prag la $C_t = 23,84$ și HEX la $C_t = 37,56$. Prin urmare, obținem $\Delta C_t = 29 < 37$. Deci, putem afirma cu certitudine că microorganismele izolate din oțetul netratat pe mediul RAE aparțin genului *Acetobacter*.

Tabelul 3.5. Analiza datelor obținute prin metoda RT-PCR

Proba	Cuantificarea ciclului, C _q		FAM*	HEX**
	C _t FAM	C _t HEX		
Coloniile m/o izolate din oțetul netratat, cultivate pe mediul RAE	23,84	37,56	+	+
Oțet din vin alb (netratat)	n.i.	n.i.	-	-

Notă. * - 520 nm; ** - 550 nm; n.i. - nu s-a intersectat

S-a constatat (tabelul 3.5.) că din toate probele care au fost simultan amplificate, numai bacteriile izolate din oțetul netratat, cultivate pe mediul RAE au manifestat o reacție pozitivă, ceea ce confirmă apartenența la genul *Acetobacter*. Aceasta a permis înregistrarea tulinii *Acetobacter aceti* cu numărul CNMN-AcB-01 și depunerea în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene din cadrul Institutului de Microbiologie și Biotehnologie. În pofida faptului că o probă a fost prelevată din oțet în perioada de fermentare, selectată în faza exponențială de creștere nu a dat un rezultat pozitiv. În final, putem concluziona, în primul rând - că bacteriile izolate din oțetul netratat aparțin cu siguranța genului *Acetobacter*; în al doilea rând - utilizarea oțetului în faza acumulării maxime de microorganisme active, nu asigură detectarea prin RT-PCR a bacteriilor acetice [132].

3.4. Concluzii la capitolul 3

În rezultatul efectuării cercetărilor expuse în capitol 3 a fost demonstrată posibilitatea de izolare din microflora produselor vitivinicole locale a tulpinilor de bacterii acetice autohtone cu proprietăți biotehnologice valoroase, destinate utilizării în fabricarea oțetului din vin alb.

Izolarea bacteriilor acetice din vinul alb cu aciditate sporită și din oțetul produs în condiții de laborator din struguri albi de soiul Noah au demonstrat că sunt surse valoroase de bacterii din genul *Acetobacter*.

Cu scopul demonstrării apartenenței bacteriilor izolate la genul *Acetobacter* s-au aplicat teste biochimice (răspuns la catalază, test la interacțiune cu KOH, colorație Gram) și s-a analizat capacitatea lor de a oxida alcoolul etilic în acid acetic. S-a remarcat că două culturi din cele trei izolate aparțin genului de bacterii *Acetobacter*.

Pentru a confirma apartenența la genul *Acetobacter* a bacteriilor izolate s-a utilizat metoda RT-PCR pentru detectare prin comparare a ADN. Utilizarea oțetului în faza acumulării maxime de microorganisme active, nu asigură detectarea bacteriilor acetice prin metoda RT-PCR.

În urma realizării testelor biochimice și aplicării metodei RT-PCR putem concluziona cu siguranță că bacteriile izolate aparțin genului *Acetobacter*. Tulpina izolată *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 a fost înregistrată și depusă în Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene din cadrul Institutului de Microbiologie și Biotehnologie (Figura A.3.1.).

4. OPTIMIZAREA TEHNOLOGIEI DE OBTINERE A OȚETULUI DIN VIN

4.1. Analiza sortimentului de oțet pe piața Republicii Moldova

Actualmente, pe piața RM se comercializează oțeturi întâlnite în rețele de marketuri: Metro Cash& Carry, Linella, Hypermarket nr.1, Fourchette, Rogob etc. Ele sunt obținute din diverse materii prime agroalimentare: vinuri albe și roșii, bere și malț, cidru, fructe (mere, pere, banane, mango, citrice, nuci de cocos), iar în Asia din orez [133].

În urma analizei efectuate în perioada martie-aprilie 2019 s-a constatat că sortimentul de oțeturi comercializate în RM este furnizat de următorii producători: Belmar: SC "INTERTERM" SRL, Moș Ion: "TRIODOR" SRL, Nora: FIC "Roman&Go" SRL, O! Preț Mic: "Hazur grup" SRL. Sortimentul oțeturilor produse de aceste întreprinderi este practic identic.

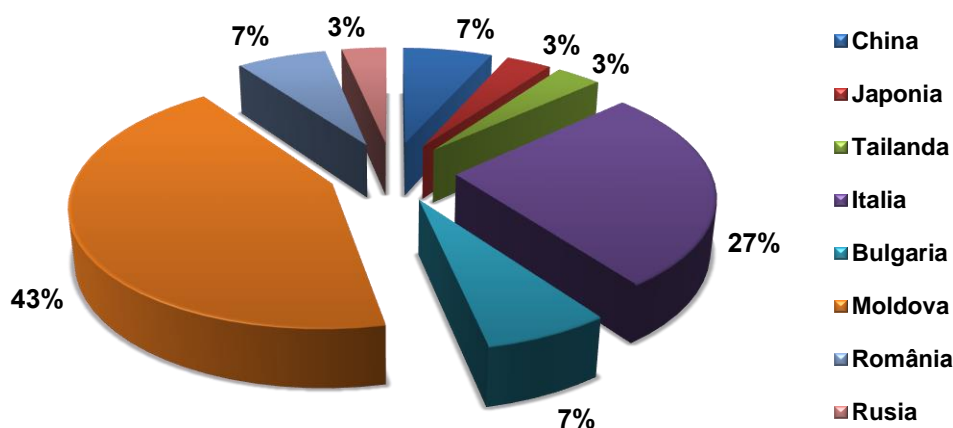


Fig. 4.1. Țările de proveniență a oțeturilor comercializate în RM [elaborat de autor]

Din figura 4.1 se observă că majoritatea oțeturilor de pe rafturile magazinelor din țară sunt de producție autohtonă - 43%. Ponderea cea mai mare a oțeturilor importate în RM o dețin cele de origine italiană - 27%, urmată de oțeturile din România, Bulgaria și China, fiecare fiind prezente în proporție de 7%. Alte oțeturi sunt produse în Japonia, Rusia, Tailanda. Pentru țările asiatice și Rusia este caracteristică producerea oțetului din orez, iar pentru țările europene este specifică producerea oțetului din vin. În țările balcanice se produce preponderent oțet din mere. Comparativ cu celelalte țări, RM produce un sortiment de oțeturi cum ar fi de mere, de vin, de masă și balsamic.

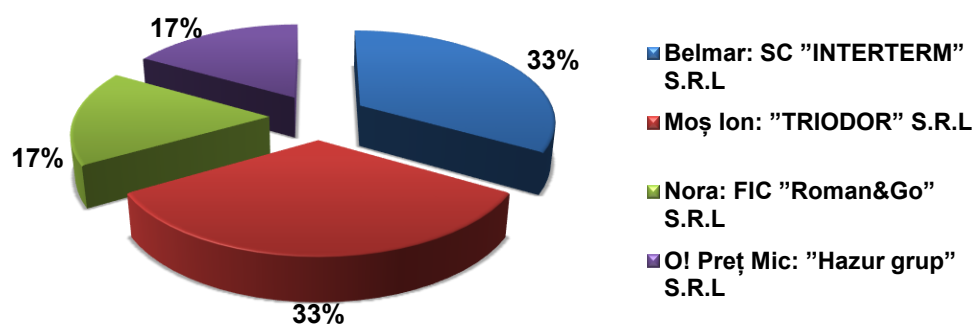


Fig. 4.2. Ponderea producătorilor autohtoni de oțet pe piața RM [elaborat de autor]

În conformitate cu datele reprezentate în figura 4.2, întreprinderile Belmar: SC "INTERTERM" SRL și Moș Ion: "TRIODOR" SRL dețin fiecare câte 33% oțeturi din piața de consum; întreprinderile Nora: FIC "Roman&Go" SRL și O! Preț Mic: "Hazur grup" SRL dețin câte 17% fiecare.

Structura sortimentului în funcție de concentrația acidului acetic constituie: oțet de masă cu aciditatea de 6% și de 9%; oțet de mere - 5%; oțet de vin - 4%.

Sortimentul de oțeturi pe plan mondial este cu mult mai variat decât cel ce se produce și se comercializează pe piața de consum a RM.

Anvergura sortimentului este determinată de numărul de tipuri de oțeturi exprimat prin coeficientul de anvergură:

$$CA = N_{toc} / N_{topm}, \quad (4.1.)$$

unde: N_{toc} - numărul de tipuri de oțeturi produse și comercializate pe piața RM;

N_{topm} - numărul total de tipuri de oțeturi recunoscute pe plan mondial.

$$CA = 8/16 = 0,5.$$

Coeficientul anvergurii ideale trebuie să se găsească în intervalul coeficientului anvergurii sortimentului de oțeturi de la 0,8 până la 1,0. Acest coeficient care carectirezează sortiment de oțeturi comercializat pe piața de consum a RM este de 0,5, ceea ce este insuficient.

În tabelul 4.1. este încadrată analiza comparativă a sortimentului de oțeturi la nivel mondial și în RM [134].

Tabelul 4.1. Analiza comparativă a sortimentului de oțet la nivel mondial și în RM

Nr. d/o	Sortiment la nivel mondial*	Sortiment în RM**
1	2	3
1	Oțet din vin	Oțet din vin
2	Oțet de mere	Oțet de mere
3	Oțet de masă	Oțet de masă
4	Oțet sherry	-

Continuarea tabelului 4.1.

1	2	3
5	Oțet balsamic	Oțet balsamic
6	Oțet de mango	-
7	Oțet de kaki	-
8	Oțet de pomușoare	-
9	Oțet de cocos	-
10	Oțet de orez	Oțet de orez
11	Oțet de zer	-
12	Oțet de miere	-
13	Oțet de malț	-
14	Oțet de trandafiri	Oțet de trandafiri
15	Oțet de vișine	Oțet de vișine
16	Oțet de mere cu miere	Oțet de mere cu miere

* Elaborat de autor conform datelor prezentate în „Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications,, [134]

**Sunt rezultate autorului

Datele reprezentate în figura 4.3 demonstrează că ponderea cea mai mare de 25% a sortimentului o deține oțetul balsamic, pe locul doi s-a plasat oțetul de masă cu ponderea de 18%, pe locul trei cu ponderea de 15% s-a plasat oțetul de mere. Din oțeturile din vin predomină oțetul din vin roșu cu ponderea de 9%, iar oțetul din vin alb are o pondere nesemnificativă - 3%.

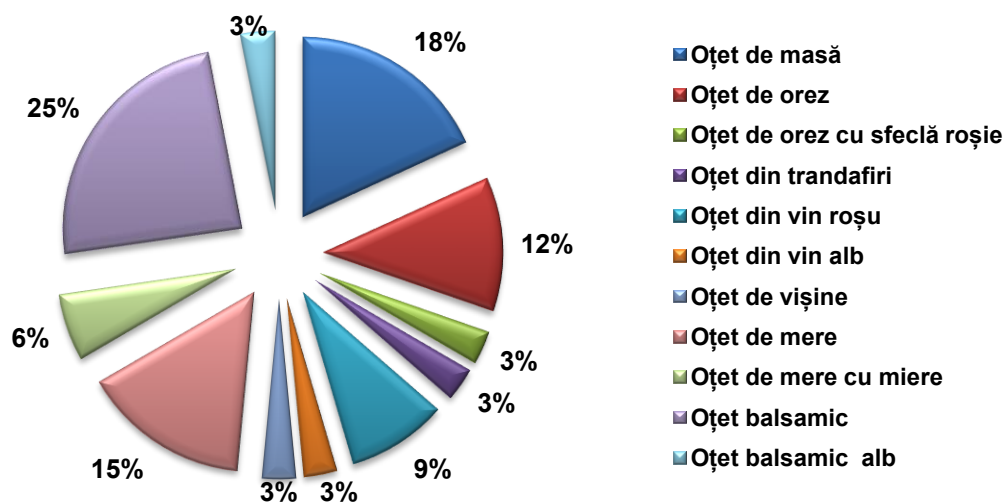


Fig. 4.3. Tipurile de oțeturi comercializate în RM [elaborat de autor]

S-a constatat că marea parte a oțeturilor importate din Italia reprezintă oțetul balsamic care constituie $\frac{1}{4}$ din volumul total pe piața de consum a RM. Urmează oțetul de masă - 18%, oțetul de mere - 15%, oțetul de orez - 12% și oțetul din vin roșu - 9%. Pe lângă acestea, pe rafturile magazinelor poate fi găsit în cantități mai reduse oțet din vin alb, oțet de vișine, oțet de mere cu miere și oțet din trandafiri.

4.2. Analiza opiniilor consumatorilor

În cadrul cercetării a fost elaborat un chestionar electronic (Google Drive) realizat în perioada 28.02.2019-15.04.2019. Au fost intervievați 107 respondenți dintre care au fost validați 103, ceea ce constituie o rată de răspuns de 96,2%. Scopul chestionării a fost analizarea opiniei consumatorilor cu privire la utilizarea oțetului în bucătărie și producerea în condiții casnice. Chestionarul cuprinde 22 de întrebări, iar durata medie a chestionării a unui interlocutor a fost de aproximativ 10 minute. Datele au fost prelucrate cu ajutorul sistemului SPSS, fiind utilizate mai multe metode de analiză statistică cum ar fi: analiza descriptivă, diagramele în formă de bare și altele (anexa 4).

Dintre cei 103 respondenți, 77,7% sunt femei, iar 22,3% bărbați (figura A.4.1). Analiza profilului sociodemografic arată că 5 persoane au până la 20 de ani, 60 persoane au vârsta cuprinsă în intervalul 20-29 ani, 23 persoane au vârsta între 30-39 ani, 9 persoane între 40-49 ani, 6 persoane între 50-59 ani. La acest studiu nu a participat nici o persoană cu vârsta mai mare de 60 de ani (figura A 4.2).

Arealul geografic al respondenților din RM a fost următorul: 49 persoane sunt din municipiul Chișinău, 11 din raionul Orhei, 3 din municipiul Bălți, raionul Ungheni, Florești și Criuleni, 2 sunt din raionul Ialoveni, Căușeni, Cimișlia, Dubăsari, Râșcani și Drochia. Totodată, au fost înregistrate răspunsurile de la conaționali stabiliți peste hotare, și anume, 5 din Italia, 4 din Marea Britanie, 3 din Portugalia și 2 din Germania și Spania (figura A.4.3).

Următorul set de întrebări ale chestionarului s-au referit la stilul de alimentație. S-a constatat că 96,1% din persoanele interviuate au alimentație mixtă, 2,9% alimentație ovo-lacto-vegetariană și doar 1% sunt persoane care au alimentație vegetariană. Nici unul dintre respondenți nu are o alimentație lacto-vegetariană sau raw-vegană (figura A.4.4).

În opinia a 51,5% dintre persoanele interviuate, oțetul este un produs obținut prin fermentare, 27,2% din respondenți susțin că este un acid natural, 11,7% consideră că acesta este un condiment și doar 9,7% susțin că este o substanță chimică (figura A.4.7). Respondenților le-a fost oferită o listă a celor mai cunoscute tipuri de oțet, cu posibilitatea de a indica și alte tipuri de oțeturi. Astfel, analizând datele reprezentate în figura A.4.8, se constată că cel mai des utilizat este oțetul din mere, oțetul de masă, oțetul balsamic și oțetul din vin. Mai puțin utilizat și cunoscut este oțetul din orez, miere, pomușoare și malț.

În continuare au fost studiate preferințele consumatorilor. În baza răspunsurilor reprezentate în figura A.4.9, din numărul total de respondenți 89 persoane au confirmat calitatea ca fiind

indicele de bază, iar 78 persoane au menționat că gustul este indicele de care țin cont când cumpără un anumit tip de oțet.

La întrebările legate de metodele și frecvența utilizării oțetului în bucătărie (figura A.4.10), 49 din respondenți au menționat că procură oțet cu o concentrație de 6%, 34 persoane preferă oțetul cu concentrația de 9%, 13 persoane - cu 3%, 4 persoane – cu 4%, iar 3 persoane au susținut că nu procură oțet din comerț, deoarece nu au încredere în calitatea acestuia.

Astfel, conform rezultatelor reprezentate în figura A.4.11, din cele 103 persoane intervievate, 77 au menționat că utilizează oțetul în calitate de condiment, 76 - ca conservant, 69 – ca dezinfectant, 56 – ca soluție anticalcar, 25 consideră că acesta poate fi utilizat în scop medical și doar 17 au menționat că folosesc oțetul la prepararea cosmeticelor naturiste în condiții casnice.

Conform rezultatelor reprezentate în figura A.4.12, se constată că cei mai mulți respondenți *permanent* utilizează oțetul la marinarea legumelor, *foarte des* la prepararea dresingurilor pentru salate, *foarte rar* pentru menținerea culorii legumelor și marinarea cărnii. Iar cei mai mulți respondenți au confirmat că nu au folosit niciodată oțetul la fierberea ouălor, cărnii sau la spumarea albușului. Se poate concluziona că chiar dacă oțetul este un produs alimentar foarte cunoscut, utilizarea lui este restrânsă în prepararea bucatelor culinare.

Oțetul este un produs care poate fi procurat fără dificultate. Astfel, conform figurii A.4.13, se observă că 86,4% din persoanele intervievate preferă să utilizeze oțetul din comerț și doar 13,6% prepară oțet în condiții casnice. Din persoanele care prepară oțet artizanal (figura A.4.14) 42,9% au confirmat că prepară oțet *permanent*, 28,6% fac acest lucru *ocazional*, iar 28,6% - *o singură dată*. Din cele 14 persoane, care cel puțin o singură dată au preparat oțet în condiții casnice (conform figurii A.4.16), 13 persoane au utilizat metoda de autolimpzire a oțetului obținut și doar o singură persoană a utilizat bentonita în calitate de agent de limpezire.

În baza rezultatelor din figura A.4.15, motivele pentru care aceste persoane folosesc doar oțetul preparat de ei este că nu au încredere în calitatea oțetului din comerț (64,3%), obțin oțet cu arome speciale (25,2%) și dispun de o rețetă personală (10,5%).

Conform răspunsurilor acordate de persoanele intervievate la întrebarea ”*Utilizarea oțetului din vin și aromatizarea acestuia*” (figura A.4.17), doar 55,3% dintre respondenți utilizează oțetul din vin, iar 44,7% preferă alte tipuri de oțet. Din cele 55,3% de persoane care preferă să consume oțet din vin, în baza rezultatelor din figura A.4.18, 64,6% preferă ca oțetul să fie din vin alb și 35,4% din vin roșu. În privința plantelor utilizate pentru aromatizarea oțetului, conform rezultatelor din figura A.4.19, majoritatea preferă rozmarinul, menta și ardeii iute.

La întrebarea despre ”*Efectele benefice sau nocive ale oțetului*”, 72,3% dintre respondenți consideră că oțetul are efecte benefice asupra sănătății organismului uman, iar 27,7% susțin că acesta are doar efecte nocive (figura A.4.20). Astfel, persoanele care au susținut că oțetul are *efecte benefice* (figura A.4.21), au menționat cele mai cunoscute: îmbunătățirea digestiei, împiedică dezvoltarea tumorilor maligne și reglează glicemia. În figura A.4.21 sunt prezentate opiniile respondenților, care consideră că oțetul are doar efecte negative asupra sănătății. Cele mai grave probleme de sănătate cauzate de consumul excesiv de oțet sunt apariția gastritei, scăderea nivelului de potasiu în oase și distrugerea smalțului dentar.

4.3. Obținerea oțetului din suc concentrat

Partea experimentală a fost axată pe studiul proceselor de fermentare alcoolică a sucurilor de struguri până în vin, respectiv, și fermentarea acetică ulterioară a vinului până la obținerea oțetului. A fost utilizat suc concentrat din struguri albi, caracteristicile căruia sunt inserate în tabelul 4.2. Calitatea sucului concentrat a fost în corespundere cu norme prevăzute în reglementările tehnice HG nr. 1111 [135].

Tabelul 4.2. Caracteristica concentratului din struguri albi*

Indici de calitate	Concentrat de struguri albi KINETA
Compoziția: ingredientele de bază	100% suc de struguri albi
Descrierea fizică	Vâscoasă, culoarea galben-închisă
Caracteristicile fizico-chimice	Brix ⁰ – 65; pH - 2,57; Densitatea -1260 kg/m ³ la T=20°C
Caracteristica organoleptică	Gustul, aroma specifice sucului de struguri
Termenul de valabilitate	12 luni la temperatura 10-15°C

**Elaborat de autor pe baza datelor producătorului S.A. "ALFA-NISTRU".*

4.3.1. Fermentarea alcoolică

Fermentarea alcoolică a sucurilor a fost realizată după diluarea lor cu apă potabilă până la concentrația de zahăr 25g/L cu utilizarea levurilor ENARATIS FERM SC (0,3 g levuri/L de suc) cu/și fără adaos de nutrimente (activatori compleți ai fermentării alcoolice) în mediul de fermentare: NUTRIFERM SPECIAL 35 g/hL la începutul fermentării și NUTRIFERM ADVANCE 30 g/hL la mijlocul procesului de fermentare. Schema generală a procesului de fermentare este reprezentată în figura A 5.1.

Evoluția conținutului de zahăr și alcool etilic pe parcursul fermentării alcoolice a sucului de struguri cu/și fără adaos de nutrimente este prezentată în figurile 4.4 și 4.5.

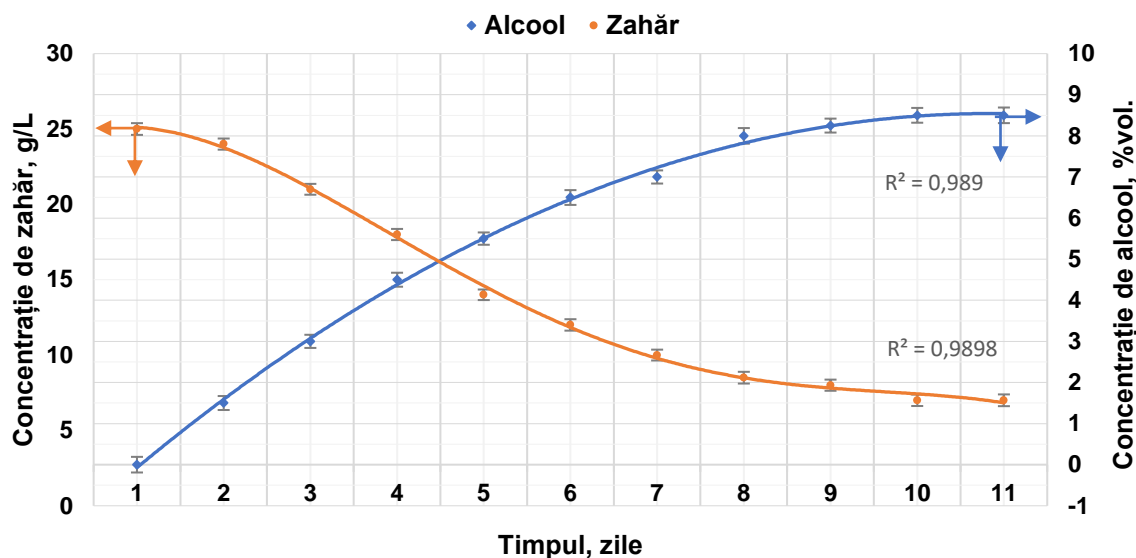


Fig. 4.4. Evoluția conținutului de zahăr și alcool pe parcursul fermentării alcoolice a sucului de struguri fără adaos de nutrimente. Rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard; $p \leq 0,05$

Rezultatele obținute arată că concentrația alcoolică a sucului din struguri a crescut de la 0 % vol. la 8,5 % vol., iar conținutul de zahăr a scăzut de la 25 g/L la 7 g/L, astfel observându-se că la fermentarea alcoolică a sucului din struguri fără nutrimente timp de 11 zile s-a obținut vin cu o concentrație alcoolică de 8,5 % vol.

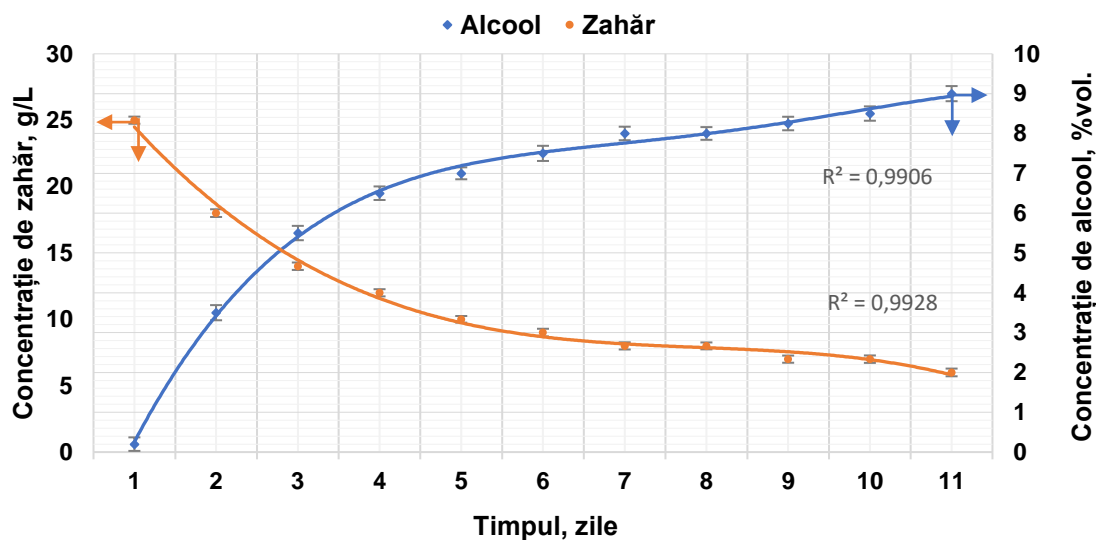


Fig. 4.5. Evoluția conținutului de zahăr și alcool pe parcursul fermentării alcoolice a sucului de struguri cu adaos de nutrimente. Rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard; $p \leq 0,05$

Rezultatele probelor cu nutrimente deferă nesemnificativ. Concentrația de alcool a crescut de la 0 % vol. la 9 % vol., ceea ce este cu 0,5 % vol. mai mult decât în probele fără nutrimente. Conținutul de zahăr a scăzut în consecință de la 25 g/L la 6 g/L. Așadar, în urma fermentării

alcoolică a sucului din struguri cu nutrimente timp de 11 zile s-a obținut un vin cu o concentrație alcoolică de 9 % vol. Pe baza rezultatelor obținute pentru probele cu/și fără nutrimente se poate concluziona că influența nutrimenților nu este atât de importantă în fermentarea alcoolică, deoarece diferența dintre probe este de doar 0,5 % vol alcool etilic.

Parametrii fizico-chimici ai produselor rezultate din fermentarea alcoolică a sucurilor de struguri sunt incluși în tabelul 4.3.

Tabelul 4.3. Parametrii fizico-chimici ai produselor rezultate din fermentarea alcoolică*

Nr. d/o	Indici	Valori după fermentarea alcoolică	
		fără nutrimente	cu nutrimente
1	pH	3,20±0,05	3,13±0,05
2	Concentrație zahăr, g/L	7,0±0,1	6,0±0,1
3	Alcool, % vol.	8,5±0,4	9,0±0,5
4	Densitatea, kg/m ³	1025±10	1005±10

**Elaborat de autor, iar rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard; p<0,05.*

S-a efectuat fermentarea alcoolică a sucurilor prin înocularea lor cu tulpina comercială de levuri ENARATIS FERM SC, care, conform surselor bibliografice, a constat din trei faze [136].

Faza de latență, care are loc la începutul fermentării, corespunde saturației treptate a mediului cu dioxid de carbon. La sfârșitul acestei faze, când apare dioxidul de carbon, populația de drojdie crește cu aproximativ 2-3 generații. În această fază, compoziția mediului, inclusiv conținutul de zahăr și alcool, este foarte puțin modificată. Excepție constituie tiamina, consumul căreia este destul de mare. Battalion și colab. au arătat că tiamina se epuizează în câteva ore [137].

Durata fazei de latență variază ca timp și este influențată de: temperatură, doza de inoculare și prezența inhibitorilor, în principal a SO₂.

Faza de creștere durează până la atingerea numărului maximal a populație de microorganisme. La sfârșitul acestei faze este atinsă viteza maximă de fermentare. Multiplicarea celulară se termină odată cu epuizarea azotului asimilabil din must [138]. Este de menționat faptul că adăugarea azotului amoniacal accelerează multiplicarea drojdiilor și este asimilat rapid de aminoacizi. Salmon și colab. remarcă că consumul de azot conduce la scăderea pH, care atinge valoarea minimă la sfârșitul fazei de creștere. În timpul fazei staționare, drojdiile nu se multiplică și activitatea lor scade. Aceasta corespunde unei scăderi constante a vitezei de transport a zaharurilor [139].

Există mai multe mecanisme de inhibare, care implică acizi grași cu lanț mediu, toxine etc., dar rolul esențial îi revine etanolului. Ansanay și colab. au studiat efectul etanolului în timpul

fazei staționare și au demonstrat că pentru tulpinile comerciale există o corelație directă între concentrația de etanol și rata medie de fermentare [140].

Parrou și colab. au menționat că pe parcursul fazei staționare, dimensiunile celulelor de drojzii să măresc, prin urmare, masa uscată crește preponderent din cauza sintezei glicogenului și trehalozei. Glicogenul poate fi considerat o rezervă de zahăr, în timp ce trehaloza joacă un rol mai complex [141]. Astfel, azotul asimilabil este un nutriment limitant pentru drojzii și joacă un rol esențial în cinetica fermentativă. Bely și colab. au menționat că există o relație directă între concentrațiile asimilabile de azot și ratele de producție maxime de CO₂ (proporționale cu ratele de fermentare) [142].

Deficiențele azotului asimilat pot fi considerate ca fiind principalele cauze a fermentării lente. Concentrația azotului asimilabil este foarte variabilă, în funcție de caracteristicile sucului supus fermentării. Această variabilitate a fost descrisă de Bely și colab., care au constatat că efectul deficienței este deosebit de pronunțat când concentrația inițială a azotului este mai mică de 150-180 mg/L. Variabilitatea conținutului de azot din sucuri se datorează mai multor factori printre care varietatea strugurilor și localizarea geografică. Gradul de maturitate afectează de asemenea în mod semnificativ conținutul de azot al sucurilor [141].

Astfel, adaosul de azot joacă un rol important și poate modifica esențial cinetica fermentării. În cazul mediilor de fermentare extrem de deficitare (mai puțin de 150 mg/L de azot disponibil), adăugarea de săruri de amoniu (fosfat de diamoniu - DAPn ori sulfat de diamoniu) accelerează semnificativ viteza de fermentare și, ca rezultat, diminuează foarte mult durata fermentării [143]. În același timp, un rol important joacă momentul adăugării sărurilor. Dacă azotul se adaugă la etapa inoculării cu levuri, acesta conduce la o creștere a populației de drojdie, în timp ce în cazul în care este adăugat în timpul fazei staționare (la mijlocul fermentării), crește activitatea levurilor datorită reactivării sistemelor de transport al zahărului [144].

În cazul fermentării lente, caracterizată în principal prin deficitul de azot, aportul de azot are o eficacitate comparabilă pe parcursul primei faze a fermentării. În cazul fermentărilor foarte lente, care sunt caracterizate prin alte tipuri de deficiențe (în principal oxigen și lipide), adăugarea DAP la momentul inoculării poate avea un efect inhibitor. Acest adaos permite creșterea populației și vitezei maxime de fermentare, dar concomitent conduce la moartea fiziologică mai rapidă a celulelor de drojzii datorită diluției excesive a rezervelor lipidice ale drojdiilor [145].

Adaosul sărurilor de azot poate provoca și alte efecte adiționale, în special sinteza produselor secundare ale metabolismului și poate influența caracteristicile organoleptice ale produsului finit.

Bell și Henschke consideră că adăugarea sărurilor de azot trebuie să rămână într-un interval acceptabil [146].

Alexandre și colab. au menționat că adăugarea unor cantități prea mici deseori conduce la producerea excesivă a compușilor de sulf, în particular a hidrogenului sulfurat (H_2S), iar alcoolii superiori limitează sinteza esterilor. Și, dimpotrivă, cantitățile excesive de azot pot crește concentrațiile de acetat de etil și acid acetic, dar mărește riscul de tulburări proteice. Adaosul de azot în timpul fermentării alcoolice poate avea consecințe și asupra fermentării malolactice [147].

4.3.2. Fermentarea acetică

Procesul de fermentare acetică a produselor rezultate din fermentarea alcoolică include următoarele etape principale:

- prepararea vinului pentru obținerea oțetului cu aciditate dorită;
- oxidarea acetică propriu-zisă a alcoolului și obținerea oțetului.

Desfășurarea procesului de oxidare acetică a fost urmărită prin determinarea conținutului de acid acetic format și a alcoolului etilic rezidual din maia. Parametrii controlați, care au determinat desfășurarea în condiții optime a procesului de oxidare acetică sub acțiunea bacteriilor acetice, au fost următorii:

- cantitatea de aer care asigură viabilitatea și multiplicarea bacteriilor și implicit oxidarea alcoolului în acid acetic (valoarea optimă fiind de cca 5 litri aer/litru);
- aerarea constantă și neîntreruptă;
- temperatura de $28 \pm 2^{\circ}C$ - această valoare a fost constantă, deoarece variațiile ei împiedică activitatea bacteriilor;
- pentru a accelera procesul, au fost utilizate următoarele substanțe nutritive: sulfatul de amoniu $(NH_4)_2SO_4$ -0,135 g/L, zaharoza $C_{12}H_{22}O_{11}$ -2,7 g/L, carbonatul de potasiu K_2CO_3 -0,005 g/L.

Evoluția procesului de fermentare acetică a fost urmărită după aciditate totală și pH al mediului de fermentare. Evoluția acestor parametre pe parcursul fermentării acetice a probelor cu/și fără adaos de nutrimente este reprezentată în figurile 4.6 și 4.7. Din datele expuse se observă o perioadă de adaptare de 3-5 zile a bacteriilor acetice la mediul și condițiile de cultivare.

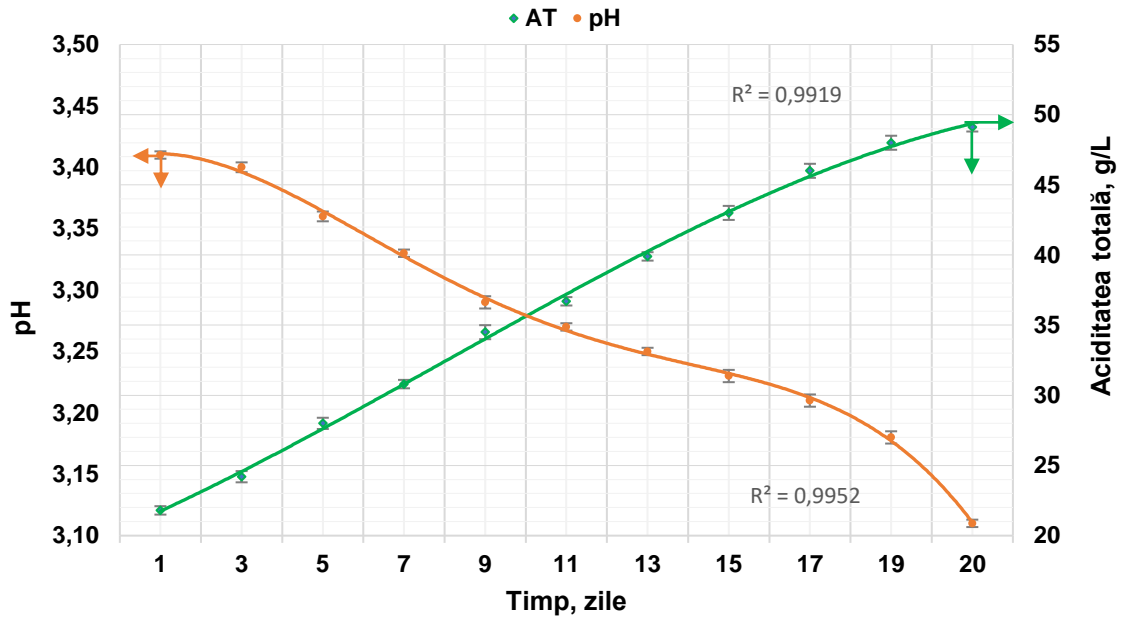


Fig. 4.6. Evoluția AT și pH pe parcursul fermentării acetice a probelor fără adaos de nutrimente. Rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard; $p \leq 0,05$

Valorile acidității totale pentru proba fără nutrimente arată o creștere rapidă a acidului acetic - de la 21,8 g/L până la 35,3 g/L în primele 10 zile. Apoi, în următoarele zile de fermentare, se observă o creștere mai lentă - de la 35,3g/L până la 49,1 g/L. După 20 de zile de fermentare acetică se observă o acumulare a acidului acetic de 49,1 g/L. Pentru pH, se atestă o scădere de la valoarea maximă de 3,41 până la valoarea minimală de 3,11.

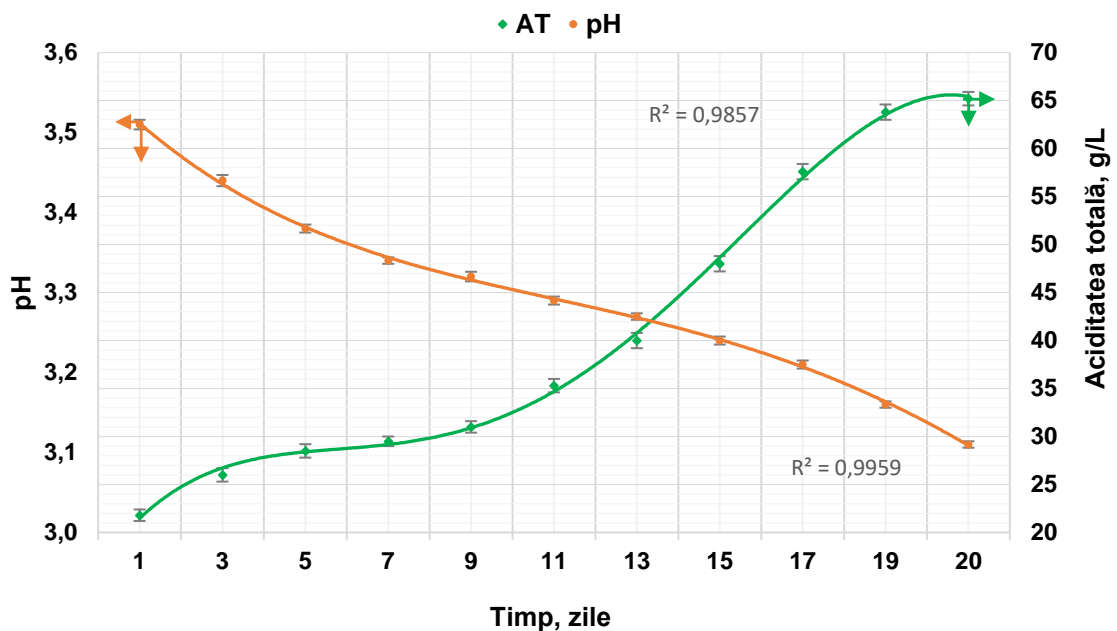


Fig. 4.7. Evoluția AT și pH pe parcursul fermentării acetice a probelor cu adaos de nutrimente. Rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard; $p \leq 0,05$

Aciditatea totală pentru proba cu adaos de nutrimente denotă o acumulare lentă de acid acetic - de la 21,8 g/L până la 33,0 g/L în primele 10 zile. În următoarea perioadă de fermentare, se observă o acumulare mai rapidă a acidului acetic - de la 35,0 g/L până la 65,0 g/L. Pentru pH, se atestă o scădere de la valoarea maximă de 3,51 până la valoarea minimală de 3,11. Timp de 20 de zile de fermentare a oțetului pentru probele cu nutrimente, se atestă o acumulare a acidului acetic cu 33% mai mult decât în proba fără nutrimente. Parametrii fizico-chimici ai produselor rezultate din fermentarea acetică sunt inserați în tabelul 4.4.

Tabelul 4.4. Parametrii fizico-chimici ai produselor rezultate din fermentarea acetică*

Nr. d/o	Indici	Valori după fermentarea acetică	
		fără nutrimente	cu nutrimente
1	Aciditate totală, g acid acetic/L	49,1±0,6	65,0±0,3
2	pH	3,11±0,05	3,10±0,04
3	Densitate, kg/m ³	1040±15	1042±20

*Elaborat de autor, iar rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard.

După 20 de zile de fermentare acetică pentru proba cu nutrimente, există o acumulare de acid acetic cu 15,9 g/L mai mult decât în proba fără nutrimente [148]. Pe baza datelor obținute, putem concluziona că în prima etapă, pentru fermentarea alcoolică nu este necesară utilizarea nutrimentelor, întrucât diferența dintre conținutul de alcool din probele obținute este de doar 0,5% vol. Această valoare este nesemnificativă. În consecință, nu recomandăm utilizarea nutrimentelor din lipsa eficienței și mărirea costului produsului finit. În ceea ce privește a doua etapă, fermentarea acetică, în acest caz recomandăm utilizarea nutrimentelor, deoarece cantitatea folosită este mică, iar eficiența este mult mai mare. Diferența dintre probele fără/și cu nutrimente a fost de aproximativ 33%. Prin urmare, recomandăm utilizarea nutrimentelor în procesul de fermentare pentru a reduce timpul de preparare a oțetului. Din punct de vedere economic, costul produsului finit va crește neesențial, deoarece se folosesc nutrimente în cantități mici.

Potrivit lui Ndoye și colab., bacteriile acetice sunt Gram⁻ și strict aerobe [149]. Dintre tulpinile de bacterii acetice izolate din fructele macerate și utilizate în producția industrială a oțetului, mai mult de 60% aparțin genului *Acetobacter*. Restul aparțineau la genul *Gluconobacter*. Aceste două genuri diferă prin următoarele caracteristici biochimice: *Acetobacter* este oxidat pozitiv, în timp ce *Gluconobacter* este oxidat negativ [150]. Speciile ce aparțineau la genul *Acetobacter*, izolate frecvent din fructele tropicale sunt *Acetobacter tropicalis* și *Acetobacter pasteurianus* [149]. Drojdiile prezente în produsele alcoolice sunt inițial în stare de stres într-o etapă de tranziție, care conduce la micșorarea numărului iar ulterior la moartea lor [151].

Claro și colab. menționează că stresul indus de alcool provoacă flocularea drojdiilor. Acest proces este dependent de formarea și prezența acetaldehidei, care este primul produs al oxidării biologice a etanolului de către *Acetobacter* și care perturbă activitatea enzimatică a drojdiei [152]. Formarea acidului acetic determină o modificare a pH extracelular, influențând astfel pH intracelular al drojdiilor [153], care conduce la reducerea semnificativă a producției de etanol, îndată ce concentrația acidului acetic a atins 30g/L [154]. Ethiraj și colab. au constatat că biomasa totală de bacterii acetice formată pe parcursul fermentării este în relație directă cu concentrația de etanol și de acid acetic în mediu [155].

Valli și colab. au relatat că genul *Acetobacter* frecvent utilizat în industria oțetului, implică o oxidare biologică a etanolului în acid acetic prin combinarea a două tipuri de enzime: alcool dehidrogenază (ADH) și aldehyd dehidrogenază (ALDH) [153]. Frebortova și colab. menționează că la începutul fermentării acetice producerea de acid acetic are loc rapid, deoarece oxidarea etanolului de către dehidrogenaze este spontană. Atingerea valorii de acid acetic de 45-60g/L indică sfârșitul fermentării acetice [156].

Fermentarea acetică a cidrului necesită 20-21 de zile, iar a vinului - până la 27-30 zile. Cu toate acestea, fermentarea oțetului prin procesul discontinuu simplu este în general lentă, de la 4 până la 5 săptămâni pentru o fermentare completă [155]. Potrivit lui Ndoye, tulpinile de bacterii acetice produc acid acetic până la 170g/L și sunt folosite în procesele moderne de fermentare submersă [149].

Analiza evoluției conținutului de acid acetic și a pH pe parcursul fermentării acetice a vinului demonstrează existența unei relații liniare inverse între cei doi parametri (corelația $r = 0,98$). Aciditatea finală a oțetului se datorează în mare parte prezenței acidului acetic [149].

Potrivit lui Walter [157] și Yang [158], în afară de acidul acetic, în oțeturile alimentare mai există și alți acizi organici cu lanțul scurt (de exemplu: acidul propionic, butiric, citric, tartric, malic, succinic și lactic), care se conțin în materiile prime sau sunt generați prin fermentare și care conferă aciditatea totală, aromă și calitate oțetului.

Substraturile pentru fermentarea acetică rar depășesc 10%vol. alcool. Gullo și colab. susțin că creșterea concentrației de etanol la fermentarea acetică nu este semnificativă pentru creșterea bacteriilor acetice [159]. După Lotong și colab., cu cât concentrația totală de etanol și de acid acetic în mediu este mai mare, cu atât este mai mică biomasa produsă [160].

Gullo și colab. menționează că toleranța la zahăr nu este un factor important pentru stresul tehnologic al bacteriilor acetice în oțetul industrial, dar acest factor este unul limitant pentru producția oțetului tradițional [159].

4.4. Influența parametrilor biochimici și tehnologici asupra fermentării acetice

4.4.1. Determinarea parametrilor fizico-chimici ai materiei prime

În calitate de materie primă pentru investigații a fost utilizat oțetul din vin alb OVAI folosit ca maia și vin alb VAC. Parametrii fizico-chimici ai vinului și ai oțetului includ: pH, aciditatea totală, densitatea, extractul sec, conținutul de zahăr, de alcool, concentrația SO₂ liber și total incluși în tabelul 4.5.

Tabelul 4.5. Parametrii fizico-chimici ai materiei prime*

Nr. d/o	Parametrii fizico-chimici	Valorile vinului	Valorile oțetului
1	pH la T=20 °C	3,64±0,05	2,60±0,03
2	Aciditate totală, g/L	13,5±0,5	66,0±0,7
3	Densitate, kg/m ³	1040±12	1008±15
4	Extract sec, g/L	19,50±0,52	10,75±0,55
5	Alcool rezidual, %	-	1,3±0,2
6	Alcool, % vol.	12,7 ±0,5	-
7	Zahăr, g/dm ³	4,4 ±0,3	-
8	Concentrația dioxidului de sulf liber, mg/dm ³	22,40±0,05	-
9	Concentrația dioxidului de sulf total, mg/dm ³	41,21±0,02	-

**Elaborat de autor, iar rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard.*

Parametri fizico-chimici identificați în vinul VAC permit să afirmăm că acesta poate fi utilizat la obținerea oțetului din vin alb fără a stagna procesul de fermentare. Concentrația alcoolică are valoare medie, iar valoarea de 12,7% vol. se încadrează în limitele admisibile, 8,5-14,5% vol., ceea ce confirmă sursele bibliografice [161]. Conținutul acidului sulfuros liber și total se încadrează în limitele maximal admisibile conform normelor, care indică cantitatea de 30 mg/dm³ acid sulfuros liber și maximum 170 mg/dm³ acid sulfuros total [162].

Parametrii fizico-chimici ai oțetului din vin alb OVAI permit să afirmăm că acesta poate fi utilizat ca maia în procesul de fermentare acetică. S-a constatat că valoarea acidității totale recalculată pentru acidul acetic este de 66 g/L, ceea ce confirmă faptul că oțetul aflat în studiu cu o valoare medie de acid acetic poate fi utilizat în industria alimentară în conformitate cu documentul normativ național SM [57]. Cantitatea de alcool rezidual de 1,3% vol. determinat denotă finalizarea procesului de fermentare acetică și se încadrează în parametrii documentului normativ SM național [57].

4.4.2. Impactul dioxidului de sulf

S-a cercetat influența dozei de dioxid de sulf, care a variat de la 80 până la 320 mg/dm³ SO₂, asupra procesului de fermentare acetică a vinului alb și modificările valorilor pH, densității și

acidității totale. Valoare pH diferă de la o probă la alta, în funcție de cantitatea de dioxid de sulf adăugat și a duratei procesului de fermentare acetică. Pentru reprezentarea datelor obținute a fost construită diagramele din figura 4.8.

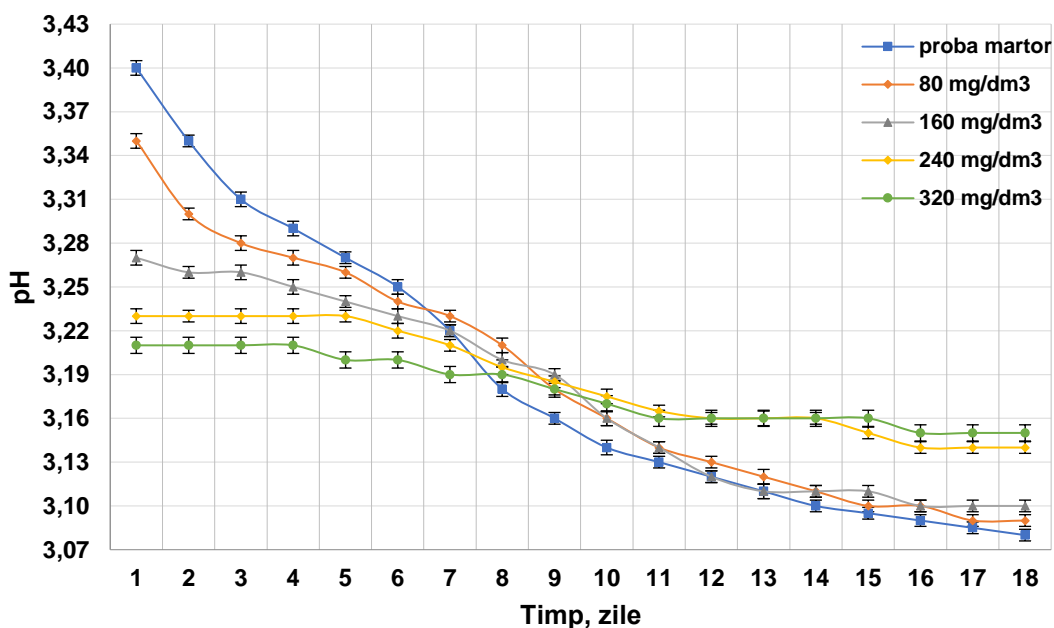


Fig. 4.8. Evoluția pH a vinului cu diferite concentrații SO₂ pe parcursul fermentării acetică. Rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard; $p \leq 0,05$

Datele experimentale din figura 4.8 demonstrează că valoarea pH depinde de procesul de fermentare acetică a oțetului din vin alb, care este dependent de cantitatea adăugată de dioxid de sulf. O creștere esențială a pH este constatată la proba martor și proba cu adăugarea intenționată a dozei de 80 mg/dm³ de SO₂.

Mărirea ulterioară a dozei de dioxid de sulf influențează negativ asupra procesului de fermentare acetică a oțetului din vin alb, de aceea, în ultimele 2 probe, valoarea pH a scăzut neesențial, pentru proba cu 320 mg/dm³SO₂ de la 3,21 până la 3,15 în timp de 18 zile, ceea ce constituie o scădere cu 1,8%. Pentru proba în care nu a fost adăugat dioxid de sulf intenționat, (proba martor), valoarea pH a scăzut de la 3,4 până la 3,08 cu 9,4%.

Din datele menționate putem concluziona că pentru realizarea cu succes a procesului de fermentare acetică se recomandă utilizarea vinului cu un conținut de SO₂ nu mai mult de 160 mg/dm³, în condiții aerobe.

Densitatea este caracteristica fizico-chimică a oțetului din vin, care nu trebuie să suporte modificări substanțiale. Astfel, s-a propus analiza transformărilor suportate de acest parametru în timpul procesului de fermentare a vinului alb, în dependență de variație cantității de SO₂ (de la 80 mg/dm³ până la 320 mg/dm³).

Analizând rezultatele densității din figura 4.9 a probelor cu un conținut diferit de dioxid de sulf, se observă o creștere a valorii acesteea în dependență de timp pe parcursul a 18 zile.

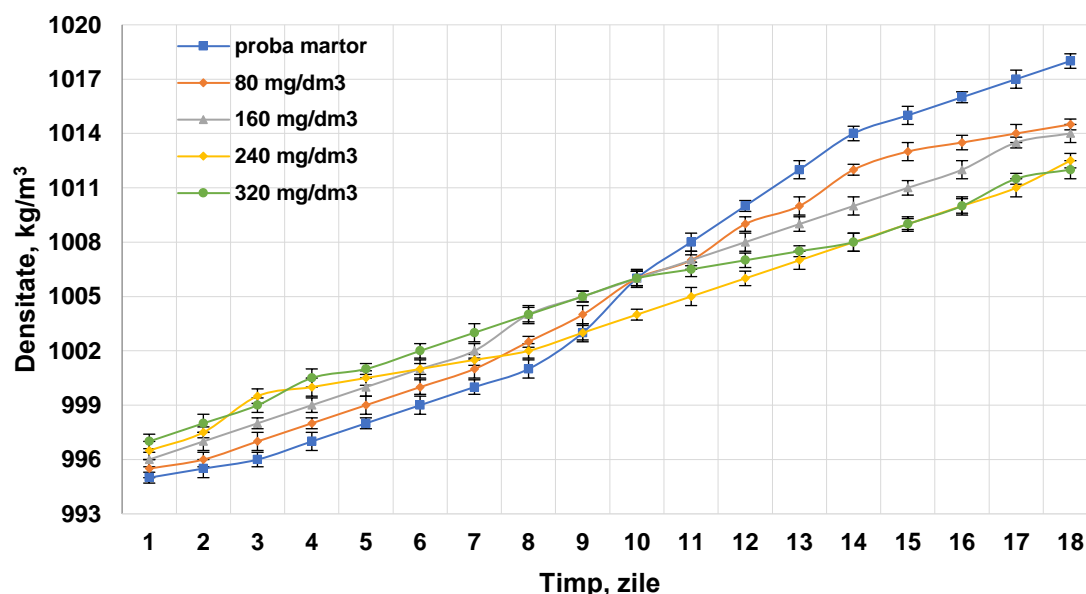


Fig. 4.9. Evoluția densității vinului cu diferite concentrații SO₂ pe parcursul fermentării acetice. Rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard; $p \leq 0,05$

Analizând datele prezentate în figura 4.9, se constată că valorile densității au tendința de creștere pe parcursul procesului de fermentare acetică. După cum se observă, mărirea ulterioară a dozei de dioxid de sulf influențează negativ asupra procesului de fermentare acetică a oțetului din vin alb. În ultimele 2 probe, valoarea densității a crescut neesențial cu 1,5%, de la 997 kg/m³ până la 1012 kg/m³ timp de 18 zile. Pentru proba martor valoarea densității a crescut de la 995 kg/m³ până la 1018 kg/m³, ceea ce reprezintă o creștere cu 2,3%.

Utilizarea unei cantități mai mari de dioxid de sulf arată că procesul de fermentare are loc foarte lent (probele cu concentrație de SO₂ de 240 și 320 mg/dm³) unde valoarea densității nu a crescut semnificativ în perioada de 18 zile. Astfel, după rezultatele obținute se poate concluziona că în procesul de fermentare acetică a oțetului din vin cu adăugarea intenționată a dioxidul de sulf trebuie să fie respectată cantitatea-limită determinată de 160 mg/dm³ SO₂.

S-a cercetat modificarea valorii acidității totale a vinului alb în dependență de cantitatea SO₂ adăugată în probele din vin. Analiza s-a efectuat pe patru probe din vin alb în care au fost adăugate cantități diferite de SO₂, puse în contact cu produsul pentru o anumită perioadă de timp, la temperatura de 23±1°C.

În baza datelor reprezentate în figura 4.8 se poate menționa că cantitatea de SO₂ adăugată fiecărei probe este responsabilă de valoarea acidității totale, cantitatea mare de anhidridă sulfuroasă în vin conduce la stabilizarea procesului de fermentare și încetinește realizarea lui.

Proba cu 240 mg/dm³ și 320 mg/dm³ indică o valoare mică a acidității totale de 47-51 g/L, care începe să crească după 10 zile de fermentare. Astfel, această cantitate nu este benefică pentru realizarea procesului de fermentare. Odată cu micșorarea dozei de SO₂ sau chiar lipsa ei, se observă o creștere a acidității totale, fapt ce indică obținerea oțetului în cea de-a 18 zi.

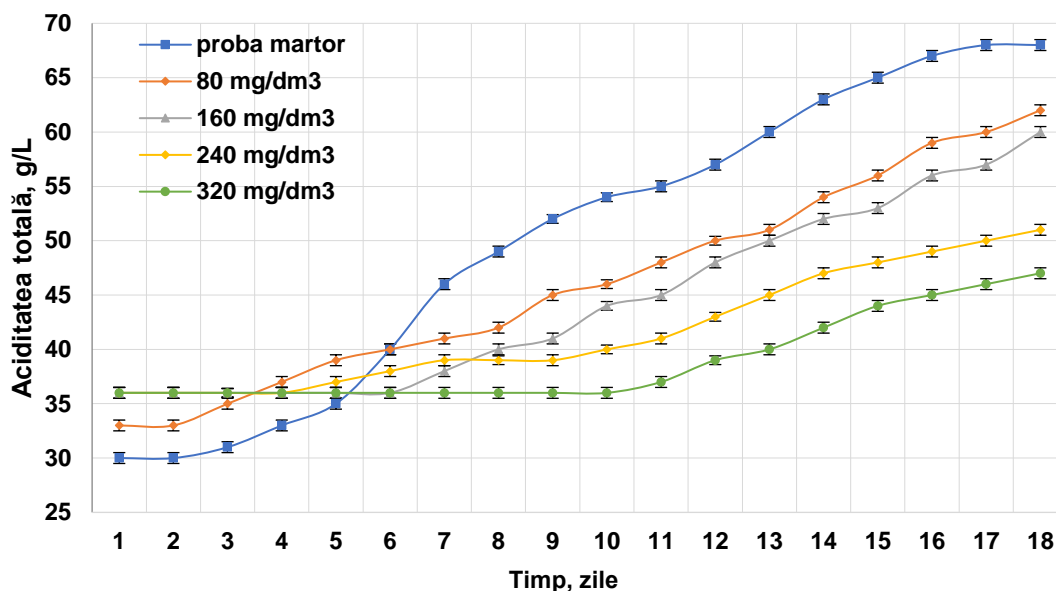



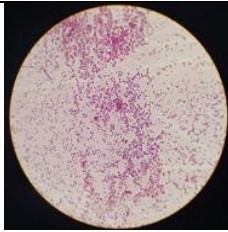
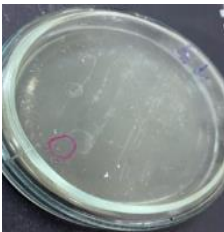


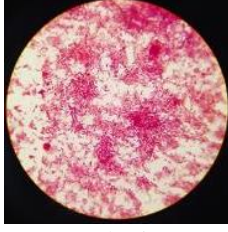
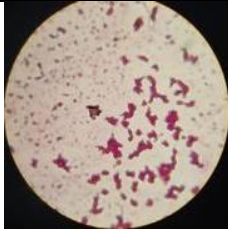
Fig. 4.10. Evoluția AT a vinului cu diferite concentrații SO₂ pe parcursul fermentării acetice. Rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard; $p \leq 0,05$

În baza datelor experimentale expuse în figura 4.10 se poate confirma că cantitatea de dioxid de sulf este potrivită pentru realizarea procesului de fermentare, deoarece aceasta modifică valoarea acidității totale, începând cu cantitatea minimă utilizată. Cantitatea de SO₂ adăugată provoacă o creștere a acidității totale pentru proba II de la 33g/L până la 62g/L, în cazul adăugării intenționate a unei cantități de 80 mg/dm³ de dioxid de sulf. Astfel, se poate afirma că procesul de fermentare are loc, dar necesită o durată de timp mai îndelungată din cauza cantității de SO₂ adăugată. Odată cu mărirea dozei de SO₂ se observă o stopare a procesului de fermentare acetică. De exemplu, la proba cu doza de SO₂ 320 mg/dm³, valoarea inițială a acidității se menține până în a 10-a zi, apoi crește neesențial. Creșterea valorii acidității totale este doar de 11 g/L, care este de două ori mai mică comparativ cu proba II (doza de SO₂ 80 mg/dm³). Variația acestor valori denotă faptul că dioxidul de sulf oferă stabilitate vinului, dar, totodată, încetinește procesul de fermentare acetică, influențând negativ asupra dezvoltării bacteriilor acetice [162]. Totuși, pe parcursul celor 18 zile, pentru proba martor procesul a decurs foarte activ, valoarea acidității totale crescând de la 30 g/L până la 68 g/L, ceea ce este de 2 ori mai mult. Valorile admisibile a conținutului de acid cetic (minimul de 60g/L) se atestă la a 13-a zi [56].


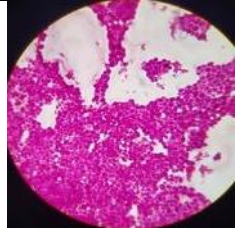

4.4.3. Stabilirea dozei optime de cultură starter

Pentru început, a fost determinat numărul de colonii de bacterii acetice în oțet din vin alb din struguri albi din soiul Noah, care ulterior a fost utilizat ca maia și în vin alb artizanal din soiul Noah, care a fost supus fermentării acetice. Pentru aceasta s-a utilizat metoda de determinare a numărului de colonii de bacterii acetice prin metoda directă de însămânțare. Datele obținute sunt incluse în tabelul 4.6.

Tabelul 4.6. Caracteristica bacteriilor acetice după metoda directă de însămânțare

Sursa	Mediul	Aspectul coloniilor	Nr de colonii	Caracteristicile morfologice	Imaginea microscopică	Proprietățile culturale
1	2	3	4	5	6	7
Oțet din struguri albi, soiul Noah	Sabouraud	 Placa Petri	$2,96 \times 10^2$ <i>Acetobacter</i>	Profil - plat Culoare - alb-gălbuie Margini - regulate Formă - ax circular Luciu - prezent Mărime - 1-2 mm Transparență translucid	-  Aspectul microscopic, mărirea x100	Celule alungite, mărime mică
	Sabouraud cu dextroză	 Placa Petri	$2,76 \times 10^2$ <i>Acetobacter</i>	Profil - plat Culoare - alb-gălbuie Margini - regulate Formă - ax circular Luciu - prezent Mărime - 1-2 mm Transparență translucid	-  Aspectul microscopic, mărirea x100	Celule rotunjite, mărime mică
Vin alb artizanal, soiul Noah	Sabouraud	 Placa Petri	$2,2 \times 10^1$ <i>Acetobacter</i>	Profil - plat Culoare - gălbuie Margini - regulate Formă - ax circular Luciu - prezent Mărime - 1-2 mm Transparență translucid	-  Aspectul microscopic, mărirea x100	Celule alungite, mărime mică
			$5,2 \times 10^1$ Drojdiile	Profil - deluros Culoare - albă Margini - ondulate Formă - neregulată Luciu - prezent Mărime - 4-5 mm Transparență translucid	-  Aspectul microscopic, mărirea x100	Aglomerări de celule, mărime mică

Continuarea tabelului 4.6.

1	2	3	4	5	6	7
Vin alb artizanal, soiul Noah	Sabouraud cu dextroză		$2,32 \times 10^1$ <i>Acetobacter</i>	Profil - curbat Culoare - alb-gălbuie Margini - regulate Formă - circulară Luciu - prezent Mărime - 1-2 mm Transparență translucid	-  Aspectul microscopic, mărirea x100	Aglomerări de celule, mărime medie
			$3,6 \times 10^1$ Drojdiile	Profil - curbat Culoare - albă Margini - ondulate Formă - neregulată Luciu - prezent Mărime - 5-6 mm Transparență translucid	-  Aspectul microscopic, mărirea x100	Celule rotunjite, mărime mică

Dinamica multiplicării bacteriilor acetice în culturile discontinuă, asincrone permite să analizăm și să apreciem procesul de multiplicare a bacteriilor acetice în dependență de evoluția timpului. Numărul de celule microbiene este exprimat în valori logaritmice expuse grafic pe curba de creștere și arată evoluția ciclului de viață al bacteriilor acetice. Curba grafică include șase faze consecutive, în funcție de rata de creștere care este notată cu r sau μ : faza de adaptare sau lag faza, faza de creștere exponențială sau log faza, faza staționară și faza de declin [163].

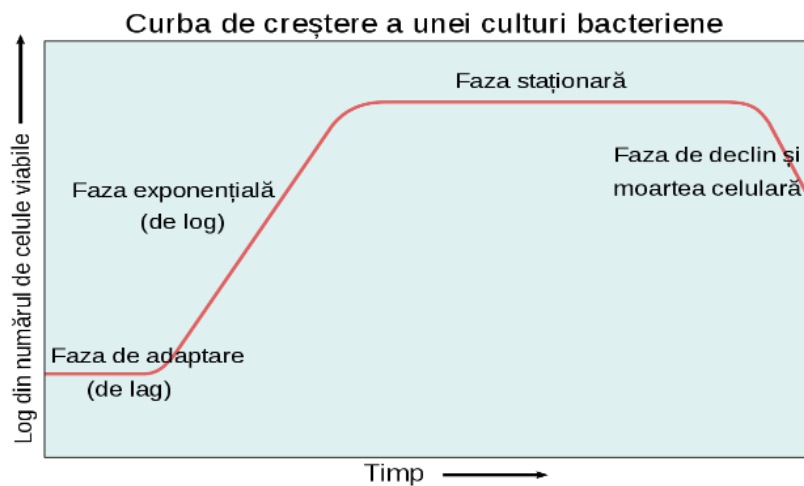
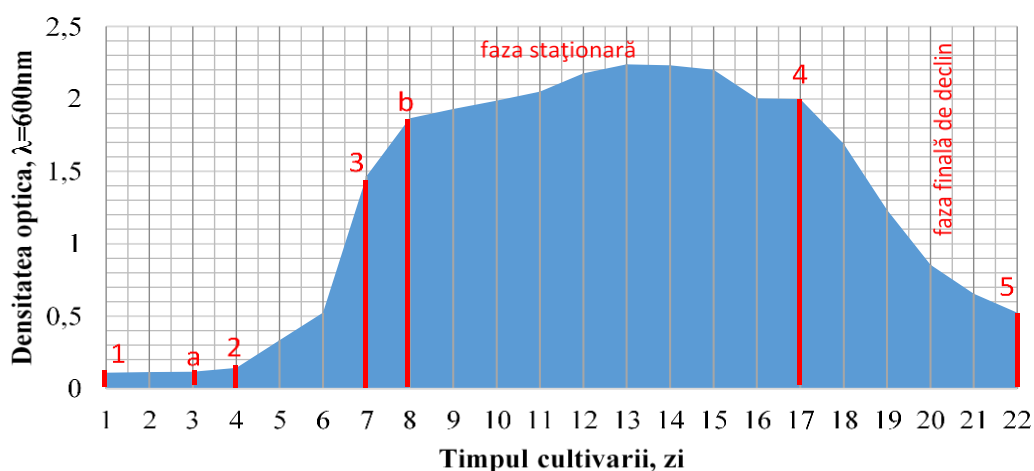


Fig. 4.11. Curba de creștere a culturii bacteriene [163]

Cunoașterea evoluției populației microbiene (curbei de creștere figura 4.11.) este importantă pentru stabilirea perioadelor de recoltare prin procese industriale a metaboliților primari și

secundari. Majoritatea microorganismelor utilizate în industrie se selecționează în funcție de capacitatea înaltă de producere a unui metabolit primar sau secundar [163].

Determinarea turbidității și cantității numărului de celule în mediu la fermentarea acetică pe parcursul a 22 zile s-a efectuat prin utilizarea unui spectrofotometru pentru a măsura proprietățile de absorbție ale culturilor celulare (fig. 4.12). Aceasta constă în determinarea numărului de celule din mediu (concentrație celulară), folosind proprietățile de absorbție a luminii ale culturii celulare atât bacteriene, cât și eucariote. Cultura celulară are anumite proprietăți optice care îi determină densitatea în mediul cultural de creștere.



1-2 faza de repaos (faza lag) (1-a perioada de adaptare; a-2 perioada de refacere); 2-3 faza exponențială; 3-4 faza staționară (3-b perioada de spor de creștere negativ; b-4 perioada de staționare propriu-zisă); 4-5-faza finală de declin.

Fig. 4.12. Evaluarea densității optice a vinului alb pe parcursul cultivării bacteriilor acetice

Examinarea ciclului de viață a bacteriilor acetice a avut loc timp de 22 zile (figura 4.12). Pe parcursul primelor 4 zile nu s-au observat schimbări esențiale ale valorii densității optice, ceea ce demonstrează că procesul de fermentare acetică stagnează și are loc faza de adaptare. În faza exponențială, din a 4-a până în a 7-a zi, se observă o creștere a valorii densității optice, ceea ce indică o modificare suficient de rapidă. Faza staționară are loc începând cu a 8-a zi și se menține până a 17-a zi. La finele acestei faze procesul de fermentare acetică se încheie cu atingerea valorii minime de aciditate totală pentru oțet (60 g/L) [56].

Din datele expuse putem concluziona că valoarea densității optice la lungimea de undă de 600 nm este dependentă de intensitatea procesului de fermentare acetică, respectiv de cantitatea inițială a bacteriilor acetice.

Densitatea este caracteristica fizico-chimică a oțetului din vin care nu trebuie să suporte modificări substanțiale. Astfel, s-a propus analiza transformărilor suportate de acest parametru în

timpul procesului de fermentare acetică a vinului alb cu diferite cantități de cultură starter, care a variat de la 10% până la 50% maia din oțet din vin alb obținut din soiul Noah.

În baza datelor reprezentate în figura 4.13 se poate menționa că valoarea densității depinde de cantitatea bacteriilor acetice din probele analizate.

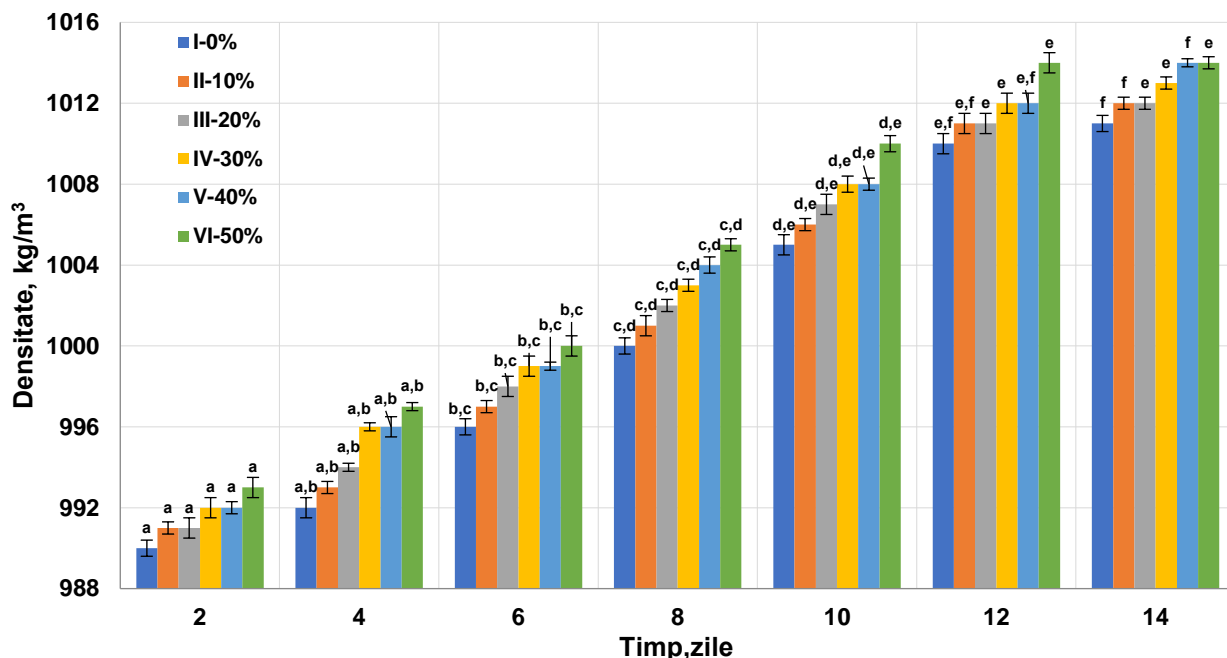


Fig. 4.13. Evoluția densității probelor cu diferite cantități de maia (oțet din vin alb nefiltrat) pe parcursul fermentării acetice. Litere diferite a-f indică diferențe semnificative între eșantioane ($p < 0,05$).

În baza rezultatelor prezentate mai sus putem afirma că odată cu mărirea timpului crește și densitatea soluției, ceea ce demonstrează că fermentarea are loc. Astfel, timp de 14 zile, în soluțiile cu maia în cantitate de 30, 40, 50% a avut loc procesul de fermentare acetică, obținându-se oțet, care și-a menținut valorile de 1014 kg/m^3 timp de 3 zile consecutiv.

Analizând proba cu 50% maia, se poate afirma că în prima zi deține valoarea densității 993 kg/m^3 și ulterior la 12 zi crește treptat până la 1014 kg/m^3 . În proba cu 40% maia se manifestă o fermentare lentă, dar sigură a bacteriilor acetice, densitatea inițială este de 992 kg/m^3 și spre final ajunge la aceeași valoare de 1014 kg/m^3 . Pe parcursul procesului de fermentare se observă o creștere a densității cu 2,32%, ceea ce demonstrează finalizarea procesului de fermentare și atingerea valorii recomandate pentru produsul obținut - oțet.

Procesul de fermentare a oțetului din vin este influențat de durata de contact a produsului cu cantitatea de bacterii acetice adăugate.

S-a cercetat modificarea pH al oțetului din vin în urma procesului de fermentare acetică cu adăugarea a diferitor cantități (0%, 10%, 20%, 30%, 40% și 50%) de oțet nefiltrat în calitate de maia.

Probele au fost menținute la temperatura constantă de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ pentru o perioadă de 14 zile. Datele experimentale sunt reprezentate în figura 4.14.

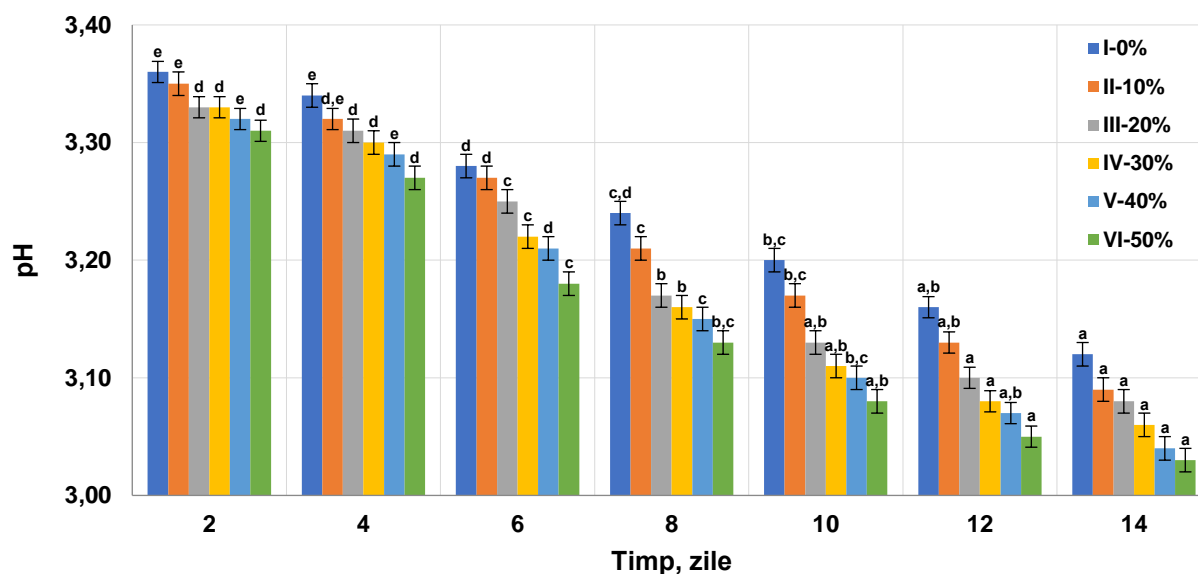


Fig. 4.14. Evoluția pH probelor cu diferite cantități de maia (oțet din vin alb nefiltrat) pe parcursul fermentării acetice. Litere diferite a-e indică diferențe semnificative între eșantioane ($p < 0,05$).

Analizând datele din figura 4.14, se constată că în dependență de durata de contact a vinului cu maia valoarea pH scade datorită procesului de fermentare, care transformă soluția în oțet.

Valoarea pH scade odată cu realizarea procesului de fermentare acetică. Astfel, în proba I această scădere are loc treptat de la 3,36 până la 3,12 pe parcursul celor 14 zile. Această scădere se observă în toate probele supuse analizei. Așadar, se poate afirma că mediul acid persistă în toate cele 6 probe analizate. Scăderea valorii pH depinde atât de cantitatea de maia din fiecare probe analizate, cât și de timpul destinat realizării procesului de fermentare.

Aciditatea totală reprezintă un indicator primordial, care indică parcurgerea sau finalizarea procesului de fermentare acetică a oțetului. Conținutul de acid acetic este indicatorul în baza căruia standardele internaționale disting calitatea oțetului. Deoarece procesul de fermentare se realizează în dependență de cantitatea de maia utilizată, aceasta este responsabilă de valoarea acidității totale finale.

În baza datelor expuse în figura 4.15 putem afirma că valoarea acidității totale depinde de timpul procesului de fermentare acetică și cantitatea bacteriilor acetice din fiecare probă.

Evoluția AT a probelor cu diferite conținut de maia din oțet nefiltrat a fost evaluată pe parcursul a 14 zile, iar valoarea finală s-a stabilit în momentul în care nu s-a mai înregistrat nici o modificare timp de 3 zile.

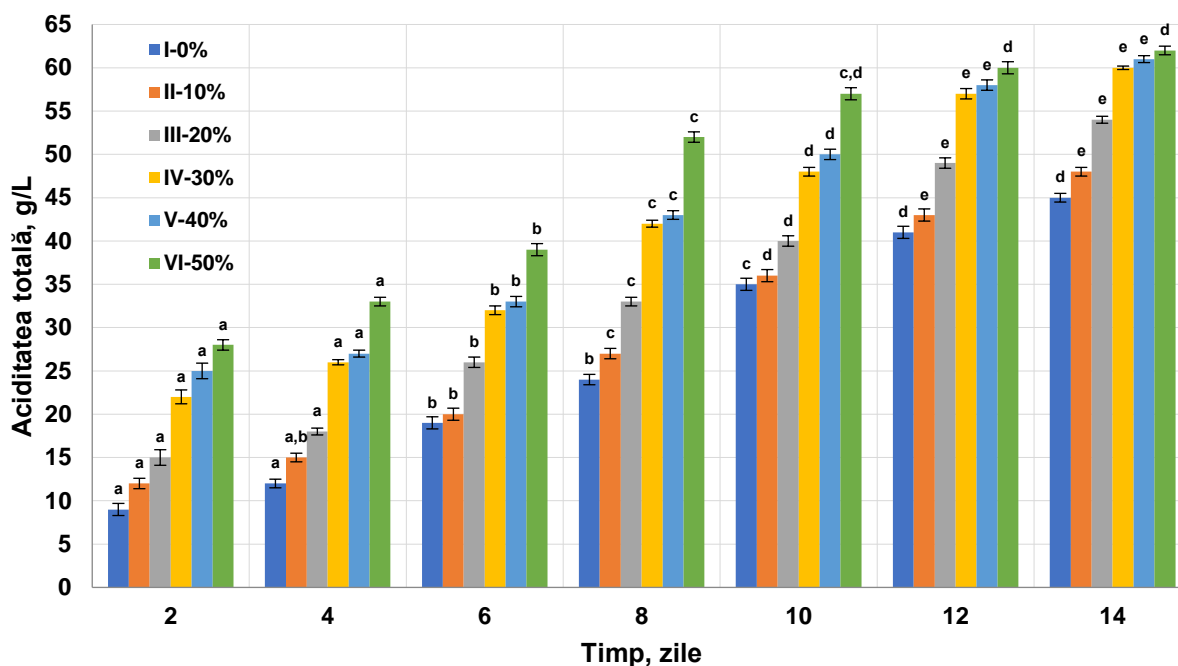


Fig. 4.15. Evoluția AT a probelor cu diferite cantități de maia (oțet din vin alb nefiltrat) pe parcursul fermentării acetică. Litere diferite a-e indică diferențe semnificative între eșantioane ($p < 0,05$).

Din figura 4.15 se observă că proba martor (fără adăugarea de maia) aciditatea totală minimală nu a fost atinsă pe parcursul fermentării a 14 zile. Aciditatea totală de 60g/L (minimă necesară pentru oțet) a fost atinsă în proba cu 50% maia în 12-a zi, iar în probele cu 30 și 40% maia a fost atinsă în a 14-a zi. Aceasta confirmă că oțetul studiat are o valoare medie de acid acetic și poate fi utilizat în industria alimentară, conform documentelor normative [56-58].

Astfel, putem concluziona că atât în proba cu un conținut ridicat de acid acetic, cât și în cea cu un conținut scăzut a avut loc procesul de fermentare acetică calitativă cu atingerea valorii minime de acid acetic de 60 g/L a avut loc la probele la adăugarea maisei cu 30, 40 și 50%.

În alte lucrări s-a determinat o valoare mai mare a acidității oțetului din vin, care era cuprinsă între 59,4-92,0g/L [128, 133, 160]. Astfel, putem concluziona că aciditatea oțetului din vin poate avea tendința de creștere, în cazul în care mai există bacterii acetice viabile și alcool, dar această creștere decurge foarte lent.

4.4.4. Influența diferitor tipuri de substrat

Este cunoscut faptul că mobilizarea bacteriilor acetice pe substrat din rumeguș, așchii sau alte suprafețe este o tehnică eficientă pentru obținerea oțetului. Această metodă accelerează fermentarea acetică prin mărirea suprafeței de contact a produsului cu bacteriile acetice, micșorând perioada de obținere a produsului finit [164].

Etapele de pregătire a substratului

Utilizarea diverselor materiale de substrat, cu excepția tescovinei, a fost supusă prelucrării primare care a constat în următoarele:





1. Spălarea sub jet de apă la temperatura $80\pm 1^{\circ}\text{C}$, timp de 10 minute.
2. Uscarea în etuvă la temperatura $32\pm 1^{\circ}\text{C}$, 48 de ore.
3. Maturarea cu maia (oțet din vin alb nefiltrat) timp de 72 de ore, în raport de 1:4.

Tescovina a fost supusă procedurii de uscare în etuvă la $32\pm 1^{\circ}\text{C}$, timp de 5-6 zile până când nivelul umidității a atins cota de $9\pm 1\%$. Apoi a fost supusă procesului de maturare prezentat mai sus în punctul 3.

Determinarea pierderilor în timpul macerării substratului

Substratul a fost introdus în maia, care a constat din oțet netratat OVAI în raport de 1:4 (50 g de substrat și 200 mL de maia). Probele au fost menținute timp de 72 h, la temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$. Aceasta a fost necesar pentru fixarea bacteriilor acetice pe substrat. Evoluția volumului probelor cu diferite substraturi este reflectată în tabelul 4.7.

Tabelul 4.7. Evoluția volumului probelor cu diferite substraturi

Tipul de substrat	Volumul ingredientelor	Volumul total inițial, mL	Volumul după 72 h, mL	Diferența volumului, mL	Imagine
Coajă de nucă	200 mL maia și 50 g coajă	250	$234,30\pm 1,33$	$-15,60\pm 0,86$	
Coajă de alune	200 mL maia și 50 g coajă	250	$234,33\pm 0,67$	$-15,66\pm 0,34$	
Așchii de măr	200 mL maia și 50 g de așchii	250	$240,16\pm 0,83$	$-9,83\pm 0,53$	
Tescovina Muscat	200 mL maia și 50 g de tescovina	250	$255,13\pm 0,24$	$+5,13\pm 0,24$	


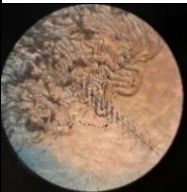
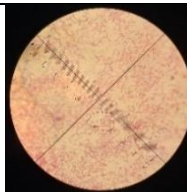


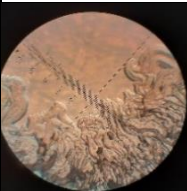
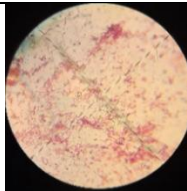

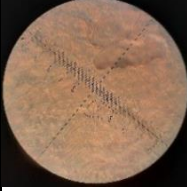
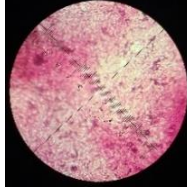
**Elaborat de autor, iar rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard.*

Din tabelul 4.7 se observă că volumul oțetului cu coaja de nucă și de alune a scăzut cu 16 mL, iar la așchiile de măr doar cu 10 mL. Această diferență se datorează proprietăților de absorbție ale cojii. În cazul substratului din tescovină, rezultatul a fost opus, după 72 ore acest volum s-a mărit cu 5 mL. Faptul se datorează conținutului în compoziția acestuia a celulozei și fibrelor solubile.

Determinarea cantității de bacterii plantate pe substrat

Scopul cercetării științifice a fost de a investiga numărul de bacterii acetice din maiaua utilizată, înainte și după macerare, pentru a confirma necesitatea plantării și dezvoltarea acestora pe substrat. Au fost încercată posibilitatea utilizării așchiilor de lemn de măr, care sunt cunoscute ca un substrat eficient pentru dezvoltarea bacteriilor acetice. Ele au fost macerate în maia timp de 72 de ore, în raport de 1:4. După scurgerea oțetului (maia) a fost efectuată însămânțarea directă prin introducerea acestora pe mediul de cultură Agar. Termostatarea probelor a avut loc la temperatura de $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ timp de 72 ore. Coloniile au fost cercetate prin microscopie, determinate proprietățile lor culturale și morfologice ce sunt reflectate în tabelul 4.8.

Tabelul 4.8. Numărul de bacterii acetice plantate pe substrat

Mediu	Sursă/ volum, mL	Aspectul coloniilor	Num. de bacterii	Proprietăți culturale	Aspectul marginii coloniei	Imagine microscopică a bacteriilor acetice	Proprietăți culturale
Agar	Oțet inițial / 0.1 mL	 Placa Petri	2-1,2×10	Profil - plat cu elemente pulviante Culoare - albă Margini - ondulate Formă - neregulată Luciu - fără Mărime - mare Transparență – translucid	 Aspectul microscopic, mărirea x40	 Aspectul microscopic, mărirea x100	Formă neregulată cu ax circular. Profil plat cu elemente pulviante. Bastonașe poliforme asporogene, aranjate asistematic.
	Oțet inițial / 1.0 mL	 Placa Petri	0	Lipsă de creștere microbiană	-	-	-
	Oțet după macerare/ 0.1 mL	 Placa Petri	1-1,2×10	Profil - plat Culoare - albă Margini - ondulate Formă - neregulată Luciu - fără Transparență – translucid	 Aspectul microscopic, mărirea x40	 Aspectul microscopic, mărirea x100	Formă neregulată cu ax circular. Profil plat cu elemente pulviante. Bastonașe asporogene.
	Oțet după macerare / 1.0 mL	 Placa Petri	1-1,2×10	Profil - plat Culoare - alb-gălbuie Margini - ondulate Formă - ax circular Luciu - fără Transparență - translucid	 Aspectul microscopic, mărirea x40	 Aspectul microscopic, mărirea x100	Forma coloniilor neregulată. Profil pat. Marginea cu elemente ondulate.

Conform datelor din tabelul 4.8, se observă o creștere a numărului de bacterii acetice în oțet maia după macerarea în substrat timp de 72 de ore. Se confirmă faptul că după plasarea pe suprafața substratului, bacteriile acetice să dezvoltă intens și peste 3 zile numărul lor este mai mare comparativ cu cantitatea inițială. S-a confirmat că bacteriile acetice care se află în cantități nesemnificative în oțetul deja fermentat, găsind zone potrivite pentru existență, și fixându-se pe substrat încep repede să se dezvolte. Hutchinson și colab; Garg și colab; Kocher și colab; confirmă acest fapt [165 - 167].

Monitorizarea acidității totale

Deoarece procesul de fermentare acetică are loc lent, scopul utilizării substratului este de a mări viteza fermentării acetice. În baza rezultatelor expuse în figura 4.16 se observă că valoarea acidității totale minim admisibilă pentru oțetul de vin (60 g/L), menționată în documentele normative, a fost atinsă în toate probele cu substrat.

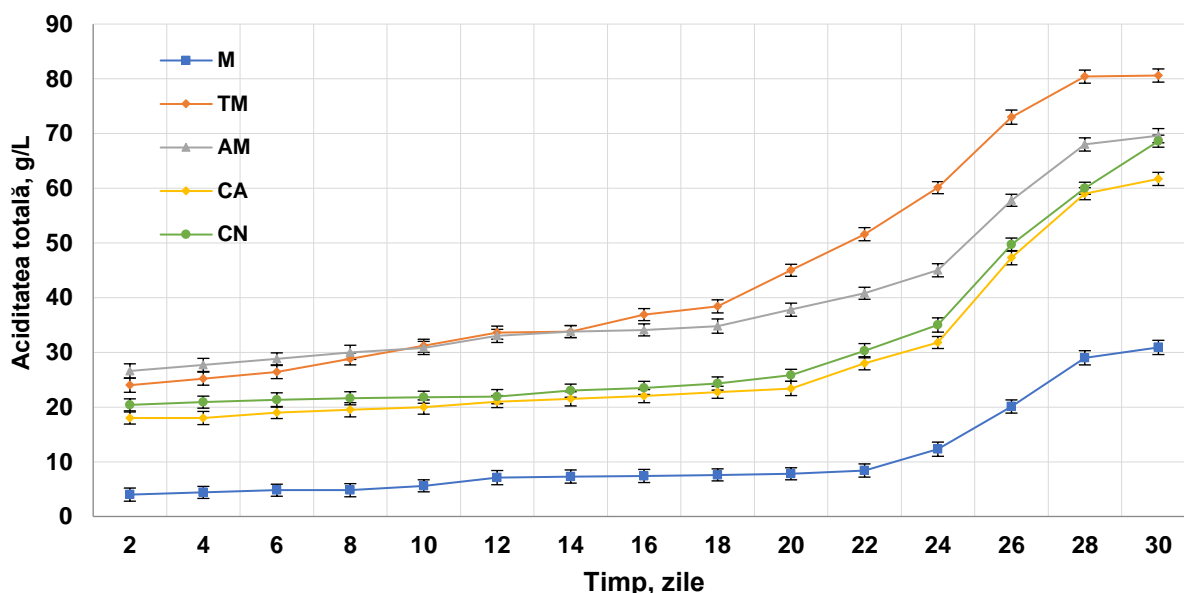


Fig. 4.16. Evoluția AT a probelor cu substrat: M - fără substrat, martor; TM - tescovină de muscat; AM - așchii din lemn de măr; CN - coajă de nucă; CA - coajă de alune. Rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard; $p \leq 0,05$

În baza datelor din figura 4.16 se constată că substratul joacă un rol semnificativ în procesul de fermentare acetică. Astfel, în proba cu așchii de lemn de măr acest proces evoluează mai rapid, deoarece comparativ cu celelalte probe, structura așchiilor permite o mai bună aderare a bacteriilor acetice pe suprafața lor, mărind probabilitatea de obținere a oțetului într-un timp mai scurt. Dar cea mai mare diferență între valoarea inițială și cea finală se observă la proba cu substrat din

tescovină de muscat. Se presupune ca în afară de suprafață, bacteriile au nevoie și de substanțe nutritive, care se găsesc în tescovină.

După 30 de zile de fermentare acetică s-a constatat următoarele:

- 1) În proba fără substrat M - AT 30,9 g/L; observăm că aciditate totală menționată în documentele normative, minim necesară de 60 g/L, nu a fost atinsă.
- 2) În proba TM - AT 80,6 g/L; s-a obținut cu 20g/L de acid acetic mai mult decât în prevederile normative, și cu 49,7 g/L mai mult în comparație cu martorul.
- 3) În proba AM - AT 69,6 g/L; ceea ce constituie cu 9,6 g/L mai mult decât necesarul minim.
- 4) În proba CA - AT 61,7 g/L; ceea ce constituie cu 1,7 g/L mai mult decât necesarul minim.
- 5) În proba CN - AT 68,6 g/L; ceea ce constituie cu 8,6 g/L mai mult decât necesarul minim.

Utilizarea substratelor au sporit mărirea acidității totale a oțetului obținut de circa 2 ori timp de 30 zile. Este de menționat faptul că coaja de nucă în egală măsură ca și așchiile de măr au influențat pozitiv acumularea acidului acetic în produsul finit.

Monitorizarea valorii pH

S-a determinat dinamica modificării valorii pH a vinului alb în dependență de tipul de substrat utilizat. Valoarea pH diferă de la o probă la alta, în funcție de tipul substratului utilizat în vinul alb. Rezultatele obținute sunt reprezentate în figura 4.17.

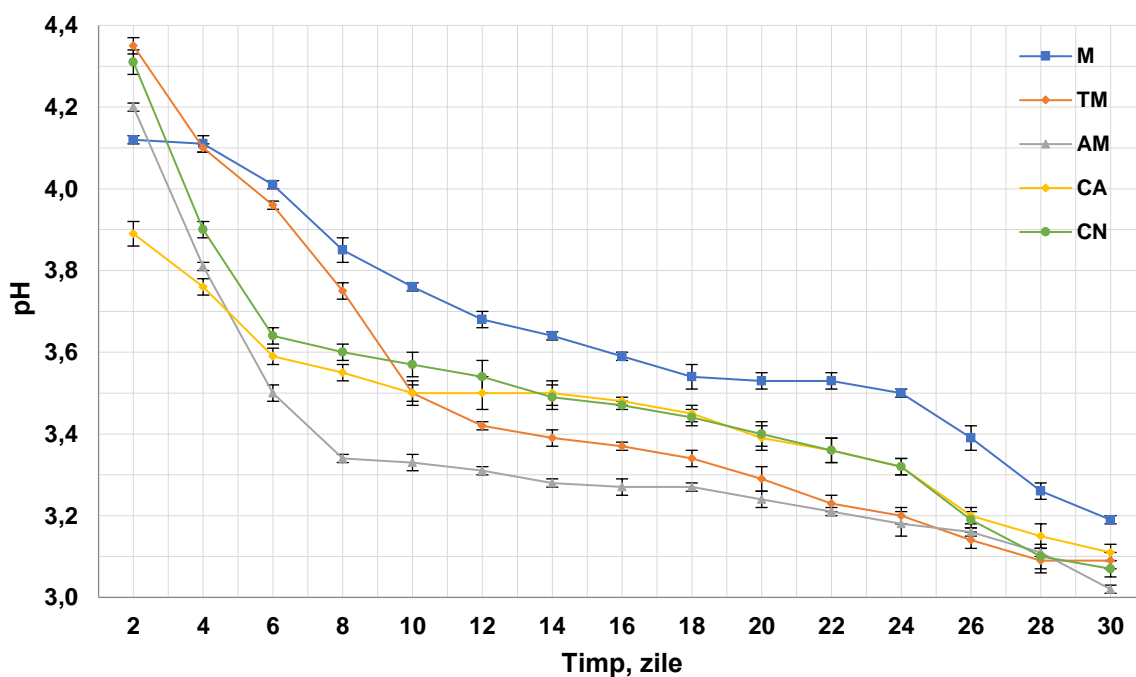


Fig. 4.17. Evoluția pH probelor cu substrat. Rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard; $p \leq 0,05$

În baza datelor experimentale expuse în figura 4.17 se poate afirma că odată cu creșterea AT, pH scade treptat timp de o lună. Deci, putem concluziona că substratul influențează procesul de fermentare acetică și obținerea oțeturilor din vin alb. Cea mai mare scăderea a pH se observă la proba cu substrat din așchii de măr, care la finele lunii a atins valoarea de 3,01, ceea ce este cu 40% mai mic comparativ cu valoarea inițială. Cea mai lentă modificare a valorii pH se observă la proba fără substrat, în timp de 30 de zile scăzând numai cu 29% comparativ cu valoarea inițială.

Monitorizarea densității

Densitatea este caracteristica fizico-chimică a oțetului din vin care nu trebuie să suporte modificări substanțiale. Astfel, în timpul procesului de fermentare a vinului alb, în dependență de tipul substratului, s-a propus studierea modificării acestui parametru, determinat cu ajutorul densimetrului [168]. Rezultatele sunt reprezentate în figura 4.18.

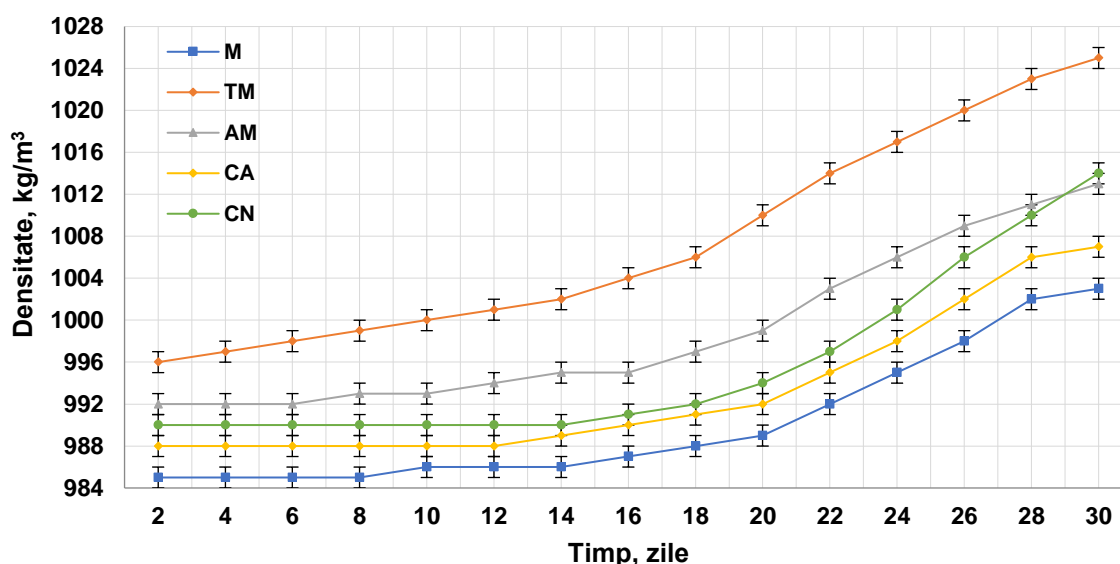


Fig. 4.18. Evoluția densității probelor cu substrat. Rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard; $p \leq 0,05$

Conform datelor din figura 4.18, se observă o creștere a densității pe parcursul procesului de fermentare acetică. Cea mai mare creștere a valorii densității se observă la proba cu substrat din tescovină de Muscat - TM, care la finele lunii a atins valoarea de 1025 kg/m³, ceea ce este cu 29 de unități mai mic comparativ cu valoarea inițială. Apoi urmează proba cu coajă de nucă - CN, a cărei densitate a crescut timp de o luna cu 24 de puncte, cu o mică deferență urmând proba cu substratul cu așchii de măr - AM și proba cu coajă de alune - CA. La fel, cea mai lentă modificare a valorii densității se observă la proba fără substrat. Timp de o lună de fermentare densitatea a scăzut numai cu 18 puncte comparativ cu valoarea inițială. Aceste rezultate demonstrează că prezența substratului are importanță semnificativă în procesul de fermentare a oțetului.

Influența substratului asupra aspectului cromatic ale oțetului

Culoarea oțetului este o caracteristică foarte importantă care influențează alegerea consumatorului. Luând în considerare influența substanțelor extractive din substratul utilizat, s-a determinat culoarea probelor înainte și după fermentarea acetică. Conform parametrilor cromatici inserați în tabelul 4.9, se observă o modificare a culorii în urma procesului de fermentare. Datele obținute indică modificarea intensității culorii (Ic) și a nuanței (Nc) la toate probele, dar cea mai mare modificare Ic are loc la proba CN, care a crescut de 30 ori în comparație cu martorul. La finele perioadei de fermentare Nc o avut valoarea maximală de 2,59 la proba cu așchii de măr.

Tabelul 4.9. Parametrii cromatici ai probelor cu diferite tipuri de substrat*

Proba	L*	a*	b*	ΔE^*	C*	H°	Ic	Nc
<i>M</i>	17,07±0,10	6,55±0,12	10,57±0,15	-	12,43±0,05	58,21±0,11	0,69±0,07	1,96±0,10
<i>TM</i>	18,83±0,05	7,29±0,01	11,61±0,04	2,17±0,04	13,71±0,01	57,88±0,13	1,48±0,20	1,94±0,18
<i>AM</i>	30,51±0,04	6,54±0,02	29,79±0,04	23,45±0,03	29,60±0,01	77,24±0,08	1,67±0,53	2,59±0,46
<i>CA</i>	40,45±0,03	-0,56±0,05	16,55±0,04	25,15±0,02	16,56±0,02	91,94±0,05	1,55±0,36	1,65±0,67
<i>CN</i>	37,51±0,31	2,69±0,02	27,64±0,10	26,90±0,23	27,77±0,01	84,44±0,14	20,70±0,29	1,68±0,32

*Rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard; $p \leq 0,05$.

Datele din tabelul 4.9 au demonstrat că în probele AM, CA și CN valorile luminozității sunt cele mai ridicate, 30,51, 40,45 și 37,51 în care predomină culoarea albă, iar în cazul probelor M și TM valorile L* sunt mai mici, constituind 17,07 și 18,83 respectiv. Reprezentarea culorilor probelor de oțet obținut conform sistemului CIELab atestă că predomină tonalitatea culorii galbene (figura 4.19). Datele pentru parametrul a* la majoritatea probelor sunt pozitive, ceea ce denotă prezența pigmentelor de culoare roșie. În cazul probei CA, componenta a* a fost deplasată spre culoarea verde. Valoarea a* negativă -0,56 indică prezența nesemnificativă a pigmentilor de culoare verde (clorofilă).

Rezultatele indică cea mai mare modificare în proba cu coajă de nucă în raport cu martorul, unde valoarea L* crește de circa 2 ori, componenta a* își modifică valorile de la 6,55 la 2,69, iar valoarea b* se dublează. Valoarea ΔE^* demonstrează modificarea pentru proba TM a culorii este neînsemnată în raport cu martorul (2,17). În proba CN valoarea ΔE^* denotă modificări importante a culorii (26,90).

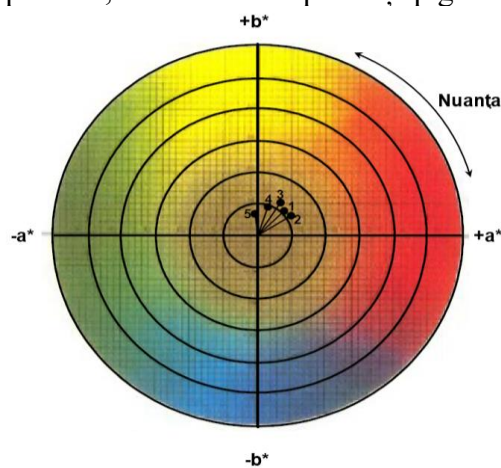


Fig. 4.19. Reprezentarea culorilor probelor conform sistemului CIELab: 1- M; 2-TM; 3-AM; 4- CA; 5- CN

De asemenea, probele AM și CN au culoarea mai intensă, deoarece valorile cromaticității C* se află mai departe de originea sistemului de coordonate, constituind 29,60 și 27,77. În cazul probelor M, TM și CA, valorile C* sunt 12,43, 13,71 și 16,56 respectiv, demonstrând că intensitatea culorii este redusă din cauza prezenței nuanțelor de culoare gri. Valorile unghiului de nuanțe H* denotă că probele M și TM se află în cadranul I trigonometric (58,21° și 57,88°), în care predomină culoarea portocalie, iar probele AM, CA și CN sunt în cadranul II trigonometric, valorile fiind 77,24°, 91,94° și 84,44° respectiv, în care culoarea galbenă este dominantă (figura 4.19).

Cerezo și colab. au demonstrat că compușii organici din diferite tipuri de lemn sunt utili pentru accelerarea intensificării culorii în timpul procesului de fermentare acetică [169].

Culoarea oțetului este foarte importantă nu numai sub aspect comercial, dar și pentru utilizare în gastronomie. Astfel, putem afirma că în timpul procesului de fermentare acetică substratul adăugat în probe a contribuit benefic la accentuarea și conturarea culorii produsului, oferindu-i un aspect nou și, totodată, comercial [170].

4.5. Finisarea oțetului cu diferiți agenți de limpezire

În continuare, a fost studiat procesul de limpezire a oțeturilor cu diferite tipuri de agenți de limpezire. După fermentarea acetică oțeturile rămân în mod natural tulburi. Oțeturile nesupuse procesului de limpezire se pot tulbura în timp datorată unor compuși chimici care se pot modifica în funcție de mai mulți factori. Oțetul limpezit evoluează normal și își menține calitatea constantă timp îndelungat, având un buchet și aromă mai fină în comparație cu cel tulbure [171, 172].

4.5.1. Parametrii fizico-chimici ai oțetului din vin alb nefiltrat

Parametrii fizico-chimici ai oțetului elaborat au fost caracterizați prin determinarea pH, conținutului de alcool rezidual, acidității totale expuse în tabelul 4.10.

Tabelul 4.10. Parametrii fizico-chimici a oțetului din vin alb*

Nr. d/o	Parametrii fizico-chimici	Valorile
1	pH la T=25 °C	2,89±0,25
2	Aciditatea totală, g/L	60,2±0,5
3	Alcool rezidual, %vol.	1,1±0,3

**Elaborat de autor, iar rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard.*

În urma determinărilor s-a constatat că după finalizarea procesului de fermentare acetică oțetul din vin alb are conținutul de acid acetic de 60,2 g/L, astfel el poate fi utilizat în industria alimentară, fiind în conformitate cu SM și GOST [57, 58]. Serratrice și colab. menționează că aciditatea oțetului din vin poate avea tendințe de creștere în cazul în care există bacterii acetice

viabile, dar această creștere este foarte lentă [173]. Valoarea pH obținut de 2,89 arată că mediul acid al oțetului din vin alb se datorează acidului acetic, care are proprietatea de a elibera atomul de hidrogen din gruparea carboxil - COOH sub formă de proton H^+ [174]. Alcoolul rezidual în oțetul din vin, în conformitate cu normele Hotărârii de Guvern nr. 1403, trebuie să nu depășească cantitativ 1%, dar conform standardului moldovenesc SM SR EN 13188:2012, pentru oțetul din vin această valoare este de 1,5% [56, 57]. Astfel, cantitatea alcoolului rezidual în oțetul din vin alb obținut a fost de 1,1%, ceea ce denotă că depășește neesențial normele admisibile din HG nr.1403 [56], dar se încadrează în parametrii stabiliți de standardul moldovenesc SM SR EN 13188:2012 [57].

4.5.2. Parametrii fizico-chimici ai agenților de limpezire

În cadrul cercetării procesului de limpezire a oțetului din vin nefiltrat au fost utilizate patru tipuri de agenți de limpezire de la diferiți producători, care au fost descrise în capitol 2, tabelul 2.5. Au fost realizate următoarele determinări ale agenților de limpezire: pH, porozitatea, umiditatea, densitatea și indicele de gonflare. Indicii fizico-chimici ai sorbenților au fost determinați în conformitate cu documentul normativ OCT-18-49-71 [175].

Valoarea pH a fost determinată cu scopul precizării caracterului bazic sau acid al soluțiilor agenților de limpezire, iar rezultatele sunt expuse în figura 4.20.

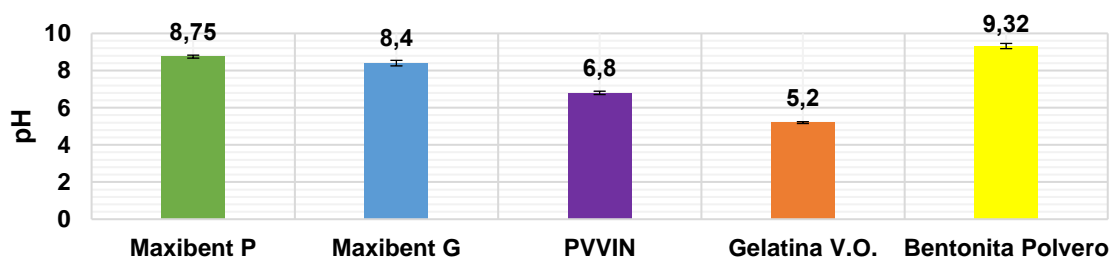


Fig. 4.20. Valoarea pH suspensiilor agenților de limpezire la temperatura $18\pm 2^{\circ}C$

Valorile obținute ale pH de 9,32, 8,75 și 8,4 denotă că suspensiile bentonitei au mediu bazic, ceea ce indică prezența silicaților, carbonaților sau bicarbonaților în compoziția lor. PVVIN și Gelatina V.O. au demonstrat un pH scăzut de 6,8 și 5,2, ceea ce denotă că aceștia au un mediu slab acid datorită prezenței grupărilor acide (carboxil).

Porozitatea reprezintă o proprietate fizică a agenților de limpezire, cum ar fi: permeabilitatea, proprietatea de adsorbție și altele. Prin porozitate se înțelege volumul spațiilor umplute de alcoolul metilic, exprimat în procente de oxigen. Bentonitele, ca orice argilă, constituie un sistem format din trei componente: schelet mineral, apă și aer. Particulele minerale ale bentonitelor ocupă doar o parte din volum (55-68%), restul volumului este ocupat de porii umpluți cu apă și o cantitate mică de aer (2%) [171].

Distribuția porilor în bentonite are diferite aspecte, ceea ce se observă în figura 4.21.

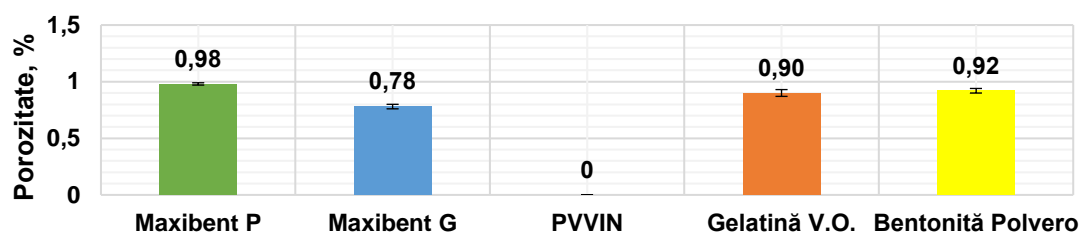


Fig. 4.21. Valoarea indicelui de porozitate al agenților de limpezire

Rezultatele obținute denotă că agenții de limpezire utilizați au valorile indicilor de porozitate care variază de la 0 până la 0,98%. Astfel, bentonita Maxibent P, Bentonita Polvero și Gelatină V.O. s-au caracterizat prin cele mai ridicate valori a indicelui de porozitate 0,98%, 0,92% și 0,90% respectiv.

Conținutul de umiditate a fost determinat conform metodei nr.22, iar rezultatele sunt expuse în tabelul 2.6. Scopul principal a fost determinarea procentuală a umidității agenților de limpezire înainte de utilizare și determinarea capacității lor de absorbție a umidității pe parcursul păstrării. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 4.11.

Tabelul 4.11. Conținutul de umiditate agenților de limpezire*

Nr. d/o	Denumirea probelor	Umiditatea produsului, %
1	Maxibent P	9,0±0,7
2	Maxibent G	11,9±0,4
3	PVVIN	0±0
4	Gelatina Vinigel Oro	10,9±0,1
5	Bentonită Polvero	8,3±0,9

*Elaborat de autor, iar rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard, $p \leq 0,05$.

Valorile cele mai mari ale umidității au prezentat probele Maxibent G (11,9%) și Gelatina Vinigel Oro (10,9%). Valorile obținute denotă că ele au cele mai mari valori ale higroscopicității.

Valorile densității au fost determinate conform metodei nr.23 din tabelul 2.6, densitatea fiind raportul dintre masa și volumul agenților de limpezire. Rezultatele din tabelul 4.12 demonstrează că cea mai mică valoare a densității are PVVIN (216 kg/m³).

Tabelul 4.12. Valorile densității agenților de limpezire*

Nr. d/o	Denumirea probelor	Masa, g	Volumul ocupat de 5 g de produs, cm ³	ρ , kg/m ³
1	Maxibent P	1,966±0,002	2,9±0,1	677±3
2	Maxibent G	2,260±0,003	2,9±0,2	779±5
3	PVVIN	0,649±0,005	3,0±0,1	216±1
4	Gelatină Vinigel Oro	1,772±0,001	2,9±0,2	611±2
5	Bentonită Polvero	2,182±0,004	3,0±0,1	727±3

*Elaborat de autor, iar rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard, $p \leq 0,05$.

Mărimea stratului de sediment format în oțetul din vin alb, după tratare cu doze egale de agenți de limpezire, este direct proporțională cu gradul de gonflare. Gonflarea calitativă nu întotdeauna este legată de capacitatea de absorbție, iar capacitatea de limpezire calitativă nu poate fi considerată indice de stabilitate durabilă a oțetului din vin tratat cu agenți de limpezire. În diagrama din figura 4.22 sunt reprezentate rezultatele determinării indicelui de gonflare după 2 și 48 de ore.

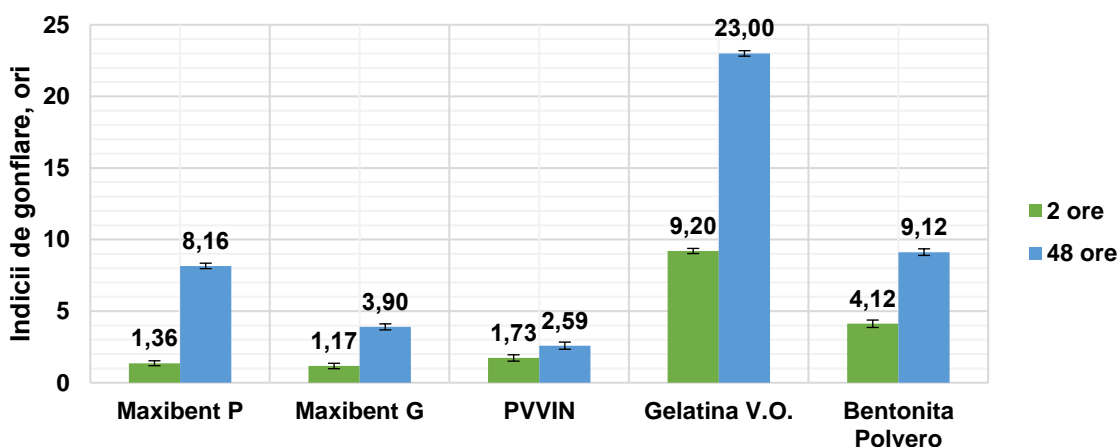


Fig. 4.22. Modificarea indicelui de gonflare după 2 și 48 ore

Rezultatele obținute denotă că probele analizate au avut valori diferite ale indicelui de gonflare. Cel mai mare indice se observă la gelatina Vinigel Oro, care după două ore s-a gonflat de 9,2 de ori, iar după 48 de ore a crescut de 23 de ori. Bentonita Polvero, a crescut de 4,12 ori după 2 ore și de 9,12 ori după 48 de ore. Umflarea se bazează pe faptul că rețeaua cristalină a probelor are capacitatea de a se extinde în prezența unui lichid.

4.5.3. Influența parametrilor tehnologici asupra calității oțetului limpezit

În cele mai multe cazuri, agentul de limpezire adsoarbe materialul suspendat și exercită o acțiune clarificatoare în virtutea formării particulelor cu densitate ridicată, crescând astfel filtrabilitatea.

Concentrațiile agenților de limpezire

Inițial a fost studiată influența concentrației agentului de limpezire. Recomandările industriale susțin că dozele de bentonită întrebuițate trebuie să se afle în limitele 30-80g/hL. Ținând cont de recomandările producătorului de utilizare ale agenților de limpezire selectați au fost utilizate concentrațiile de 1,5g/L, 2,5 g/L, 3,5g/L, 5g/L și 7,5 g/L. Totuși, aceste concentrații sunt foarte mici, de aceea pentru experimentele ulterioare au fost preparate suspensii de bentonite (prin dizolvarea acestora în apă, în raport de 1:10). Capacitatea de limpezire a diferitor agenți a

fost determinată prin citirea absorbăției la spectrofotometrul la lungimea de undă de 420 nm. În figura 4.23 sunt reprezentate rezultatele determinării concentrațiilor optime ale fiecărui agent de limpezire cercetat.

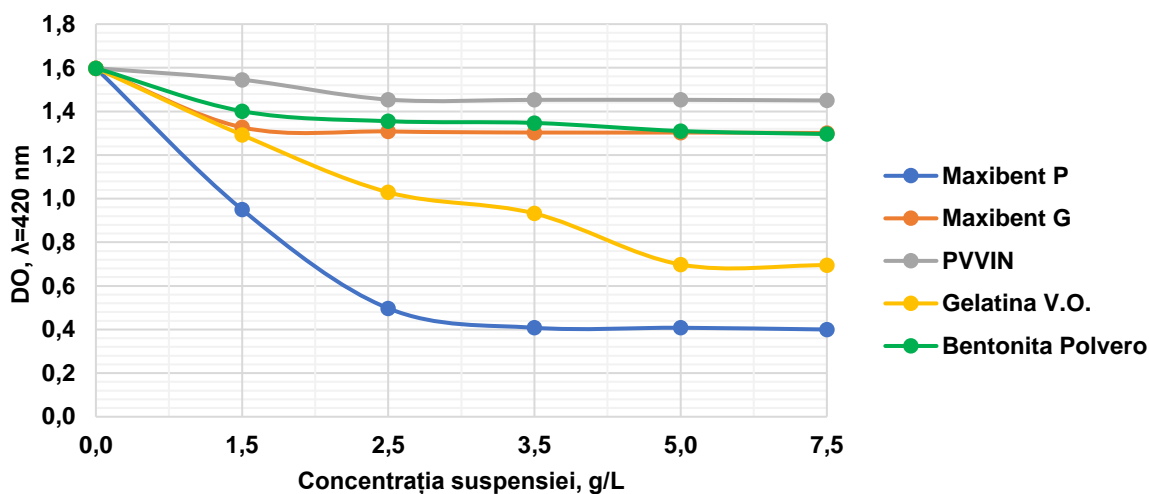


Fig. 4.23. Influența concentrației agenților de limpezire asupra densității optice a oțetului

În urma analizei acestor date se observă că pentru majoritatea agenților efectul asupra densității optice a oțetului se manifestă începând cu concentrația suspensiei de 1,5 g/L, după care absorbția continuă, dar decurge mai lent. Din datele reprezentate în figura 4.23 se observă că cele mai pronunțate efecte de limpezire asupra oțetului din vin are agentul Maxibent P, urmat de Gelatina V.O.

Pentru a determina efectul agenților selectați asupra gradului de limpezire a oțetului s-a determinat nu doar absorbăția, dar și variația a pH, a acidității și densității oțetului. E de menționat că valorile inițiale ale parametrilor sunt: pH=2,89; AT=60,2%, $\rho=1025 \text{ kg/m}^3$. În figurile 4.24 și 4.25 sunt reprezentate variațiile acestor parametri în dependență de dozele de agenți administrate.

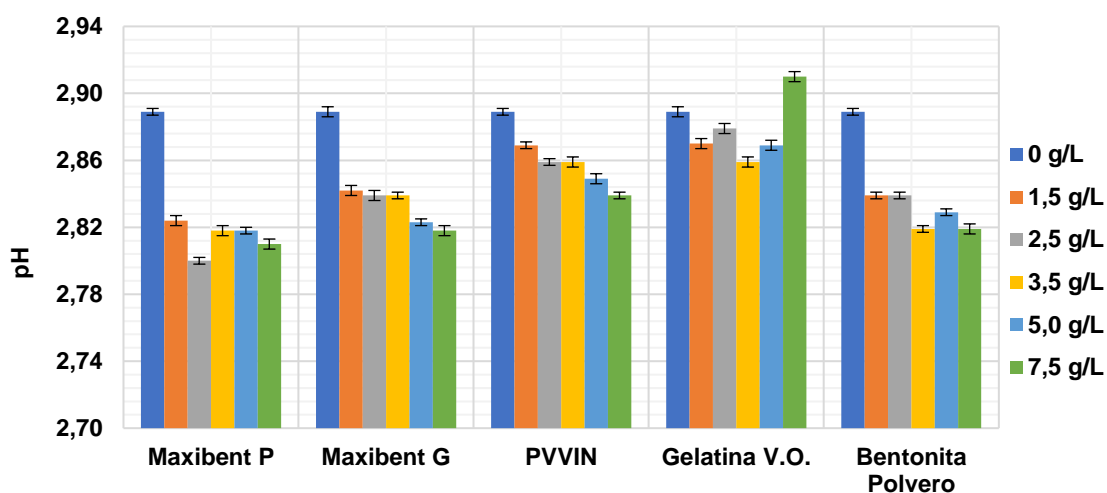


Fig. 4.24. Influența dozei agentului de limpezire asupra pH oțetului

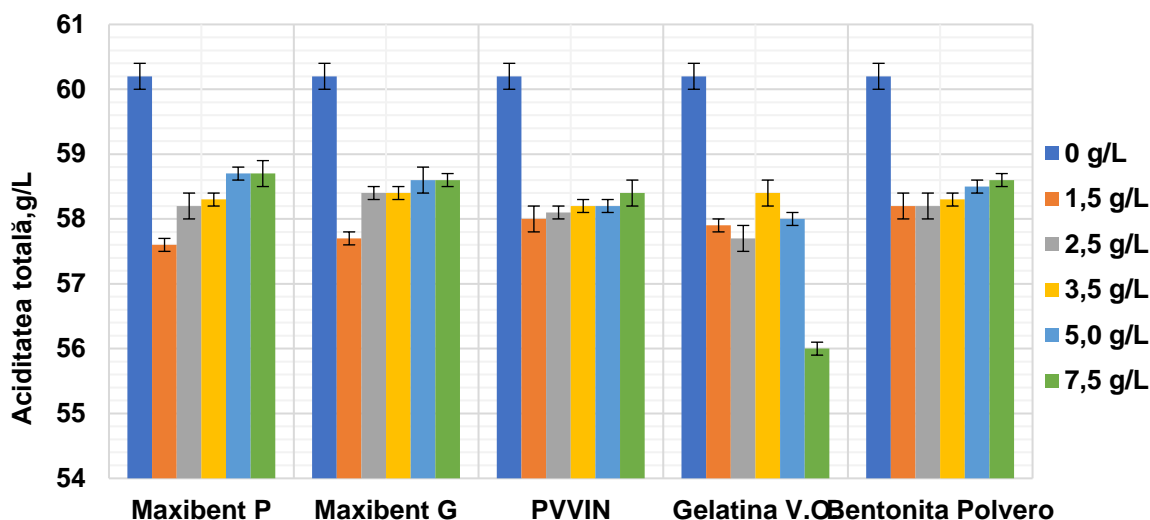


Fig. 4.25. Influența dozei agentului de limpezire asupra AT oțetului

Aciditatea totală oțetului se majorează ușor odată cu adăugarea agentului de limpezire. Creșterea acidității este standardă pentru procesele de limpezire [176]. În baza acestor date, pH al oțetului a scăzut odată cu adăugarea bentonitei.

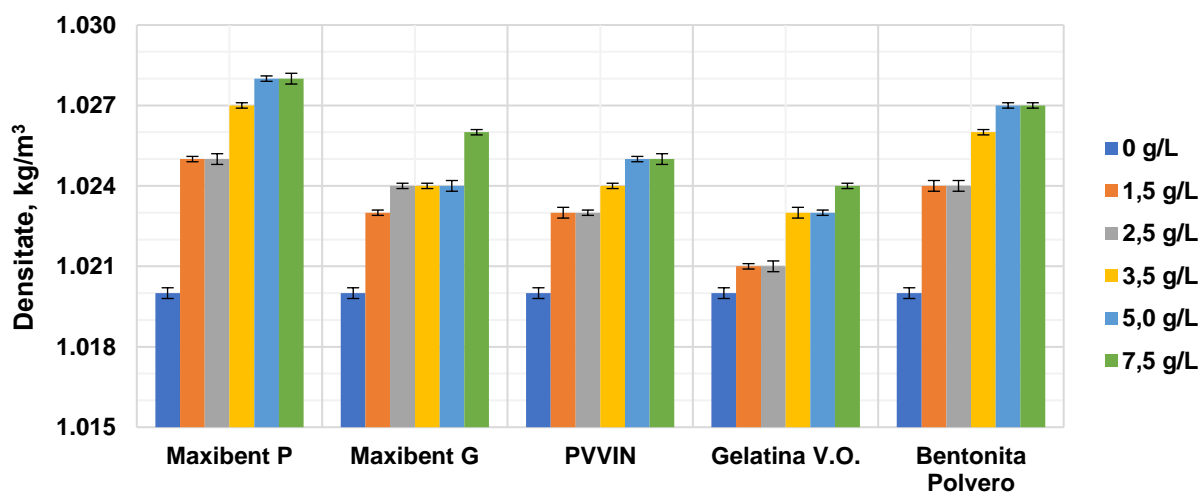


Fig. 4.26. Influența dozei agentului de limpezire asupra densității oțetului

Agenții de limpezire au efect pozitiv asupra calității fizico-chimice a oțetului. Influența acestora se manifestă prin scăderea pH, care este în relație invers proporțională cu evoluția acidității, ce are tendință de creștere. Cele mai semnificative devieri se observă odată cu utilizarea concentrațiilor mici de suspensii ale agenților selectați. O reducere esențială a pH s-a observat în cazul utilizării agentului Maxibent P. În cazul tuturor mostrelor, concentrația agentului de limpezire nu a avut o influență majoră asupra valorilor pH, reducându-se cu max. 0,08 unități în cazul utilizării Maxibent P cu concentrația de 7,5 g/L. O abatere reprezintă proba limpezită cu

Gelatină Vinigel Oro, care în cazul utilizării concentrației de 7,5 g/L a determinat creșterea pH al oțetului. Scăderea pH indică creșterea concentrației acidului acetic datorită eliminării substanțelor, de obicei, de origine proteică, din oțet. Datorită acestui fapt are loc creșterea densității oțetului reprezentată în figura 4.24. Astfel, după limpezire, densitatea oțetului crește de la valoarea inițială de 1 020 kg/m³(0 g/L agent de limpezire) la valorile 1 024 kg/m³ cu Gelatina V.O. și 1 028 kg/m³ cu Maxibent P.

Pentru cercetările ulterioare, care țin de stabilirea parametrilor tehnologici ai procesului de limpezire (temperatură, durată, regim de centrifugare etc.), au fost selectate concentrațiile agenților de limpezire: Maxibent P - 3,5g/L; Maxibent G - 2,5 g/L; PVVIN -3,5 g/L; Gelatina Vinigel Oro - 5 g/L; Bentonita Polvero - 2,5 g/L.

Temperatura

Limpezirea sau claritatea este efectuată de agentul de limpezire. Prin urmare, metoda de hidratare și adăugare a agentului are importanță majoră. În continuare, a fost cercetată influența temperaturii asupra gradului de limpezire a oțetului. Astfel, probele de oțet cu necesarul agentului de limpezire (concentrațiile optime au fost menționate mai sus) au fost plasate în spații ce au asigurat regimul de temperatură 4±2°C, 40±2°C, 20±2°C.

Pentru compararea în ansamblu a influenței regimului de temperatură aplicat în cazul utilizării agenților de limpezire, a fost construită figura 4.27.

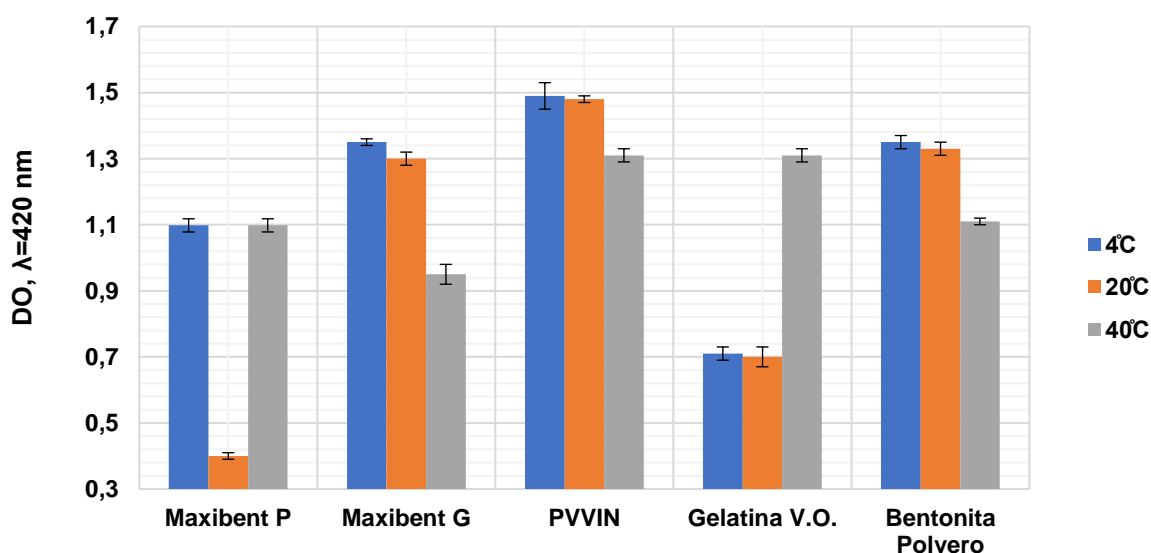


Fig. 4.27. Influența temperaturii asupra procesului de limpezire

Din analiza comparativă a datelor obținute putem menționa că cel mai bun comportament l-a manifestat suspensia agentului Maxibent P, urmată de Gelatina V. O. Suspensiile acestor agenți de limpezire au avut cele mai bune rezultate la temperatura de 20±2°C. Astfel, în ceea ce privește

aspectul economic (crearea unui anumit regim de temperatură necesită cheltuieli de energie), acești agenți de limpezire vor fi cei mai eficienți. Maxibent P și Gelatina V.O. au capacitatea de a reduce densitatea optică sub valorile lui 1, respectiv atribuind oțetului un grad mai sporit de limpiditate.

Analogic diferitor concentrații, în cazul studiului regimurilor de temperatură au fost determinate modificările proprietăților fizico-chimice ale oțetului limpezit. În tabelul 4.13. sunt inserate modificările pH, acidității și densității optice a oțetului după limpezire în dependență de regimul de temperatură aplicat.

Tabelul 4.13 Modificările pH, AT și densității oțetului după limpezire în dependență de regimul de temperatură*

Tempe- ratura	Maxibent P	Maxibent G	PVVIN	Gelatina Vinigel Oro	Bentonită Polvero Oro
Valorile pH					
4±2°C	2,83±0,02	2,85±0,01	2,88±0,01	2,83±0,02	2,87±0,03
20±2°C	2,80±0,03	2,84±0,05	2,85±0,01	2,86±0,05	2,85±0,01
40±2°C	2,85±0,01	2,83±0,01	2,82±0,02	2,87±0,04	2,83±0,05
AT, g acid acetic /L					
4±2°C	58,2±0,1	57,6±0,8	58,0±0,7	57,8±0,8	57,7±0,4
20±2°C	58,5±0,6	58,2±0,2	58,2±0,3	58,3±0,9	58,2±0,7
40±2°C	58,0±0,9	58,7±0,7	58,8±0,4	56,9±0,7	58,9±0,2
Densitate, kg/m³					
4±2°C	1021±20	1020±11	1022±20	1020±18	1021±20
20±2°C	1027±10	1024±16	1023±20	1023±11	1024±13
40±2°C	1022±16	1025±19	1026±14	1024±15	1025±17

**Elaborat de autor, iar rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard.*

Datele din tabelul 4.13 arată că temperatura nu influențează doar densitatea optică, dar are un impact și asupra următorilor parametri: pH, aciditatea totală și densitate. Astfel, ca și în cazul precedent, pH și aciditatea totală sunt în relații invers proporționale.

Cel mai optim regim de temperatură pentru Maxibent P este cel de 20±2°C. În aceste condiții s-a înregistrat cea mai mică densitate optică, un pH redus, iar valorile acidității și densității au crescut până la 58,5g/L și respectiv 1027 kg/m³. Granulele Maxibent G și-au manifestat cel mai eficient activitatea de clarificator la temperatura de 40±2°C, valorile acidității fiind de 58,7g/L, densitatea de 1025 kg/m³ și pH de 2,83. Temperatura de refrigerare are efect opus, inhibând la maxim proprietățile de clarificator. Aceleași efecte are temperatura și asupra agenților PVVIN și Bentonita Polvero.

Durata de contact dintre oțet și agentul de limpezire

Ca parametru tehnologic al procesului de limpezire a oțetului a fost selectată durata contactului oțetului cu suspensia agentului de limpezire. Mostrele de amestec al oțetului cu suspensiile au fost analizate după prima oră de contact, 2 ore, 3 ore și 24 ore. Valorile densității optice pentru perioadele date sunt reprezentate în figura 4.28.

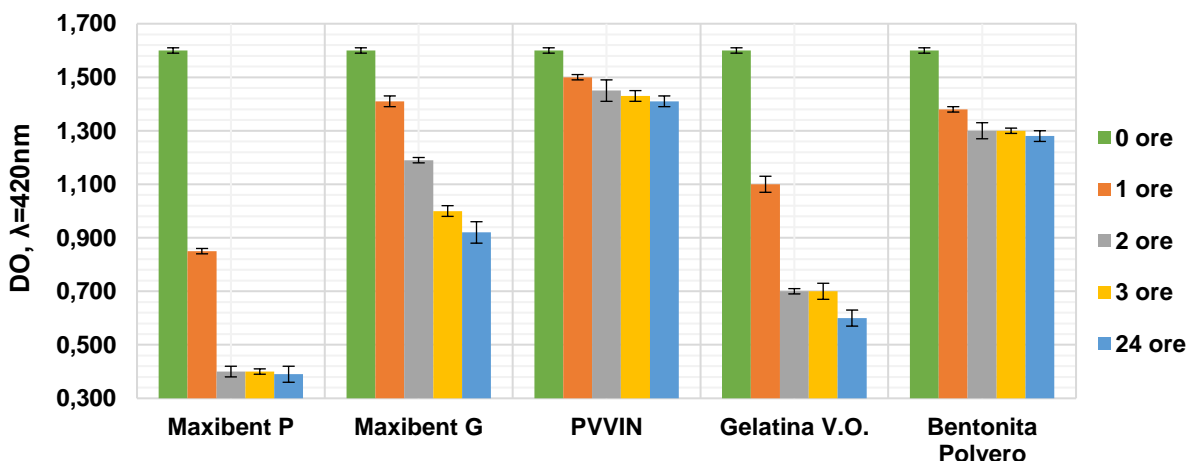


Fig. 4.28 Influența duratei de contact asupra procesului de limpezire. Rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard; $p \leq 0,05$

Datele reprezentate în figura 4.28 demonstrează că contactul dintre oțet și agentul de limpezire se manifestă în primele ore, astfel, pentru Maxibent P și Gelatina V. O., perioada optimă de contact este de 2 ore. După 2 ore densitatea optică are tendință de scădere care decurge lent. În același timp, densitatea optică a oțetului tratat cu Bentonita Polvero, Maxibent G și PVVIN s-a stabilizat după 3 ore. În toate mostrele, perioada de contact de 24 ore nu cauzează modificări esențiale în comparație cu 3 ore de contact.

Rezultatele obținute au demonstrat că cea mai bună proprietate de clarificator a manifestat-o agentul Maxibent P, la care după 2 ore absorbanta a atins valoarea de 0,400, în timp ce cu alți agenți această valoare nu a fost atinsă nici după 24 ore.

Durata de tratare

Din datele expuse mai sus concluzionăm că în perioade scurte de timp, în dependență de agentul de limpezire folosit, pot fi obținute diferite niveluri de limpiditate a oțetului. Un oțet mai limpede presupune și un grad de puritate mai mare, respectiv, o aciditate mai înaltă și densitate mai mare. Reieșind din aceste considerente, a fost determinată evoluția acestor parametri în dependență de durata tratării oțetului.

Tabelul 4.14. Modificările pH, AT și densității a oțetului după limpezire în dependență de durata procesului de limpezire*

Timp	Maxibent P	Maxibent G	PVVIN	Gelatina V Oro	Bentonită Polvero
Valorile pH					
pH inițial	2,89±0,03	2,89±0,02	2,89±0,05	2,89±0,02	2,89±0,02
1 oră	2,84±0,02	2,86±0,07	2,87±0,02	2,88±0,01	2,86±0,04
2 ore	2,80±0,06	2,84±0,02	2,85±0,07	2,86±0,03	2,85±0,01
3 ore	2,80±0,07	2,83±0,01	2,83±0,02	2,84±0,05	2,84±0,02
24 ore	2,79±0,04	2,83±0,01	2,81±0,01	2,84±0,07	2,83±0,03
AT, g acid acetic /L					
A inițială	56,2±0,8	56,2±0,2	56,2±0,9	56,2±0,8	56,2±0,5
1 oră	58,1±0,3	57,4±0,6	57,9±0,4	57,8±0,1	57,5±0,1
2 ore	58,5±0,1	58,2±0,5	58,2±0,7	58,3±0,3	58,2±0,8
3 ore	58,8±0,2	58,4±0,3	58,2±0,6	58,5±0,1	58,4±0,3
24 ore	58,8±0,4	58,5±0,1	58,3±0,3	58,6±0,8	58,5±0,9
Densitate, kg/m³					
p inițială	1020±10	1020±18	1020±12	1020±13	1020±14
1 oră	1024±16	1023±13	1021±11	1022±11	1023±19
2 ore	1027±12	1024±17	1023±11	1023±18	1024±12
3 ore	1027±13	1026±15	1025±13	1023±17	1026±11
24 ore	1027±12	1026±11	1026±15	1024±14	1026±15

*Elaborat de autor, iar rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard.

Din datele inserate în tabelul 4.14 se observă că relația dintre durata tratamentului oțetului cu agenți de limpezire și parametri fizico-chimici ai oțetului după limpezire este direct proporțională. Totuși, unii agenți au capacitate mai mare de reducere a pH sau a creșterii densității și acidității oțetului decât alții. În urma tratării oțetului cu Maxibent P s-a obținut cea mai mică valoare a pH (2,79) și, respectiv, aciditatea totală cea mai înaltă (58,8 g/L). Cele mai mici valori ale acestor parametri s-au înregistrat în cazul tratării oțetului cu PVVIN și Gelatina V. O.

Centrifugarea

În industrie, după amestecarea vinurilor sau sucurilor cu agenți de limpezire, pentru eliminarea lor prin sedimentare, se recurge la centrifugare. Procesul de centrifugare determină depunerea particulelor cu masă moleculară mare din suspensie în precipitat, respectiv utilizându-se supranatantul limpezit. În studiul dat s-a cercetat posibilitatea introducerii etapei de centrifugare în procesul de limpezire a oțetului. Mostrele de oțet amestecate cu suspensia agentului de limpezire au fost supuse centrifugării în diferite perioade de timp: 3, 4, 5 și 6 min. la frecvența de 3000 min⁻¹. În figura 4.29 este reprezentat efectul etapei de centrifugare asupra densității optice a oțetului.

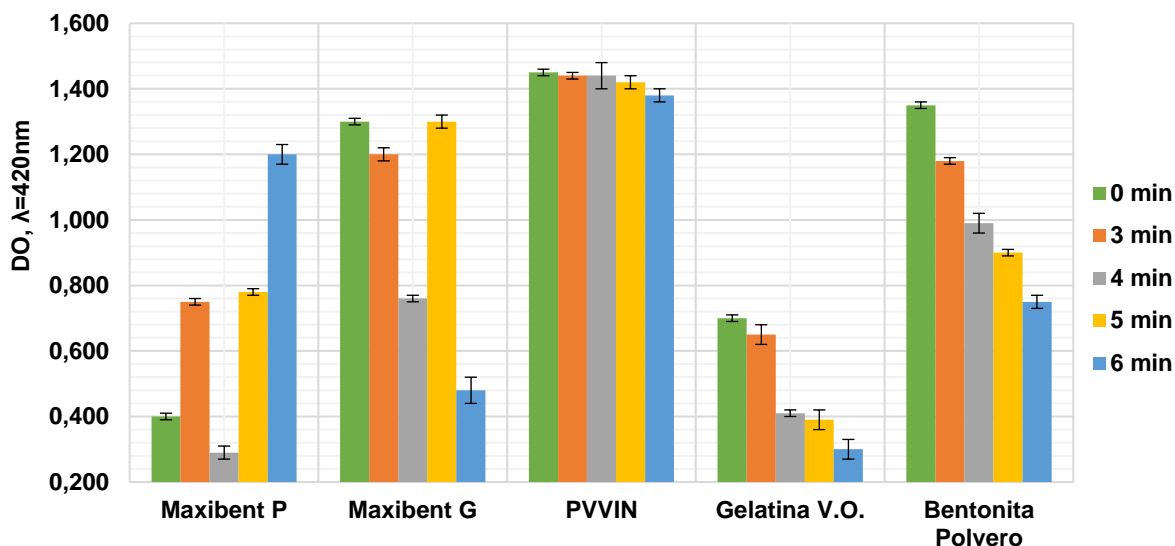


Fig. 4.29. Influența duratei procesului de centrifugare asupra densității optice a oțetului tratat cu diferiți agenți. Rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard; $p \leq 0,05$

Din datele reprezentate în figura 4.29 se poate concluziona că centrifugarea poate fi inclusă în procesul tehnologic de limpezire a oțetului, dar nu în cazul tuturor agenților de limpezire. De exemplu, pentru Maxibent P nu s-a observat nici o legătură între perioada centrifugării și densitatea optică a oțetului, acesta înregistrând valori mai înalte decât în cazul omiterii centrifugării.

În cazul celorlalți agenți de limpezire, s-a observat o relație invers proporțională între perioada centrifugării și densitatea optică. Deci, odată cu creșterea perioadei de centrifugare scade densitatea optică a oțetului, care de fapt indică creșterea nivelului de limpiditate al acestuia [176].

Toți parametrii obținuți corespund normelor HG nr.1403 [56], iar abateri nu s-au înregistrat, rezultatele fiind incluse în tabelul 4.15.

Tabelul 4.15. Indici fizico-chimici ai oțetului după limpezire în comparație cu HG

Nr. d/o	Denumirea parametrilor	Valori obținute*	Norma din HG nr. 1403
1	pH la T=25°C	2,73±0,01	-
2	Densitate, kg/m ³	1014±10	1013-1020
3	Alcool rezidual, % vol.	0,9±0,1	nu mai mult de 1
4	Aciditate totală, g/L	60,1±0,1	59,4-92,0
5	Aciditate volatilă, %	7,71±0,05	5,55-7,95
6	Aciditate fixă, %	0,30±0,01	-
7	Extractul sec, g/L	17,50±0,13	8,71-24,88
8	Cenușa, g/L	1,75±0,25	1,47-3,10
9	Brix ⁰	5,6±0,1	-

*Elaborat de autor și pe baza datelor din HG nr.1403, rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard.

Utilizarea ingredientelor naturale în producția oțetului arată că acesta conține diverși macro- și micronutrimente, care determină naturalețea și autenticitatea produsului. Compoziția minerală a oțetului elaborat este prezentată în anexa 7.

Parametrii organoleptici ai oțetului obținut sunt:

- aspectul exterior: lichid, fără sediment;
- culoarea: galbenă cu nuanță ușor maronie;
- consistența: viscozitate mică;
- mirosul: înțepător, fără nuanță de substrat.

4.6. Caracteristici fizico-chimice și microbiologice ale oțeturilor din vin alb

Au fost analizate 6 tipuri de oțeturi din vin alb, trei dintre care au fost procurate din comerț de peste hotare (Anglia, Germania, Rusia), două de pe piața RM și unul produs în condiții de laborator în cadrul cercetării (tabelul 4.16).

Tabelul 4.16. Caracteristica oțeturilor albe*

Marca comercială	Codul	Țara	Producătorul	Prelucrarea tehnologică
Oțetul „White wine vinegar”	OCA	Anglia	RAW	nefiltrat, organic, nepasteurizat
Oțetul „Weißwein essig”	OCG	Germania	Rapunzel	nefiltrat, bio
Oțetul „Galaxy”	OCGr	Grecia	S.Mavidou & Sons Q.	-
Oțetul „Moș Ion”	OCM	RM	Triodor	-
Oțetul „Wine Orleanic Vinegar”	OCR	Rusia	ООО Олимпик Фудс	natural
Oțet din vin alb din struguri Noah	OEL	RM	UTM	netratat

**Elaborat de autor conform informației de pe etichetă.*

Toate tipurile de oțet au fost supuse determinărilor fizico-chimice standardizate pentru a le confirma calitatea și a le compara cu documentele normative în vigoare.

4.6.1. Aciditatea totală

În cadrul cercetării, s-a efectuat analiza acidității totale a oțetului conform metodei 9 din tabelul 2.6. Conform standardelor (HG RM și SM, GOST și STAS), aciditatea totală a oțetului din vin trebuie să aibă o valoare de minimum 60 g/L (calculat în acid acetic) [56 - 58]. Rezultatele obținute sunt reprezentate în figura 4.30.

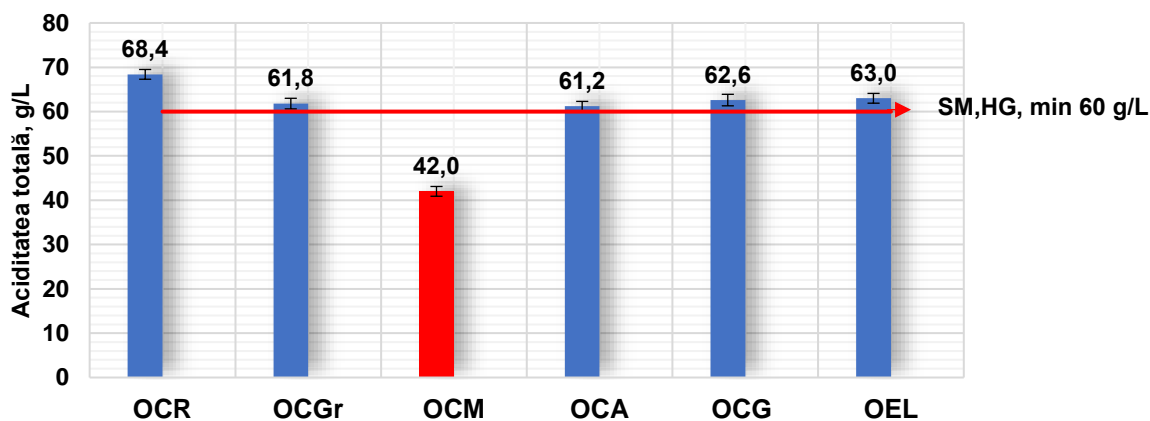


Fig. 4.30. Valorile AT a oțeturilor din vin alb. Rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard; $p \leq 0,05$

Conform datelor obținute, aceste valori sunt confirmate de informația de pe ambalaj, care etalează o aciditate totală pentru oțeturile din vin egală cu 59,4-92,0 g/L, însă mici abateri s-au înregistrat la oțetul produs în RM.

Analizând rezultatele înregistrate de savanții taivanezi Rei-Chu Chang și colab., s-a observat că valorile acidității totale pentru oțeturile din vin alb variază în limitele cuprinse între 50-90 g/L, doar numai două probe au avut valori de 49,5-49,7 g/L datorită conținutului ridicat de zahăr adăugat [177].

4.6.2. Alcoolul rezidual (fracție volumică)

Conținutul de alcool rezidual a fost determinat prin metoda 12 din tabelul 2.6. Conform documentelor normativ-tehnice, valoarea alcoolului rezidual (fracție volumică) a oțetului din vin trebuie să fie, conform HG nr. 1403 a RM, de 1% maximal admisibil, iar conform SM și SR – maximum 1,5% pentru oțetul din vin [56, 57, 58]. Rezultatele sunt reprezentate în figura 4.31.

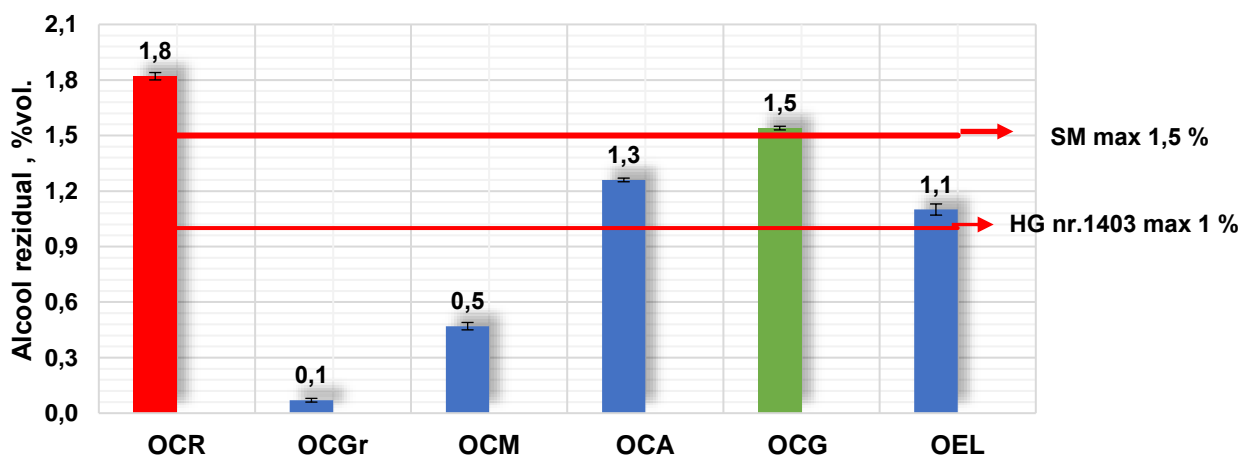


Fig. 4.31. Valorile alcoolului rezidual al oțeturilor din vin alb. Rezultatele sunt prezentate ca medie \pm abatere standard; $p \leq 0,05$

Rezultatele obținute denotă că oțeturile nefiltrate au valoare ce depășește norma stabilită de 1% din HG nr.1403 a RM, dar corespund normativelor stipulate în standardele moldovenesc (SM) și românesc (SR) cu norma de 1,5%.

4.6.3. Densitatea

Densitatea oțetului a fost determinată prin metoda 15 din tabelul 2.6. În baza datelor obținute a fost construită diagrama din figura 4.32, care demonstrează că valorile variază de la 1004 kg/m³ până la 1012 kg/m³.

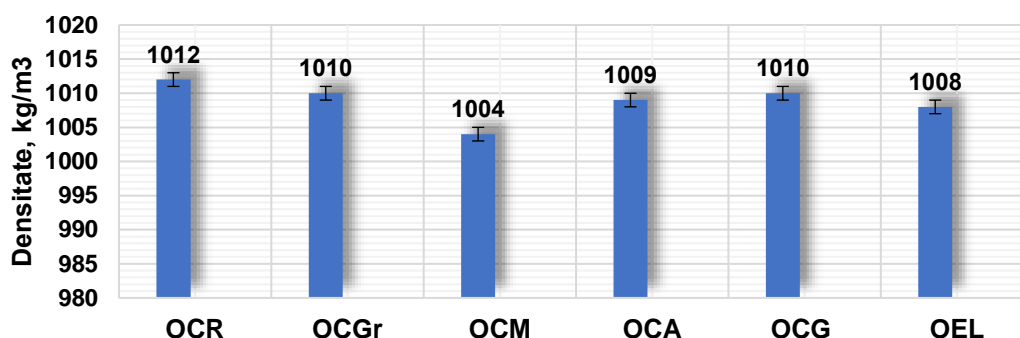


Fig. 4.32. Valorile densității oțeturilor din vin alb. Rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard; $p \leq 0,05$

Analizând cercetările efectuate de Rei-Chu Chang și colab. de la Universitatea din Taiwan, au constatat că pentru oțeturile din vin alb s-au obținut valori cuprinse în limitele 970-1000 kg/m³ [177]. Se poate menționa că oțetul filtrat OCGr și cel nefiltrat OCG au aceleași valori ale densității, iar oțetul OCA și OEL au valori apropiate: 1008-1009 kg/m³. Oțetul OCM produs în Moldova are cea mai mică valoare - 1004 kg/m³, iar oțetul OCR cea mai mare valoare - 1012 kg/m³.

4.6.4. pH

Acest parametru la fel lipsește în documentele normative ca parametru de calitate al oțetului din vin. Dar se cunoaște că cu cât valoarea pH este mai mică, cu atât valoarea acidității este mai mare. Potrivit Jamaludin și colab., limitele valorilor pH pentru oțet sunt de la 2,00 la 3,50 [178].

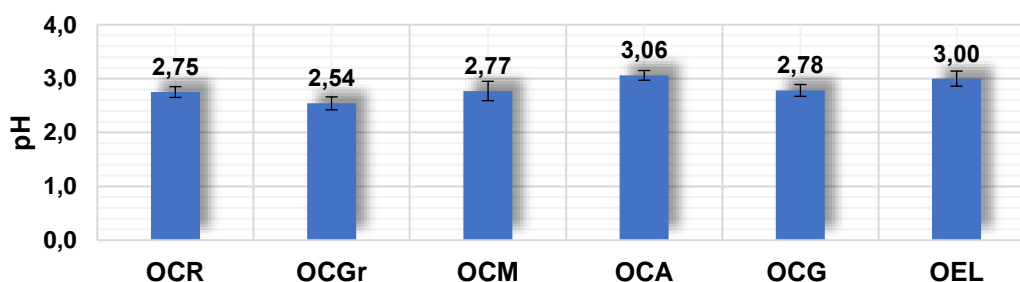


Fig. 4.33. Valoarea pH al oțeturilor din vin alb. Rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard; $p \leq 0,05$

Conform rezultatelor obținute (figura 4.33), s-a constatat că valorile pH ale oțeturilor filtrate și nefiltrate se încadrează în scara de la 2,54 - 3,06, ceea ce denotă mediul acid al acestora. Valoarea limită a pH pentru oțet este de 2,0-3,5, ceea ce demonstrează că valorile determinate în cadrul experimentelor pentru oțeturile filtrate nu depășesc valorile admisibile [179]. S-a constatat că oțetul produs chimic este mai acid decât cel obținut din materii prime naturale, de exemplu, oțetul OCGr.

Prin urmare, comparând rezultatele obținute cu ale lui Jamaludin și colab., observăm că valorile oțeturilor din vin alb sunt apropiate de rezultatele obținute ale oțeturilor filtrate, ceea ce denotă că oțeturile din vin alb analizate au aproximativ aceleași valori [178].

Conform datelor prezentate de Arvaniti și colab., oțetul sintetic, cu pH 2,70 se atribuie la oțeturile nefiltrate, care au valori mari ale pH ce sunt cuprinse între 2,78-3,06 [180]. Oțetul OCGr are valori apropiate cu cel sintetic, ceea ce confirmă că poate fi produs și pe cale chimică.

4.6.5. Extractul sec

Extractul sec în oțet s-a determinat cu scopul evaluării substanțelor nevolatile, care în anumite condiții fizice determinate nu se volatilizează, ci rămân în reziduu, ceea ce conduce la scăderea calității produsului. Valorile de comparație au fost luate din HG nr. 1403 [56].

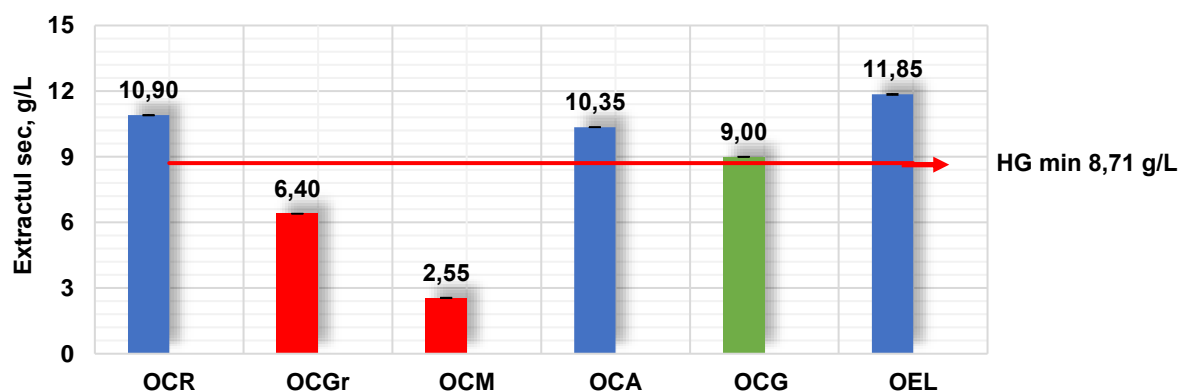



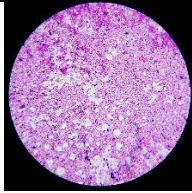

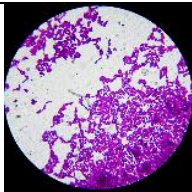

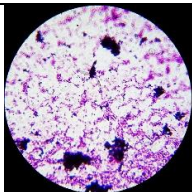
Fig. 4.34. Valorile extractului sec al oțeturilor din vin alb. Rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard; $p \leq 0,05$

Analizând rezultatele (figura 4.34) și comparându-le cu standardul în vigoare, s-au depistat abateri. Valoarea admisibilă a extractului sec este de 8,71-24,88 g/L. Dar conținutul extractului sec în oțeturile nefiltrate au valori cu mult mai mari de 9,00-11,85 g/L decât cele filtrate, totodată, sunt în concordanță cu normativul stabilit, pe când valorile oțeturilor filtrate – 2,55-10,90 g/L, și anume, oțetul OCGr și OCM au valori minime. Se constată că aceste oțeturi nu au fost supuse prelucrării stabilite conform tehnologiei de fabricare sau au fost supuse unor tratamente tehnologice incorecte, deoarece prin adăugarea de acid acetic ce poate cauza reducerea calității produsului.


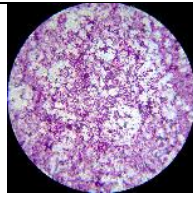
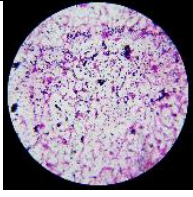
4.6.6. Proprietățile antimicrobiene ale oțetului obținut

Scopul cercetărilor a fost de a investiga capacitatea antimicrobiană a oțetului din vin alb față de microflora de alterare. În acest context, au fost cercetate proprietățile antimicrobiene a 2 oțeturi (din comerț și obținut în cadrul cercetărilor) față de microflora de alterare din legume, fructe și produse lactate. Această proprietate a oțetului de combatere a microflorei patogene este folosită la producerea conservelor din legume și iaurturilor. Pentru a investiga proprietatea antimicrobiană, în calitate de culturi test s-a folosit microflora de pe legume și fructe (ardei gras și struguri) și iaurtul alterat. Activitatea antimicrobiană a bacteriilor acetice selectate a fost studiată prin metoda godeurilor [181], iar diametrul zonelor de liză al celulelor a fost stabilit conform gradației lui M.Birgher [182, 183]. Rezultatele cercetărilor privind activitatea antimicrobiană a oțeturilor studiate sunt expuse în tabelul 4.17.

Tabelul 4.17. Proprietățile antimicrobiene ale oțeturilor studiate

Mediul	Gazonul	Sursa	Aspectul probei	Diametrul de reținere	Proprietățile culturale	Imaginea microscopică, mărirea x100	Caracteristicile morfologice
1	2	3	4	5	6	7	8
Sabouraud Dextrose Agar	Microbiota epifită(ardei dulce, struguri)	Oțet din vin alb obținut în laborator		$1,1 \pm 0,2 \text{ cm}$	Profil – plat Culoare - albă Margini - ondulate Formă - neregulată Luciu - fără Mărime -1-1,2 cm Transparență - translucid		Celule ovale, sferice în asociație, lanțuri, streptococi, bastonașe (microbiota epifită mixtă)
		Oțet de masă, din comerț		$12,5 \pm 0,5 \text{ cm}$	Profil – plat Culoare - albă Margini - ondulate Formă - neregulată Luciu - fără Mărime -0,5-1,5cm Transparență - translucid		Bastonașe de mărime mijlocie, aranjate în perechi, lanțuri, sporogen de tip bacilar (genul <i>Bacillus</i>)
Sabouraud Dextrose	Microbiota iaurtului alterat	Oțet din vin alb obținut în laborator		$0,7 \pm 0,2 \text{ cm}$	Profil – plat Culoare - alb-gălbuie Margini - ondulate Formă - neregulată Luciu - fără Mărime - 1-2 cm Transparență – translucid		Micrococci aranjați singular, streptococi lactici

Continuarea tabelului 4.17.

1	2	3	4	5	6	7	8
		Oțet de masă, din comerț		8,7±0,7cm	Profil - plat Culoare - alb-gălbuie Margini - ondulate Forma - neregulată Luciu - fără Mărime – 2 mm Transparență - translucid	 a.	Bacterii cilindrice de dimensiuni mijlocii (<i>Proteus, subtilis</i>)
					Profil - pulviant Culoare - alb-gălbuie Margini - lobate Formă - neregulată Luciu - fără Mărime - 1,5 cm Transparență – translucid	 b.	Streptococi aranjați singular, în perechi

Proprietățile culturale, morfologice și fiziologice au permis identificarea bacteriilor acetice, a microorganismelor caracteristice microbiotei epifite de alterare a fructelor, legumelor și produselor lactate. Identificarea a fost efectuată după dimensiuni, formă, culoare a coloniilor, precum și forma, marginea și asociațiile celulelor bacteriene.

Din microbiota epifită de alterare au fost identificați: micrococi, streptococi, streptococi lactici, bacteriile genului *Lactobacillus*. Culturile izolate de acetobacterii și oțetul maia au demonstrat capacitatea antimicrobiană utilizând metoda de Godeuri și teste cu hârtie de filtru. Zona de reținere a creșterii microbiotei de alterare este mai mare de 1-1,5 cm. Conform gradației lui M.Birgher diametrul zonelor de liză al celulelor în jurul godeurilor arată gradul sensibilității. Zona cu diametrul de la 11 până la 15 mm denotă o sensibilitate medie [183].

Analizând datele din tabelul 4.17, putem concluziona că activitatea antimicrobiană a oțetului obținut din vin alb, prin fermentare naturală s-a dovedit a fi mai mare în comparație cu cel din comerț, ceea ce denotă prezența compușilor naturali.

4.7. Optimizarea tehnologiei de fabricare a oțetului din vin

Procedeul de obținere a oțetului prin fermentarea acetică a produselor naturale cu utilizarea talașului din stejar, carpen, fag, mesteacăn sau coceni de porumb se cunoaște din timpurile cele mai vechi [184]. De asemenea, este cunoscut procedeul de utilizare și a altor tipuri de talaș cum ar fi din salcâm, cireș, castan, cocos, mangal, spumă de mare și chiar segmente de bambus [185, 186]. Aceste materiale de umplură în unele țări sunt utilizate în calitate de talaș la

fermentarea alcoolică a vinului. La fel, se folosesc la colorarea și îmbunătățirea proprietăților gustative ale băuturilor alcoolice tari. S-a stabilit că, din punct de vedere organoleptic, taninele stejarului ocupă un loc intermediar în ansamblul taninelor oenologice [168].

Conform procedurii descris de Durán Guerrero și colab., utilizarea talașului din stejar în procesul de fermentare acetică simulează în mod natural procesul de maturare a oțetului, astfel diminuând timpul de obținere a oțetului cu proprietăți organoleptice superioare [187].

Dezavantajul acestor procedee constă în utilizarea substratului, în primul rând, destul de costisitor și, în al doilea rând, unele dintre ele nu sunt specifice regiunii noastre, de exemplu bambusul, spuma de mare etc. Utilizarea substratului scump afectează în mod direct costul produsului finit. Dar oțetul nu se referă la produsele cu preț ridicat pentru care cumpărătorul este dispus să plătească mult.

Unele tipuri de substrat nu influențează pozitiv calitățile organoleptice ale oțetului, dimpotrivă - negativ, ceea ce necesită aplicarea ulterioară a operației de limpezire cu agenți speciali. În unele cazuri se folosesc substraturi care au fost supuse prăjirii, ce necesită costuri suplimentare. Astfel, costul oțetului finit crește de aproape 2 ori [169].

Problema rezolvată în cadrul tezei de față este obținerea oțetului din vin alb prin utilizarea substratului din materie primă autohtonă cum ar fi: coaja de nuci grecești și alune, care sunt deșeuri din industria nuciferă [188]. Aproximativ 49-50% din masa nucului reprezintă coaja, care este utilizată în diverse domenii ca de exemplu în calitate de îngrășămintă sau în producția de furaje; cojile mărunțite sunt utilizate în industria chimică la fabricarea produselor cosmetice, scruburilor, diverse creme etc.

În cadrul cercetării a fost:

- ✓ elaborată instrucțiunea tehnologică IT MD 67-41184408-01:2021 privind fabricarea oțetului din vin, din fructe și din fructe de pădure, conform cerințelor reglementărilor tehnice "Oțeturi și acid acetic de uz alimentar" aprobate prin HG nr.1403 din 09.12.2008 de către grupul de autori: Gaina B. dr.hab., prof.univ., acad., AȘM; Boiștean A. lec.univ., FTA, UTM și Baci V. conducător SRL "V.DEVELOP";

- ✓ efectuate încercări de testare a culturii de bacterii acetice *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01, izolate din strugurii soiului autohton Noah în procesul industrial de fabricare de oțetul din vin în conformitate cu instrucțiunile tehnologice IT MD 67-41184408-01:2021 (Anexa 8).

- ✓ aplicată în calitate de prototip schema tehnologica descrisă de Budak și colab. și ulterior optimizată prin înlocuirea substratului, și respectiv, procesele necesare pentru pregătirea acestuia [59]. Schema-bloc optimizată de obținere a oțetului din vin alb este reprezentată în figura 4.35.

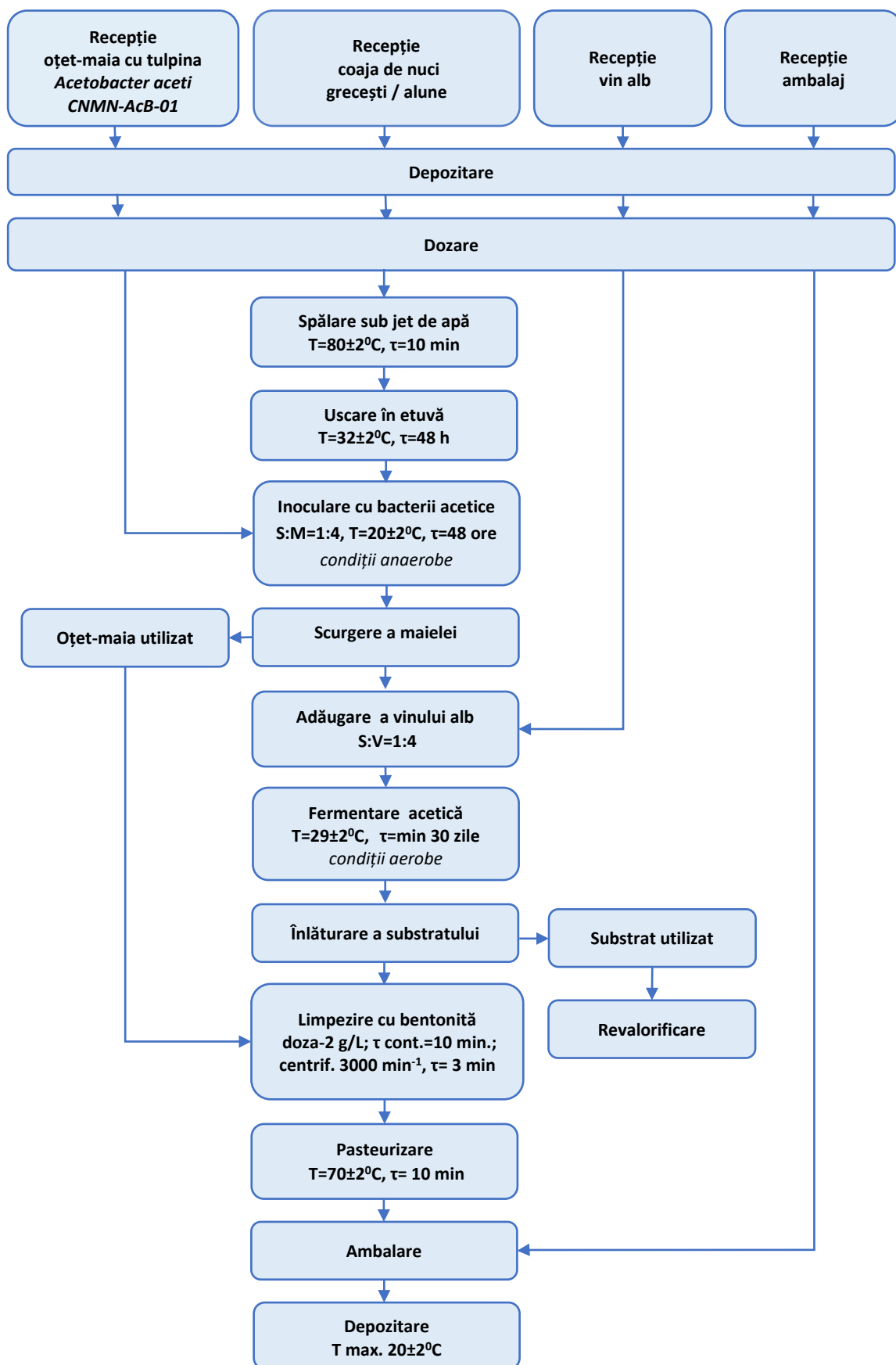


Fig. 4.35. Schema-bloc optimizată de obținere a oțetului din vin alb

Metoda de pregătire a substratului

Coaja de nucă/alune a fost supusă prelucrării primare prin parcurgerea următoarelor etape:

1. Spălarea sub un jet de apă la temperatura $80\pm 1^{\circ}\text{C}$ timp de 10 minute.
2. Uscarea în etuvă la temperatura $32\pm 1^{\circ}\text{C}$, 48 de ore.
3. Inocularea cu bacteriile acetice din maia (oțet din vin nefiltrat) timp de 72 de ore, în raport de 1:4.

Procesul de fermentare cu ajutorul substratului din coajă de nuci grecești/alune

Probele au fost supuse procesului de fermentare acetică în pahare Erlenmeyer de 1 litru, timp de o lună, într-un mediu controlat, la temperatura constantă de $29\pm 2^{\circ}\text{C}$, cu monitorizarea periodică a parametrilor: temperatura, pH, Brix, densitatea, producerea acidului acetic. Pe parcursul a 15 zile de fermentare acetică s-a observat că probele s-au apropiat de valoarea minimală admisibilă 60 g/L stipulată în actele normative ale RM. Astfel, putem concluziona că utilizarea cojii de nuci grecești sau de alune în calitate de substrat prin metoda rapidă de fermentare acetică sporește obținerea produsului finit și îmbunătățește proprietățile organoleptice ale acestuia. Tehnologia de obținere a oțetului din vin alb a fost descrisă în brevetul de invenție *Procedeu de obținere a oțetului din vin alb* [189]. Brevetul de invenție de scurtă durată cu nr. MD 1517 Y a fost solicitat de către SRL Fermented fruits care a închiat cu UTM un contract de licență neexclusivă de folosire a acestuia, în scopul comercializării produsului obținut în urma aplicării procedeeului descris (anexa 9).

Utilizarea substratului din materia autohtonă (coji de nuci grecești și alune) a condus la dezvoltarea sporită a tulpinei de bacterii *Acetobacter aceti CNMN-AcB-01*, izolate din produse vitivinicole locale, și a contribuit la acumularea acidului acetic într-un timp de 2 ori mai scurt în comparație cu tehnologia de fermentare clasică, ceea ce a condus la optimizarea schemei tehnologice de obținere a oțetului din vin alb.

4.8. Concluzii la capitolul 4

S-a efectuat analiza a pieței RM cu referire la sortimentul de oțeturi și s-a constatat că 43% din oțeturile prezente pe rafturile magazinelor sunt produse autohtone. În sortiment predomină oțetul de masă cu diferite concentrații, urmat de oțetul de mere și în cantități mici oțetul de vin. Coeficientul anvergurii sortimentului de oțeturi comercializat în RM este de 0,5 - insuficient pentru o țara agrară.

S-a stabilit opinia consumatorilor cu privire la utilizarea oțetului. S-a constatat că din 103 respondenți 74,8% utilizează oțetul în calitate de condiment, la marinarea legumelor, foarte des la prepararea dresingurilor pentru salate, foarte rar pentru menținerea culorii legumelor și

marinarea cărnii. S-a concluzionat că, chiar dacă oțetul este un produs alimentar cunoscut, utilizarea lui este foarte restrânsă.

În urma obținerii oțetului din suc concentrat de struguri albi s-a constatat că nutrimentele nu joacă un rol important în procesul de fermentare alcoolică, deoarece diferența între probe a conținutului alcoolului este doar de 0,5%. Totodată, la fermentarea acetică s-a înregistrat cu 33% mai mult de acid acetic în proba cu nutrimente comparativ cu martorul. Pentru sporirea fermentării acetice în condiții industriale, la obținerea oțetului din concentrat de struguri albi recomandăm utilizarea nutrimenților în cantități de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -0,135g, K_2CO_3 -0,005g și zaharozei $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ - 2,7g.

S-a cercetat influența parametrilor biochimici și tehnologici asupra fermentării acetice. S-a stabilit că conținut de SO_2 de până la 160 mg/dm³ permite desfășurarea procesului de fermentare acetică în vinul sulfitat fără abateri. S-a cercetat influența diferitor cantități de oțet-maia (10, 20, 30, 40 și 50%) asupra parametrilor fizico-chimici timp de 14 zile de fermentare acetică. S-a demonstrat că cantitatea de 30% asigură atingerea valorii minime de acid acetic de 60 g/L la a 14 zi de fermentare. S-a stabilit că în timpul procesului de fermentare acetică substratul pentru bacteriile acetice influențiază neesențial parametrii fizico-chimici, totodată cauzând modificarea semnificativă a culorii oțetului obținut. Rezultate relevante s-au obținut la utilizarea coajii de nucă, astfel valoarea I_c a crescut de la 0,69 la 20,703, totodată L^* crește de circa 2 ori, a^* s-a modificat de la 6,55 la 2,69, b^* se dublează, $\Delta E^*(26,90)$ demonstrează modificări importante a culorii.

S-a determinat cantitatea optimă de agenți de limpezire pentru filtrarea oțetului din vin alb. S-a stabilit regimul optim de temperatură pentru diferiți agenți de limpezire. Astfel pentru Maxibent P este de 20°C, înregistrându-se cea mai mică densitate optică, pH redus, iar valorile acidității și densității au crescut până la 58,5g/L și 1027 kg/m³ respectiv. Agentul Maxibent G este eficient la temperatura de 40°C, valorile acidității atingând 58,7g/L AT, densitatea de 1025 kg/m³ și pH de 2,83.

S-au studiat prin comparare particularitățile fizico-chimice și microbiologice ale oțetului din vin alb obținut, cu cele din comerț. Rezultatele au demonstrat că oțeturile comercializate pe piața RM nu corespund totalmente normelor stabilite pentru oțeturile din vin, doar pentru cele sintetice. S-a demonstrat că oțetul elaborat corespunde tuturor parametrilor fizico-chimici (pH=2,73; ρ =1014 kg/m³; Al. rez.=0,9%; AT=60,1g/L) și este un produs competitiv, întrunind cele mai bune caracteristici organoleptice.

În baza cercetărilor a fost elaborată instrucțiunea tehnologică IT MD 67-41184408-01:2021 privind fabricarea oțetului din vin; efectuate încercări de testare a culturii de bacterii acetice *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01; optimizată schema-bloc de obținere a oțetului din vin alb. Rezultatele obținute au permis brevetarea procedurii de obținere a oțetului din vin alb.

5. TEHNOLOGIA FABRICĂRII BĂTURILOR NEALCOOLOCE CU OȚET DIN VIN ALB

În ultimele decenii se utilizează pe larg concentratele de băuturi răcoritoare. În baza lor, industrial sau în condiții de casă, se pregătesc băuturi răcoritoare printr-o simplă diluare cu apă. Acest procedeu de preparare a băuturilor este foarte simplu, cu un volum redus de muncă și nu prevede utilaj tehnologic complicat [192].

Există multe modalități de a păstra/conserva fructele sezoniere, printre cele mai frecvent utilizate fiind fabricarea sucurilor și băuturilor răcoritoare. În cadrul cercetării au fost elaborate rețete a băuturilor nealcoolice care includ adăugarea oțetului obținut prin fermentarea naturală și îndulcirea acestuia cu zahăr. Acidul acetic din oțet acționează în calitate de conservant, astfel încât băutura rămâne delicioasă pe tot parcursul anului [193].

5.1. Opinia consumatorilor cu referire la consumul băuturilor nealcoolice cu oțet

În perioada 01.03.2020-01.04.2020 a fost efectuat un sondaj în format on-line, folosind platforma web *Survey*, privind cunoștințele și opinia consumatorilor despre băuturile nealcoolice. Au fost recepționate 62 de chestionare dintre care au fost validate 60, ceea ce constituie o rată de răspuns de 96,7%. Datele au fost prelucrate cu ajutorul sistemului *SPSS*, fiind utilizate mai multe metode de analiză statistică cum ar fi: analiza descriptivă, diagrame în formă de bare și altele (anexa 10).

La acest sondaj au participat 78% femei și 22% bărbați (figura A.10.1); cu vârsta cuprinsă între 18-30 ani au participat 59,3% persoane, de la 30 până la 50 - 35,6% și mai mare de 50 ani - 5,1% (figura A.10.2). Respondenții au fost în mare parte angajați, dar și studenți (figura A.10.4.). Cea mai mare parte a respondentelor sunt din RM - 33, din Rusia - 14, câte 2 respondenți din Spania și câte unul din Portugalia, Cehia, Canada, Germania și Israel (figura A.10.3). Dintre ei, 39,2% au studii superioare, 5,9% - studii postuniversitare, 45,1% - continuă studiile la universități și 9,8% au studii gimnaziale și liceale (figura A.10.5).

La întrebarea ce UAP vizitează respondenții în timpul liber, s-a observat că cafenelele și restaurantele sunt cele mai solicitate, urmate de fast-food, apoi de baruri și cluburi de noapte. Au fost persoane care au răspuns că nu vizitează UAP, prin urmare, cumpără băuturi în supermarketuri (figura A.10.6).

Din sortimentul băuturilor, cea mai mare parte dintre respondenți au menționat că preferă cocktail-urile - 30,8%, apoi urmează sucurile fresh - 17,3%. Sucurile din comerț sunt consumate

numai de 13,6% din respondenți, dintre acestea 9,9% preferă băuturile din comerț, totodată, 3,7% de respondenți preferă băuturile de casă: compoturi, limonade, smoothie etc. (figura A.10.7).

5.2. Schema tehnologică de obținere a băuturilor nealcoolice

Scopul cercetării a fost elaborarea tehnologiei băuturilor răcoritoare, folosind inclusiv și oțetul din vin alb. În tabelul 5.1 sunt prezentate rețetele băuturilor elaborate.

Tabelul 5.1. Rețetele băuturilor nealcoolice elaborate*

Nr. d/o	Denumirea și codificarea a băuturilor	Raport de ingrediente (pentru 1 litru de băutură finită)					
		fructe/pomușoare, g**	zahar, g	plante aromatice, g	condimente, g	oțet, mL	apă, mL
1	Prune cu levănțica-PrL	200	200	2	-	100	se aduce până la cotă
2	Piersici cu scorțișoara-PiS	200	200	-	2	100	
3	Măr cu vanilie-MV	200	200	-	2	100	
4	Zmeură cu mentă-ZM	200	200	10	-	100	
5	Căpșună cu busuioc-CB	200	200	10	-	100	

Notă. *elaborat de autor, **norma fructelor/pomușoarelor este indicată pentru masa netă.

Calitatea băuturilor obținute a fost apreciată după valorile caracteristicilor senzoriale, fizico-chimice și microbiologice. Rezultatele analizelor sunt expuse în compartimentul 5.4.

Tehnologia de obținere a băuturii nealcoolice în care este folosit oțetul din vin alb include 2 etape:

1. Pregătirea concentratului. Fructe sau pomușoare, plante aromatice sau condimente se presoare cu zahăr. Se lasă timp de 1-6 ore pentru macerare la temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$. Ulterior oțetul se încălzește până la $90\pm 2^{\circ}\text{C}$, se temperează până la $50\pm 2^{\circ}\text{C}$, se toarnă peste compoziția formată și se amestecă. Se continuă maturarea timp de 1-3 zile la temperatura de $3\pm 1^{\circ}\text{C}$.






2. Etapa 2 se începe cu procesul de filtrare. Ulterior precipitatul a fost tratat cu apă, pentru a extrage componentele nutritive. Filtratul obținut s-a adus până la cota cu apă, apoi se îmbuteliază în ambalaj steril și se depozitează la temperatura de $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ timp de 30 zile. Schema tehnologică de obținere a băuturii elaborate este redată în figura A 11.1, anexa 11.

5.3. Valoarea energetică a băuturilor nealcoolice

În perioada verii, când aportul hidric este mare, aciditatea gastrică se diminuează, ceea ce favorizează apariția infecțiilor bacteriene și virale în tubul digestiv. În această perioadă crește volumul consumului băuturilor răcoritoare. Este evident că crește cererea lor în unitățile comerciale, dar ele nu sunt recomandate datorită conținutului mare de zahăr, acidității înalte, utilizării coloranților sintetici, conservanților etc.

În tabelul 5.2 este inserată cantitatea de proteine, grăsimi și carbohidrați calculate pentru băuturile nealcoolice elaborate [194].

Tabelul 5.2. Valoarea energetică a băuturilor elaborate

Codul băuturii	Materia primă	Cantitatea	Valoarea energetică				
			proteine, g	grăsimi, g	glucide, g	kcal/100g	kJ/100g
	Prune, g	30	0,24	0,09	2,88	12,60	52,75
	Zahăr tos, g	10	0,00	0,00	9,97	39,80	166,6
	Oțet din vin alb, mL	10	0,00	0,00	0,30	3,20	13,39
	Levănțica usc., g	0,2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Apă potabilă, mL	p.c.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total per 100 mL			0,21	0,08	10,94	46,29	193,8
	Piersici, g	30	0,27	0,03	3,39	13,80	57,77
	Zahăr tos, g	10	0,00	0,00	9,97	39,80	166,6
	Oțet din vin alb, mL	10	0,00	0,00	0,30	3,20	13,39
	Scorțișoară, g	0,2	0,01	0,01	0,16	0,52	57,77
	Apă potabilă, mL	p.c.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total per 100 mL			0,23	0,03	11,5	47,69	199,7
	Mere, g	30	0,12	0,12	2,94	14,10	59,03
	Zahăr tos, g	10	0,00	0,00	9,97	39,80	166,6
	Oțet din vin alb, mL	10	0,00	0,00	0,30	3,20	13,39
	Vanilie, g	0,2	0,00	0,00	0,03	0,58	2,42
	Apă potabilă, mL	p.c.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total per 100 mL			0,10	0,10	11,01	47,98	200,9
	Zmeură, g	30	0,24	0,15	2,49	13,80	57,77
	Zahăr tos, g	10	0,00	0,00	9,97	39,80	166,6
	Oțet din vin alb, mL	10	0,00	0,00	0,30	3,20	13,39
	Mentă proasp., g	1	0,04	0,00	0,08	0,49	2,05
	Apă potabilă, mL	p.c.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total per 100 mL			0,23	0,13	10,61	47,35	198,2
	Căpșune, g	30	0,24	0,12	2,25	12,30	51,49
	Zahăr tos, g	10	0,00	0,00	9,97	39,80	166,6
	Oțet din vin alb, mL	10	0,00	0,00	0,30	3,20	13,39
	Busuioc proas., g	1	0,03	0,01	0,04	0,27	1,13
	Apă potabilă, mL	p.c.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total per 100 mL			0,22	0,1	10,38	45,93	192,3

Notă. PrL – prune cu levănțică; PiS – piersice cu scorțișoară; MV – mere cu vanilie; ZM – zmeură cu mentă; CB – căpșune cu busuioc; p.c. - se aduce până la cotă.

Analiza tabelului 5.2 demonstrează că băuturile elaborate conțin o cantitate semnificativă de glucide datorită zahărului, fructelor sau pomușoarelor, care au valori de la 10,38 până la 11,50 g/100 mL. A fost comparat conținutul de carbohidrați (conform normelor) în băuturile nealcoolice elaborate, în comparație cu cele selectate din comerț (tab. 5.3).

Tabelul 5.3. Valoarea energetică a băuturilor din comerț*

Denumirea produsului	Cantitatea, mL	Valoarea energetică				
		proteine, g	grăsi-mi, g	glucide, g	kJ/100mL	kcal/100 mL
Băutură răcoritoare cu pulpy grapefruit (Cappy)	100	0,00	0,00	12,10	214,0	50,0
Băutură răcoritoare cu piure concentrat de piersică (Prigat)	100	0,00	0,00	14,00	217,7	52,0
Băutură dulce mojito de căpșune (Очаково)	100	0,00	0,00	18,60	320,0	75,6
Băutură cu sucuri de fructe (Tedi)	100	0,00	0,00	11,00	188,4	45,0
Băutură carbogazoasă de căpșune și kiwi (Fanta)	100	0,00	0,00	10,20	177,0	42,0

**Elaborat de autor conform informației de pe etichetă.*

Datele din tabelele 5.2 și 5.3 demonstrează că valoarea energetică a băuturilor elaborate este aproape de valoarea energetică a aceleiași cantități de băuturi dulci din comerț. Diferență este nesemnificativă, dar avantajul constă în faptul că băuturile nealcoolice elaborate sunt obținute din materii prime naturale, pe când cele din comerț conțin un șir de aditivi artificiali. Prin urmare, băuturile obținute pot fi oferite ca alternativă sănătoasă și naturală a băuturilor nealcoolice din comerț, cât și pentru servire în UAP.

5.4. Indicele glicemic al băuturilor elaborate

Băuturile elaborate conțin cantități importante de glucide de circa 10,2-11,5% (tab.5.2) la fel ca și cele din comerț. De exemplu, băuturile răcoritoare Coca-Cola și Fanta conțin respectiv 10,6% și 11,7% de zahăr [195]. Rey-López și Gonzalez califică aceste băuturi ca produse cu indice glicemic (IG) moderat (63 și 68 respectiv), dar cu valori foarte apropiate de produsele cu IG înalt (>70) care, fiind consumate frecvent și în cantități mari, ar putea duce la dependența de insulină și diabet, precum și la boli coronariene, metabolice și obezitate [196]. În acest sens, prezintă interes determinarea IG al băuturilor elaborate.

IG al unui aliment este reprezentat în raport cu un produs alimentar de referință (de regulă, glucoza), care este apreciat cu un index de 100. David J. Jenkins de la Universitatea din Toronto a propus în 1981 utilizarea IG. Cercetările au fost efectuate în conformitate cu standardul internațional ISO 26642 cu ajutorul glucometrului Clever Chek TD-4227 [122].

Studiul evoluției glicemiei după consumul băuturilor elaborate

La studiu au participat 9 persoane cu starea de sănătate bună, care s-au oferit în calitate de voluntari. Pe parcursul a 7 zile, toți voluntari au consumat fiecare tip de băutură elaborată în cantitate ce conținea 25 g de carbohidrați (conform standardului ISO 26642), glucoză praf ca etalon în cantitate de 25 g și o băutură fără adăugarea oțetului.

Băuturile nealcoolice au fost servite înainte de micul dejun, pe stomacul gol. Probele de sânge capilar au fost colectate la intervalele de timp 0, 15, 30, 45, 60, 90 și 120 minute. Tuturor voluntarilor li s-a determinat indicele masei corporale (IMC) și li s-a atribuit codificarea inclusă în tabelul 5.4.

Tabelul 5.4. Caracteristicile participanților*

Nr. d/o	Sex	Vârstă	IMC** kg/m ²	Glucoza plasmatică pe stomacul gol, mmol/L
1	B	25	29,6	4,8
2	B	23	20,2	4,3
3	F	20	22,5	4,5
4	B	25	19,9	4,2
5	F	23	21,2	4,9
6	F	36	26,7	4,5
7	F	38	21,5	4,6
8	B	42	28,4	4,8
9	F	28	21,7	4,5

*Notă. *Elaborat de autor; IMC** - indicele masei corporale.*

Shah și Braverman menționează că IMC este un indicator recunoscut științific, stabilit în urma rezultatelor unor studii populaționale de mare anvergură, care au avut ca scop relevarea unei legături între raportul masa corporală/înălțime, pe de-o parte, și starea de sănătate, pe de altă parte. Statisticile arată că persoanele al căror IMC este cuprins în intervalul 18,50-25 au o stare de sănătate mai bună. Valorile IMC de peste 25 coincid cu creșterea proporțională a problemelor de sănătate - cu cât masa corporală este mai mare, cu atât crește riscul apariției problemelor de sănătate. Dar și deficitul ponderal excesiv reprezintă un risc de apariție a unor probleme de sănătate [197].

Din datele incluse în tabelul 5.4 se observă că la studiu au participat 33% persoane (3) cu IMC care depășește valoarea de 25, ceea ce denotă că o mare parte dintre participanți au masa corporală normală (anexa 12).

Răspunsul glicemic al participanților după consumul cantității de băutură echivalentă cu 25 g de glucide este prezentat în tabelul 5.5.

Tabelul 5.5. Evoluția IG în timp în urma consumului băuturilor elaborate

Timp, min.	Glucoza plasmatică, mmol/L									Valoare medie	ES a mediei
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Etalonul (glucoza)											
0	4,9	3,8	4,3	4,6	4,6	4,9	3,2	4,2	4,8	4,4	0,2
15	6,3	5,2	8,1	6,8	6,8	6,8	6,9	7,3	7,0	6,8	0,3
30	7,3	8,4	7,6	7,7	6,7	6,5	7,2	7,8	7,9	7,5	0,2
45	6,1	7,4	6,5	6,8	7,0	6,6	6,3	6,6	6,4	6,6	0,1
60	5,9	4,8	5,2	5,2	5,8	5,9	4,6	5,1	5,2	5,3	0,2
90	5,2	4,9	4,5	4,6	4,8	5,6	4,3	4,9	4,7	4,8	0,1
120	4,8	4,4	4,2	4,0	4,4	5,2	4,1	4,2	4,3	4,4	0,1
<i>A_t</i>	107	271	166	126	134	126	240	178	113	162	19
Băutură de prune cu levănțică											
0	4,8	4,3	4,7	4,2	5,0	4,3	4,5	4,2	4,7	4,5	0,1
15	4,8	6,1	5,6	6,0	6,5	5,6	6,3	4,8	5,3	5,7	0,2
30	4,6	7,1	5,1	6,5	6,6	6,2	7,1	4,0	6,3	5,9	0,4
45	5,0	6,0	5,2	6,6	6,6	5,4	7,2	4,3	5,4	5,7	0,3
60	5,4	5,2	5,3	4,0	5,1	4,6	4,3	4,8	5,2	4,9	0,2
90	5,6	4,9	4,7	3,9	4,8	4,3	4,1	4,2	4,6	4,6	0,2
120	5,0	4,4	4,8	3,8	4,1	4,1	3,7	4,3	4,4	4,3	0,1
<i>A_t</i>	44	134	43	33	72	71	105	47	54	67	11
IG	41	49	26	26	54	56	44	26	48	41	4
Băutură de piersici cu scorțisoară											
0	3,9	4,6	4,2	4,9	4,9	4,5	4,8	4,6	4,7	4,6	0,1
15	4,6	5,7	6,3	5,4	6,3	5,0	6,8	5,8	4,8	5,6	0,3
30	4,9	7,6	5,5	5,7	6,4	5,9	6,3	6,2	5,0	5,9	0,3
45	4,8	6,1	4,9	5,0	6,5	6,0	5,5	4,5	5,7	5,4	0,2
60	4,8	5,6	4,7	4,7	4,9	4,8	4,9	4,9	4,8	4,9	0,1
90	3,9	5,0	4,2	4,2	4,7	4,5	4,3	4,8	4,7	4,5	0,1
120	3,7	4,7	3,7	3,8	4,1	4,4	3,4	3,8	4,3	4,0	0,1
<i>A_t</i>	59	120	73	20	67	58	64	42	23	58	10
IG	55	44	44	16	50	46	27	24	20	36	5
Băutură de mere cu vanilie											
0	4,7	4,8	4,5	4,7	4,9	4,4	4,8	5,4	4,3	4,7	0,1
15	5,4	5,2	5,0	6,3	6,7	5,2	7,2	6,9	4,8	5,9	0,3
30	6,1	7,1	6,1	6,0	6,8	5,8	7,8	7,2	5,6	6,5	0,3
45	4,7	6,6	6,3	6,6	6,5	6,0	7,0	6,7	5,4	6,2	0,2
60	4,8	6,5	5,8	5,5	4,8	4,6	5,1	4,9	4,3	5,1	0,2
90	4,8	5,3	4,9	5,3	4,5	4,2	4,8	4,6	4,8	4,8	0,1
120	4,8	4,6	4,7	4,6	4,2	4,2	4,3	4,1	4,3	4,4	0,1
<i>A_t</i>	38	117	102	106	54	53	113	65	58	78	10
IG	36	43	61	84	40	42	47	37	51	49	5
Băutură de zmeură cu mentă											
0	4,8	4,4	4,5	4,4	4,7	4,8	4,5	4,9	5,0	4,7	0,1
15	5,1	6,3	5,3	6,1	6,4	5,0	5,6	6,5	6,4	5,9	0,2

Continuarea tabelului 5.5.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
30	5,6	5,5	5,2	6,5	6,5	6,7	6,8	6,0	6,7	6,2	0,2
45	6,2	4,1	5,6	7,0	6,5	5,5	6,8	6,1	5,5	5,9	0,3
60	5,4	4,9	5,3	4,4	4,9	4,6	4,7	5,2	5,6	5,0	0,1
90	5,0	4,8	5,1	4,0	4,5	4,5	4,2	4,3	5,1	4,6	0,1
120	4,7	4,2	4,8	4,3	4,0	4,5	3,3	4,0	3,5	4,1	0,2
A_t	54	61	79	96	81	41	87	61	69	70	6
IG	50	23	48	76	60	33	36	34	61	47	6
Băutură de căpșune cu busuioc											
0	4,7	4,8	4,4	4,3	5,0	4,8	4,5	4,3	4,9	4,6	0,1
15	5,0	5,2	5,3	6,0	6,6	5,0	6,6	6,2	6,5	5,8	0,2
30	5,5	8,4	5,2	6,5	6,9	6,5	7,4	5,0	6,0	6,4	0,4
45	6,1	7,4	5,6	6,6	6,7	5,2	5,5	5,4	6,0	6,1	0,2
60	5,5	4,8	5,2	4,0	5,0	4,7	4,0	4,8	5,2	4,8	0,2
90	5,0	4,9	5,0	3,9	4,6	4,4	3,9	4,8	4,3	4,5	0,1
120	4,8	4,4	4,5	4,2	4,0	4,5	3,5	4,2	4,0	4,2	0,1
A_t	66	102	81	90	78	34	86	80	65	76	6
IG	62	38	49	71	58	27	36	45	58	49	5
Băutură de căpșune cu busuioc fără oțet											
0	4,6	4,4	4,6	4,9	4,3	4,7	4,5	4,6	4,8	4,6	0,1
15	6,6	5,8	6,9	6,5	5,7	6,8	5,9	6,1	5,7	6,2	0,2
30	6,7	6,3	7,1	6,0	7,0	6,3	6,7	7,1	7,0	6,7	0,1
45	5,8	4,7	7,7	6,0	6,3	5,7	5,6	6,5	6,5	6,0	0,3
60	4,6	4,0	6,1	5,2	5,5	5,2	4,9	5,6	5,0	5,1	0,2
90	4,3	4,1	4,5	4,3	5,0	4,6	4,4	4,7	5,3	4,6	0,1
120	4,1	4,1	4,2	4,0	4,6	4,5	4,3	4,1	3,9	4,2	0,1
A_t	54	49	71	43	90	55	61	88	80	66	5,8
IG	84	67	60	88	257	122	179	72	75	112	21,9

Aria suprafeței sub curba glicemică a probelor analizate a fost calculată conform standardului ISO prin metoda 30, tabelul 2.6. Rezultatele sunt reprezentate în anexa 13, figurile A.13.1-13.7.

Rezultatele obținute pentru proba etalon demonstrează că nivelul zahărului în sânge după consumarea produsului crește treptat de la 4,4 mmol/L până la 7,5 mmol/L în primele 30 minute, după care scade repede de la 6,6 mmol/L până la 4,4 mmol/L timp de 1,25 ore. Astfel glucoza plasmatică în sânge a atins valorile înainte de consum. Valoarea medie a ariei a fost de 162, iar eroarea standard a mediei a fost de 19.

După consumul băuturilor nealcoolice elaborate, nivelul de glucoza plasmatică în sânge a crescut treptat de la 4,5-4,7 mmol/L până la 5,9-6,5 mmol/L în primele 30 minute, după care scade repede până la 4,8-5,1 mmol/L, iar după 2 ore s-a diminuat până la 4,0-4,4 mmol/L, ceea ce denotă

că valorile atinse sunt mai mici decât înainte de consum. Indicele glicemic al băuturilor a variat de la 36 până la 49.

După consumarea probei fără oțet, nivelul de glucoza plasmatică în sânge crește treptat de la 4,6 până la 6,7 mmol/L în primele 30 de minute, apoi scade repede și după 1,5 ore are valoarea egală cu cea înainte de consum. Indicele glicemic al băuturii fără oțet este 112, practic, de 2 ori mai mare comparativ cu probele cu oțet.

Rezultatele obținute și multiplele investigații științifice realizate recent au documentat că ingestia oțetului diluat de către adulții sănătoși reduce răspunsul glucozei la o încărcătură de carbohidrați. Există, de asemenea, unele dovezi că ingestia de oțet diluat crește sațietatea pe termen scurt [198-200].

Efectul antiglicemic al oțetului a fost raportat pentru prima dată de Ebihara și Nakajima în 1988. Răspunsul glucozei din sânge la șobolani, la o încărcătură de amidon de porumb de 10% a fost redus semnificativ când a fost administrat concomitent cu o soluție de acid acetic 2% [198].

Potrivit lui Östman și colab., suplimentarea unei mese pe bază de pâine din grâu alb stropită cu oțet a redus răspunsul postprandial de glucoză din sânge și insulină și a crescut nivelul subiectiv de sațietate. Autorii consideră că există o relație inversă doză-răspuns între nivelul acidului acetic și răspunsurile la glucoză și insulină, și o relație liniară doză-răspuns între acidul acetic și gradul de sațietate [199].

Brighenti și colab. au determinat că administrarea pe cale orală a acidul acetic diluat poate avea acțiune benefică asupra evoluției glicemiei. O doză mică de oțet, sub formă de sos pentru salată consumată la o masă mixtă, este suficientă pentru a influența în mod pozitiv răspunsul glicemic și aducerea lui la parametrii normali [200].

5.5. Indicii de calitate ai băuturilor nealcoolice

5.5.1. Caracteristicile fizico-chimice și cromatice

Caracteristicile fizico-chimice și cromatice au fost determinate pentru cinci probe de băuturi nealcoolice din diverse fructe și pomușoare cu oțet din vin alb. Rezultatele analizelor sunt incluse în tabelul 5.6.

Tabelul 5.6. Caracteristicile fizico-chimice și cromatice ale băuturilor elaborate*

Nr. d/o	Indicii	Probele băuturilor elaborate				
		PrL	PiS	MV	ZM	CB
1	2	3	4	5	6	7
1	pH	3,53±0,02	3,51±0,01	3,47±0,07	3,43±0,02	3,33±0,01
2	Densitate, kg/m ³	1056±13	1045±11	1050±12	1047±10	1047±10
3	Brix ⁰	15,1±0,7	11,4±0,2	13,2±0,1	12,5±0,2	12,3±0,8

Continuarea tabelului 5.6.

1	2	3	4	5	6	7
4	AT, g/L	15,2±0,5	14,2±0,3	14,1±0,5	15,1±0,1	15,4±0,4
5	L*	15,46±0,02	26,95±0,32	28,93±0,31	14,27±0,03	17,94±0,06
6	a*	5,41±0,03	4,31±0,19	5,73±0,14	9,89±0,05	15,17±0,10
7	b*	2,78±0,03	13,53±0,52	19,26±0,38	2,97±0,05	7,71±0,05
8	C*	6,08±0,02	14,20±0,17	20,09±0,01	10,33±0,23	17,02±0,04
9	H*, °	27,20±0,23	72,33±0,09	73,43±0,32	16,72±0,09	26,94±0,02

**Rezultatele sunt prezentate ca medie ± abatere standard.*

Analizând datele din tabelul 5.6, se observă similitudinea mai multor parametri cum ar fi: pH, densitatea, aciditatea totală. O diferență semnificativă se observă la indicii culorii determinați prin metoda CIELab. Pentru două probe, PiS(26,95) și MV(28,93), valoarea L - luminozitatea - s-a obținut mai mare, ceea ce demonstrează ca probele emit mai multă lumină. Rezultatele probelor PrL, CB și ZM la valoarea L a variat de la 14,27 până la 17,94, ceea ce confirmă prezența culorii mai închisă, adică băuturile emit mai puțină lumină. Componentele a* și b* sunt pozitive, ceea ce denotă că culoarea probelor este cuprinsă în intervalul roșu-portocaliu-galben. Culoarea roșie, dominantă în probele CB și ZM, se datorează extracției de antocieni din fructe, iar dominarea culorii galbene în probele MV și PiS se datorează extracției de carotenoide.

De asemenea, băutura MV are o culoare saturată, deoarece valoarea cromaticității C* se află mai departe de originea sistemului de coordonate, constituind 20,09. În cazul băuturii PrL valoarea C* este de 6,08 fiind în apropierea originii sistemului de coordonate, demonstrând prezența nuanțelor de culoarea gri și respectiv intensitatea culorii este redusă. Rezultatele H* a băuturilor arată că ele să afle în cadranul I trigonometric. Se atestă că în băuturile ZM, CB și PrL culoarea roșie este predominantă, având H* 16,72°, 26,94° și 27,2° respectiv. În băuturile PiS și MV unghiul de nuanță a constituit 72,33° și 73,43°, respectiv predomină culoarea galbenă.

5.5.2. Caracteristicile microbiologice

Caracteristicile microbiologice au fost determinate pentru cinci probe de băuturi nealcoolice elaborate din diverse fructe sau pomușoare cu oțet din vin alb. Probele cu băuturi au fost păstrate în recipiente din sticlă cu capac ermetic la temperatura 3±1⁰C. Pentru determinarea microbiotei băuturilor nealcoolice au fost utilizate 2 tipuri de medii: Sabouraud și Agar. Au fost descrise proprietățile culturale și morfologice după colorarea și microscopia coloniilor cu determinarea numărului total de microorganisme. Rezultatele sunt inserate în tabelul 5.7, în funcție de dinamica păstrării timp de 6 luni.

Tabelul 5.7. Dinamica dezvoltării microbiotei băuturilor

Băuturi	Durata de păstrare a probelor, zile	NMMAFA, (UFC)/cm ³ maximal	Bacterii coliforme, nu se admit (cm ³):	Drojdii și mucegaiuri, UFC/cm ³ maximal	M/o patogene, nu se admit în (cm ³):
Conform HG 934 din 15.08.2007	Până la 30 de zile	30	333	100	25
PrL, PiS, MV, CB, ZM	1	n.d	n.d.	n.d.	n.d.
PrL	30	0,9×10	n.d.	n.d.	n.d.
PiS		1,3×10	n.d.	n.d.	n.d.
MV		0,2×10	n.d.	n.d.	n.d.
ZM		1,4×10	n.d.	n.d.	n.d.
CB		0,3×10	n.d.	n.d.	n.d.
PrL	180	1,2×10	n.d.	n.d.	n.d.
PiS		3,8×10 ²	n.d.	n.d.	n.d.
MV		1,3×10	n.d.	n.d.	n.d.
ZM		1,8×10 ²	n.d.	1	n.d.
CB		0,5×10	n.d.	2	n.d.

Notă. n.d. – nu s-a depistat

S-a efectuat analiza microbiologică a băuturilor nealcoolice elaborate în funcție de evoluția microbiotei în timpul păstrării până la 6 luni. E cunoscut faptul că fructele și pomușoarele proaspete conțin diverse populații de bacterii și drojdii. Aceste microorganisme pot fi înlăturate total sau parțial prin procesul de spălare în dependență de structura și starea suprafeței produsului [201].

Analizând evoluția microbiotei conform datelor din tabelul 5.7, se observă că băuturile sunt preparate în condiții igienice corecte, iar prezența acidului acetic joacă un rol important antimicrobian și conservant. Putem menționa că în timpul preparării, sub acțiunea acidului acetic, unele microorganisme din băuturi trec în stare de anabioză. Abia după păstrarea timp de 30 zile la temperatura de 3±1°C se observă o creștere nesemnificativă a numărului de microorganisme ce se încadrează în limita admisibilă menționată în HG nr. 934 [202]. În concluzie putem afirma că durata de valabilitate a băuturilor este de 30 zile. Pentru unele băuturi (PiS și ZM) păstrate timp de 180 zile, se observă dezvoltarea coloniilor unice de micromicete. Acest fenomen se datorează microflorei specifice și structurii anatomice a pomușoarelor (căpșune, zmeură), care este mai numeroasă și variată comparativ cu microflora fructelor (mere, prune).

5.5.3. Caracteristicile organoleptice

Aprecierea calității băuturilor nealcoolice se face în urma determinării indicilor fizico-chimici și organoleptici. Caracteristicile calității evaluate prin metode organoleptice sunt

parametrii apreciați în mod prioritar de către consumatori. Evaluarea organoleptică a calității băuturilor nealcoolice a fost efectuată de un grup de degustători format din zece voluntari.

Calitățile senzoriale (aspect, miros, culoarea, consistență, gust, post-gust) ale sortimentului de băuturi nealcoolice elaborate au fost apreciate după scara de punctaj. În baza rezultatelor punctajelor medii ale analizei senzoriale a 5 probe de băuturi nealcoolice elaborate din diverse fructe și pomușoare autohtone a fost construită diagrama din figura 5.1.

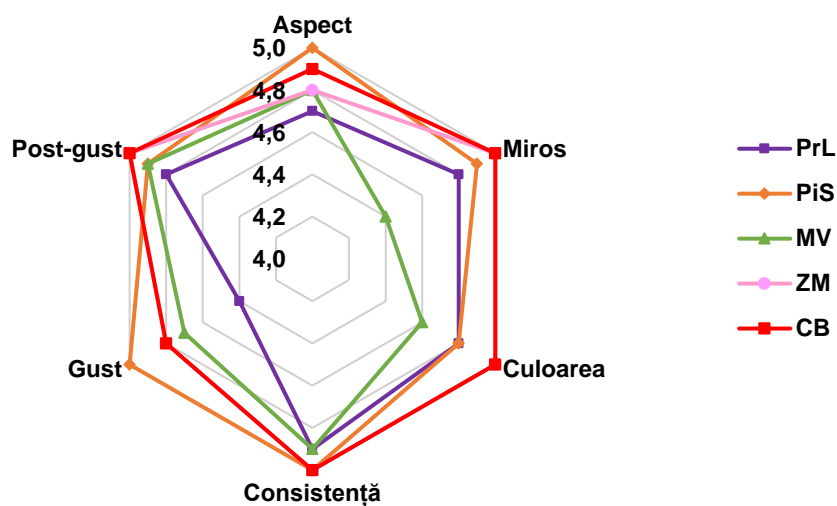


Fig. 5.1. Profilul senzorial al probelor

Așadar, putem concluziona că toate băuturile nealcoolice analizate au prezentat gust și aromă dulce cu nuanță acrie corespunzătoare ingredientelor din care au fost obținute. Unii degustători au sesizat o nuanță slabă de oțet, dar acest lucru nu a afectat în mod negativ opiniile referitor la calitatea băuturilor nealcoolice.

De asemenea, degustătorii au evaluat capacitatea băuturilor de a da o senzație de ușurință și propețime, deosebit de importantă pentru băuturile răcoritoare consumate pe timp de vară. Băuturilor nealcoolice elaborate au aspect și consistență asemănătoare cu ale băuturilor carbogazoase din comerț și culoarea deschisă a materiilor prime utilizate (galben-deschis, roz-deschis etc.).

În baza datelor din figura 5.1, cele mai apreciate băuturi nealcoolice au fost PiS și ZM cu scara de punctaj de 5,0 puncte. Pe locul doi s-a plasat CB cu un punctaj de 4,9. Pe locul trei s-a situat MV cu 4,85 puncte și pe locul patru - PrL acumulând 4,7 puncte. Băutura PrL a acumulat cele mai puține puncte, deoarece nu toți degustătorii agreează gustul de levănțică. Media generală pentru toate tipurile de băuturi nealcoolice apreciate a constituit 4,89 puncte din 5,0 posibile, ceea ce este un indicator suficient de înalt pentru a satisface cererea unui număr mare de consumatori și pentru a devini un produs competitiv cu băuturile nealcoolice din comerț.

5.6. Concluzii la capitolul 5

În urma rezultatelor analizate mai sus au fost formulate următoarele concluzii:

1. A fost propusă o modalitate nouă de valorificare a oțetului din vin la fabricarea băuturilor nealcoolice cu utilizarea fructelor, pomușoarelor și plantelor aromatice în scopul diversificării sortimentului băuturilor răcoritoare din produsele naturale autohtone.

2. Au fost elaborate rețetele și schema tehnologică de producere pentru cinci tipuri de băuturi. Rezultatele obținute au demonstrat că valoarea energetică a băuturilor elaborate este apropiată de cea a băuturilor din comerț. Avantajul băuturilor elaborate constă în faptul că sunt obținute din materii prime naturale autohtone, pe când cele din comerț conțin un șir de aditivi artificiali. Prin urmare, băuturile obținute pot fi oferite ca alternativă sănătoasă și naturală a băuturilor dulci, și pot fi recomandate pentru servire și în unitățile de alimentație publică [203].

3. În baza rezultatelor obținute privind IG al băuturilor nealcoolice elaborate s-a constatat că acestea să referă la băuturi cu IG scăzut (PrL-41 IG, PiS-36 IG, MV-49 IG, ZM-47 IG, CB-49 IG). S-a confirmat că prezența oțetului natural în cantitate de 10%/L în compoziția băuturilor nealcoolice elaborate a fost eficient în reducerea nivelului postprandial de glucoză și insulină și este considerat un adjuvant eficient pentru îmbunătățirea controlului glicemic [204].

4. Au fost cercetate principalele caracteristici fizico-chimice, cromatice, microbiologice și organoleptice ale băuturilor elaborate. S-a constatat o similitudine a mai multor parametri fizico-chimici. O diferență semnificativă s-a observat pentru indicii cromatici. Pentru băuturile PiS și MV luminozitatea a fost de 26,95 și 28,93 respectiv, iar pentru PrL, CB și ZM a variat de la 14,27 până la 17,94. Analiza microbiologică a băuturilor elaborate păstrate până la 6 luni a constatat că sub acțiunea acidului acetic, unele microorganisme din băuturi trec în stare de anabioză. Abia după de 30 zile de păstrare la temperatura de $3\pm 1^{\circ}\text{C}$ se observă o creștere nesemnificativă a numărului de microorganisme ce se încadrează în limita admisibilă menționată în HG nr. 934.

5. S-a evaluat calitatea băuturilor elaborate cu ados de oțet de vin alb prin analiza senzorială (aspect, miros, culoare, consistență, gust, post-gust), fiind în corespundere cu datele din reglementările tehnice pentru băuturi. S-a constatat, că toate băuturile nealcoolice au prezentat gust și miros dulce cu nuanță acrie corespunzătoare ingredientelor din care au fost obținute. Degustătorii au sesizat o nuanță slabă de oțet, dar acest lucru nu a afectat în mod negativ opiniile referitor la calitatea băuturilor nealcoolice. Cele mai apreciate băuturi au fost PrS și ZM cu un punctaj mediu de 5,0 puncte.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

Cercetările și analiza rezultatelor obținute în cadrul tezei de doctor „OPTIMIZAREA TEHNOLOGIEI ȘI CARACTERIZAREA CALITĂȚII OȚETULUI DIN VIN AUTOHTON” au condus la formularea următoarelor concluzii:

1. Pentru prima dată a fost izolată din materii prime autohtone o tulpină nouă de bacterii acetice cu proprietăți biotehnologice valoroase. În urma realizării testelor biochimice și aplicării metodei RT-PCR s-a constatat cu siguranță apartenența tulpinii izolate la genul *Acetobacter*. Tulpina *Acetobacter aceti CNMN-AcB-01* a fost depozitată în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene din cadrul Institutului de Microbiologie și Biotehnologie. În urma testării tulpinii *Acetobacter aceti CNMN-AcB-01* în condiții industriale la întreprinderea „V. DEVELOP” SRL s-a constatat interesul practic al utilizării acesteia în producerea oțetului din vin autohton (capitolul 3) [130 -132].

2. A fost studiată posibilitatea obținerii oțetului din suc concentrat din struguri albi și impactul adăugării nutrimentelor asupra fermentării alcoolice și acetice. S-a constatat că adăugarea nutrimentelor în procesul de fermentare acetică în cantități de 0,135g/L-(NH₄)₂SO₄; 0,005g/L-K₂CO₃ și 2,7g/L-C₁₂H₂₂O₁₁ contribuie la acumularea acidului acetic cu 33% (subcapitolul 4.3.2) [190].

3. S-a demonstrat posibilitatea utilizării vinului sulfitat (cu conținutul de 80, 160, 240 și 320 mg/dm³ de SO₂) pentru fabricarea oțetului. S-a stabilit că doza până la 160 mg/dm³ SO₂ permite desfășurarea procesului de fermentare acetică în vinul sulfitat fără abateri și acumularea acidului acetic în cantitate minim admisibilă de 60 g/L (subcapitolul 4.4.2) [191].

4. S-a cercetat influența diferitor cantități (10, 20, 30, 40 și 50%) de oțet-maia obținut prin valorificarea tulpinii izolate *Acetobacter aceti CNMN-AcB-01* asupra parametrilor fizico-chimici ai oțetului. S-a demonstrat că cantitatea de 30% de oțet-maia asigură atingerea valorii minime de acid acetic de 60 g/L la a 14 zi de fermentare (subcapitolul 4.4.3) [148].

5. S-a demonstrat că utilizarea substratului micșorează durata procesului de fermentare acetică de circa 2 ori și influențiază neesențial parametrii fizico-chimici ai oțetului. Totodată coajă de nucă modifică semnificativ culoarea produsului finit. Astfel valoarea Ic a crescut de la 0,69 până la 20,70, totodată ΔE*(26,90) demonstrează modificări importante a culorii (subcapitolul 4.4.4) [170].

6. S-a demonstrat că intensitatea procesului de limpezire a oțetului din vin alb este maximă în primele 10 minute, urmată de o scădere esențială a ratei de clarificare. Au fost stabilite condițiile optime pentru limpezirea oțetului din vin alb după cum urmează: doza de agent de limpezire - 2

g/L; timpul de agitare - 3 min.; timpul de contact - 10 min.; separarea agentului de limpezire prin centrifugare la 3000 min⁻¹ timp de 3 min. (subcapitolul 4.5) [172, 176].

7. În baza cercetărilor a fost elaborată instrucțiunea tehnologică IT MD 67-41184408-01:2021 privind fabricarea oțetului din vin; efectuate încercări de testare a culturii de bacterii acetice *Acetobacter aceti CNMN-AcB-01*; optimizată schema-bloc de obținere a oțetului din vin alb. Rezultatele obținute au permis brevetarea procedurii de obținere a oțetului din vin alb (subcapitol 4.7) [189].

8. Au fost elaborate rețete și schema tehnologică pentru cinci băuturi nealcoolice cu valorificarea oțetului din vin alb obținut. S-a demonstrat că valoarea energetică a băuturilor elaborate se încadrează în intervalul de la 45,93 până la 47,98 kcal/100 mL și este apropiată de cea a băuturilor din comerț (de la 42,00 până la 75,60 kcal/100 mL). Avantajul băuturilor elaborate este argumentat de utilizarea materiilor prime naturale autohtone și prezintă o alternativă sănătoasă a băuturilor din comerț (subcapitol 5.3) [203].

9. S-a constatat că în urma consumului băuturilor nealcoolice elaborate acestea se referă la băuturi cu IG scăzut (PrL-41 IG, PiS-36 IG, MV-49 IG, ZM-47 IG, CB-49 IG). S-a confirmat că prezența oțetului natural în cantitate de 10%/L a fost eficientă în reducerea nivelului postprandial de glucoză și insulină, ceea ce confirmă eficiența lui în îmbunătățirea controlului glicemic (subcapitolul 5.4) [204].

Problema științifică importantă soluționată. Pentru prima dată a fost izolată, caracterizată, identificată și pașaportizată o tulpină nouă de bacterii acetice *Acetobacter aceti* *CNMN-AcB-01*, ceea ce a condus la optimizarea tehnologiei de obținere a oțetului din vin alb cu valorificarea cojii de nuci grecești în calitate de substrat, fapt ce a permis eficientizarea procesului de fabricare a oțetului și îmbogățirea lui cu substanțe minerale, indici cromatici și organoleptici.

În baza rezultatelor obținute au fost formulate următoarele **recomandări**:

- Fabricarea oțetului din vin alb în condiții industriale cu utilizarea cantității de min. 30% a maielei obținute prin valorificarea tulpinii *Acetobacter aceti* *CNMN-AcB-01* izolată din materie primă autohtonă.
- Utilizarea nutrimenților la fermentarea acetică în cantitatea optimală de: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 0,135 g/L, K_2CO_3 - 0,005 g/L și $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ - 2,7 g/L.
- Fabricarea oțetului din vin comercial cu un conținut de anhidridă sulfuroasă de maxim 160 mg/dm³.
- Utilizarea cojii de nuci grecești (*Juglans Regia L.*) în calitate de substrat pentru inocularea cu bacteriile acetice *Acetobacter aceti* *CNMN-AcB-01* în raport de 1:4 (coajă:vin).
- Valorificarea oțetului din vin alb autohton în cantitate de 10%/L, în calitate de conservant natural la fabricarea băuturilor nealcoolice.

BIBLIOGRAFIE

1. DAVID, T. *Impactul microelementelor și biofertilizanților asupra realizării potențialului de productivitate și rezistență a viței-de-vie*, tz. de doct. în științe agricole, Chișinău 2021. 130 p.
2. BÎLICI, C. *Argumentarea producerii și protecția spumantelor clasice cu denumire de origine „CRICOVA”*, tz. de doct. în științe tehnice, Chișinău 2021. 158p.
3. ARHIP, V., SCUTARU, I. Vine culture in the Republic of Moldova at the beginning of the third millennium. In: *Journal of social sciences*. 2019, II(2), pp. 87–94. ISSN 2587-3490 [citât 03.09.2022]. Disponibil: <http://doi.org/10.5281/zenodo.3235248>
4. Oficiul Național al Viei și Vinului, *Raport anual 2019* [citât 03.09.2022]. Disponibil: <http://www.wineofmoldova.com/wp-content/uploads/2021/02/RAPORT-ANUAL-2019.pdf>
5. Programul de Vecinătate al Uniunii Europene, *Evaluarea situației privind agricultura și dezvoltarea rurală în țările parteneriatului estic Republica Moldova*, FAO [citât 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.fao.org/3/aq675ro/aq675ro.pdf>
6. DAYAN, F. E., DUKE, S. O. Natural Products for Weed Management in Organic Farming in the USA. In: *Outlooks on Pest Management*. 2010, Vol. 21, № 4, pp. 156-160. ISSN 1743-1026 [citât 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1564/21aug02>
7. GAINA, B. Raport științific final privind executarea proiectului de cercetări științifice 18.80015.5007.222T, *Elaborarea biotehnologiei și implementarea liniei moderne de producere a oțetului heresat natural condimentat de calitate înaltă, competitiv pe piața internă și externă 2018-2020*. Chișinău 2019 [citât 03.09.2022]. Disponibil: <https://ancd.gov.md/sites/default/files/document/attachments/Raport%20final%20222T.PDF>
8. BECEANU, D., ANGHEL, R.M. Assortment of vinegar of supermarkets in iași: qualitative assessment according to eu standards. In: *Cercetari agronomice in Moldova (Romania)*. 2010, Vol. XLIII , nr. 2 (142) pp. 55–64. Online: ISSN 2784 - 0360 [citât 03.09.2022]. Disponibil: http://www.uaiasi.ro/CERCET_AGROMOLD/CA2-10-07.pdf
9. BEGEA, M., STROIA, I., BEGEA, P. Tehnologie și sortimente de oțet competitive pe plan european, *Lucrări științifice*. In: *Seria Agronomie*, USAMV Iași. 2007, vol. 50, pp. 281–286. ISSN(print): 1454-7414 [citât 03.09.2022]. Disponibil: http://www.uaiasi.ro/revagrois/PDF/2007s_281.pdf
10. HORIUCHI, J., KANNO, T., KOBAYASHI, M. New vinegar production from onions. In: *Journal of bioscience and bioengineering*. 1999, nr. 88(1), pp. 107–109. ISSN 1389-1723 [citât 03.09.2022]. Disponibil: [https://doi.org/10.1016/s1389-1723\(99\)80186-8](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(99)80186-8)
11. VEGAS, C., MATEO, E., GONZÁLEZ, A. et al. Population dynamics of acetic acid bacteria during traditional wine vinegar production. In: *International journal of food microbiology*. 2010, nr. 138(1-2), p.130–136. ISSN 0168-1605 [citât 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.006>

12. FISCHERAURER, A. *Oțet și muștar. Produse pregătite în casa*. Editura: MAST, 2019, 128 p. ISBN: 9786066491099.
13. HAILU, S., ADMASSU, S., YOGESH, K., J. Vinegar Production Technology—An Overview. In: *Beverage and Food World*. 2012, nr. 3(2), pp. 139-155. [citată 03.09.2022]. Disponibil: https://www.researchgate.net/publication/280722745_Vinegar_Production_Technology_-_An_Overview
14. BOISTEAN, A. Aspects of vinegars production and marketing in Moldova. In: *Journal of social sciences*. 2021, nr.IV(2). ISSN 2587-3490 [citată 03.09.2022]. Disponibil: [https://doi.org/10.52326/jss.utm.2021.4\(2\).13](https://doi.org/10.52326/jss.utm.2021.4(2).13)
15. BOGDAN, N. *Valorificarea tulpinilor microbiene izolate din lapte de capră pentru aplicare industrială*: tz. de doct. în biologie, Chișinău, 2020. 170p.
16. NARDI, T., BORDIGA, M. Fermentation Process. In *Post-Fermentation and-Distillation Technology*. CRC Press, 1st Edition, 2017. pp. 1-40. ISBN:9781315155050.
17. ZOECKLEIN, B.W., FUGELSANG, K.C, GUMP, B.H. et al. Tartaric acid and its salts. In: Zoecklein BW, Fugelsang KC (eds) *Production wine analysis*. Springer, Boston, 1990. 289–315p. ISBN978-1-4615-8148-2 [citată 03.09.2022]. Disponibil: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8146-8_13
18. PRESCOTT, S.,C., DUNN, G., C. *Industrial microbiology* (3 rd ed). New York McGraw-Hill Company, 1959. p. 945. ISBN-10:0070507481.
19. XIA, T., ZHANG, B., DUAN, W., ZHANG, J., WANG, M. Nutrients and bioactive components from vinegar: A fermented and functional food. In: *Journal of Functional Foods*. 2020, vol. 64, 103681. ISSN 1756-4646 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103681>
20. HUTCHINSON, U.F., GQOZO, S., JOLLY, N.P. et al. Aeration, Agitation and Cell Immobilization on Corncoobs and Oak Wood Chips Effects on Balsamic-Styled Vinegar Production, In: *Foods*. 2020, no.8:303 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.3390/foods8080303>
21. GOMES, R. J., BORGES, M. F., ROSA, M. F. et al. Acetic Acid Bacteria in the Food Industry: Systematics, Characteristics and Applications. In: *Food technology and biotechnology*. 2018, nr. 56(2), pp.139–151. ISSN 1330-9862 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.17113/ftb.56.02.18.5593>
22. MAMLOUK, D., GULLO, M. Acetic Acid bacteria: physiology and carbon sources oxidation. In: *Indian journal of microbiology*. 2013, nr. 53(4), pp.377–384 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1007/s12088-013-0414-z>
23. SHARAFI, S., RASOOLI, I., BEHESHTI-MAAL, K. Isolation, characterization and optimization of indigenous acetic acid bacteria and evaluation of their preservation methods. In: *Iran J Microbiol*. 2010, nr. 2(1), pp.38-45. PMID: 22347549; PMCID: PMC3279764.
24. KADERE, T., MIYAMOTO, T., ONIANO, R., KUTIMA, P., NJOROGE, S. Isolation and identification of the genera Acetobacter and Gluconobacter in coconut toddy (mnazi). In: *African Journal of Biotechnology*. 2008, vol. 7 (16), pp. 2963-2971. ISSN 1684–5315.

25. TEYSSIER, C., HAMDUCHE, Y. Acetic Acid Bacteria Prospective Applications in Food Biotechnology. In book: *Fermented foods, Part 1: Biochemistry and Biotechnology*, Publisher: *CRC Press Taylor and Francis*, 2016. ISBN-13: 978-1-4987-6369-1 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <http://ndl.ethernet.edu.et/bitstream/123456789/65644/1/Ilkin%20Yucel%20Sengun%202017.pdf>
26. VEGAS, C., MATEO, E., GONZÁLEZ, A., JARA, C. et al. Population dynamics of acetic acid bacteria during traditional wine vinegar production. In: *Int J Food Microbiol.* 2010, Mar 31;138(1-2), pp.130-136. ISSN 0168-1605 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.006>
27. TRCEK, J., JERNEJC, K., MATSUSHITA, K. The highly tolerant acetic acid bacterium *Gluconacetobacter europaeus* adapts to the presence of acetic acid by changes in lipid composition, morphological properties and PQQ-dependent ADH expression. In: *Extremophiles.* 2007, 11(4), pp.627-35 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1007/s00792-007-0077-y>
28. RASPOR, P., GORANOVIC, D. Biotechnological applications of acetic acid bacteria. In: *Crit Rev Biotechnol.* 2008, nr.28(2), pp.101-24. DOI: 10.1080/07388550802046749 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1080/07388550802046749>
29. AKASAKA, N., SAKODA, H., HIDESE, R. et al. An efficient method using *Gluconacetobacter europaeus* to reduce an unfavorable flavor compound, acetoin, in rice vinegar production. In: *Applied and environmental microbiology.* 2013, nr.79(23), pp.7334–7342 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1128/AEM.02397-13>
30. ILABACA, C., NAVARRETE, P., MARDONES, P., ROMERO, J., MAS, A. Application of culture culture-independent molecular biology based methods to evaluate acetic acid bacteria diversity during vinegar processing. In: *Int J Food Microbiol.* 2008, vol. 126, i.1–2, pp.245-249. ISSN 0168-1605 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.05.001>
31. VEGAS, C., MATEO, E., GONZALEZ, A. et al. Population dynamics of acetic acid bacteria during traditional wine vinegar production, In: *International Journal of Food Microbiology.* 2010, 138 (1–2), pp.130-136, ISSN 0168-1605 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.006>
32. BAMFORTH, W.C. Vinegar. In: *Food, fermentation and micro-organisms. Blachwell Science. Kundli.* Chapter 9, 2005. p.154-159. ISBN:9780632059874 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1002/9780470995273.ch9>
33. HARVEY, L., ARNOLD, B., ZIPURSKY S. L., MATSUDAIRA, P. et al. *Molecular Cell Biology* (4th edition). *Freeman & Co., New York, NY.* 2000, pp.1084. ISBN 0-7167-3136-3 [citat 03.09.2022]. Disponibil: [https://doi.org/10.1016/S1470-8175\(01\)00023-6](https://doi.org/10.1016/S1470-8175(01)00023-6)
34. ORY, I. D., ROMERO, L. E., CANTERO, D. Modelling the kinetics of growth of *Acetobacter aceti* in discontinuous culture: influence of the temperature of operation. In: *Applied Microbiology and Biotechnology.* 1998, nr. 49, pp.189-193 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1007/s002530051157>
35. HOLT, J.G., KRIEG, N.R., SNEATH, P. et al. Genus *Acetobacter* and *Gluconobacter*. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 19th edn. *Williams and Wilkens.* 1994. pp. 84. ISBN-13: 978-0683006032.

36. SOLIERI, L., GIUDICI, P. *Vinegars of the world*. Berlin: Springer. 2009. 297p. ISBN 978-88-470-0866-3 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1007/978-88-470-0866-3>
37. ZANCANARO, O. *Otimização do processo lento de fermentação acética*. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, 1988, p.69.
38. HUTKINS, R.W. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Chapter 11, Vinegar Fermentation. John Wiley & Sons, Ltd, 2006. 397-417 p. ISBN: 978-0-813-80018-9 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1002/9780470277515.ch11>
39. MARTIN, G.G., SYMONDS, P., LEES, M., MARTIN, M.L. Authenticity of fermented beverages. In: Lea A.G.H., Piggott J.R. (eds) *Fermented Beverage Production*. Springer, Boston. 1995. ISBN 978-1-4757-5216-8 [citat 03.09.2022]. Disponibil: https://doi.org/10.1007/978-1-4757-5214-4_15
40. SHUKLA, P., AKSHAY, S., ASHOK, S. Food additives from an organic chemistry perspective. In: *MOJ Biorg Org Chem*. 2017, nr.1(3), pp.70-79. DOI: 10.15406/mojboc.2017.01.00015
41. DE-ORY, L., ROMERO, L.E., CANTERO, D. Maximum yield acetic acid fermenter. In: *Bioprocess Engineering*. 1999, nr. 21, pp.187-190 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1007/s004490050661>
42. LYNCH, K.M., ZANNINI, E., WILKINSON, S., DAENEN, L., ARENDT, E.K. Physiology of Acetic Acid Bacteria and Their Role in Vinegar and Fermented Beverages. In: *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019, nr.18, pp.587-625 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12440>
43. BOHUMIL SIKYTA. Progress in Industrial Microbiology. In: *Elsevier*. 1995, vol. 31, pp.170-208, ISSN 0079-6352 [citat 03.09.2022]. Disponibil: [https://doi.org/10.1016/S0079-6352\(06\)80062-7](https://doi.org/10.1016/S0079-6352(06)80062-7)
44. VOGELBUSCH GMBH. *Process for the batch-wise production of vinegar*. Inventor: Franz Nodes. patent EP 0098826A1. 1982.
45. GARCÍA-GARCÍA, I., SANTOS-DUEÑAS, I.M., JIMÉNEZ-OT, C., et al. Vinegar Engineering. In: Solieri L., Giudici P. (eds) *Vinegars of the World*. Springer, Milano. 2009, pp. 97–120. ISBN978-88-470-0865-6 [citat 03.09.2022]. Disponibil: https://doi.org/10.1007/978-88-470-0866-3_6
46. HEINRICH FRINGS GmbH and Co KG. *Two stage process for the production of vinegar with high acetic acid concentration*. Inventor: Heinrich Ebner, Anton Enenkel. patent US4076844A. 1975.
47. SPINOSA, W. A., SANTOS JÚNIOR, V. D., GALVAN, D., FIORIO, J. L., GOMEZ, R. J. Vinegar rice (*Oryza sativa* L.) produced by a submerged fermentation process from alcoholic fermented rice. In: *Food Science and Technology*. 2015, nr. 35(1), pp. 196-201. ISSN 1678-457X [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6605>
48. PEPPLER, H.J., BEAMAN, R.G. Microbial technology. In: Yeoman. Chapter 13 Vinegar fermentation. Illinois: Reinhold Publishing Corporation. 1967. 344-359 p. ISBN: 9781483268279
49. BOURGEOIS, C.M., LARPENT, J.-P. Microbiologie Alimentaire : aliments fermentés et fermentations alimentaires. *Edition Techniques et documentations*, (Tome 2) 1996, 623 p. ISBN 13 : 9782743000806.

50. PERLMAN, D. *Advances in Applied Microbiology*, Academic Press, 1977, pp.92-94. ISBN 0080564348.
51. QI, Z., YANG, H., XIA, X., et al. Achieving high strength vinegar fermentation via regulating cellular growth status and aeration strategy. In: *Process Biochemistry*, 2014, vol. 49(7), pp. 1063-1070. ISSN 1359-5113 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.03.018>
52. GHOSH, S., CHAKRABORTY, R., CHATTERJEE, G., RAYCHAUDHURI, U. Study on fermentation conditions of palm juice vinegar by response surface methodology and development of a kinetic model. In: *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2012, nr. 29(3), pp.461-472 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1590/S0104-66322012000300003>
53. INÈS PEYRET. *Vinaigres à tout faire*. Editions du Dauphin, 8e édition. 2008. 272 p. ISBN-13 : 978-2716315203.
54. MIRANDA, L., GOMES, R. J., MANDARINO, J., IDA, E. I., SPINOSA, W. A. Acetic Acid Fermentation of Soybean Molasses and Characterisation of the Produced Vinegar. *Food technology and biotechnology*. 2020, nr. 58(1), pp. 84–90. DOI: 10.17113/ftb.58.01.20.6292. PMID: 32684792; PMCID: PMC7365339 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.17113/ftb.58.01.20.6292>
55. NIETO, J., GONZALEZ-VINAS, M.A, BARBA, P. et al. Recent progress in wine vinegar R&D and some indicators for the future. In: Charalambous G (Edition). *Food Flavour and Ingredients*. Elsevier Science, Amsterdam. 1993. 469-500 p. ISSN : 0167-4501.
56. Hotărârea Guvernului a RM nr.1403 din 09.12.2008 cu privire la aprobarea „Reglementării tehnice Oțeturi și acid acetic de uz alimentar”. Publicat: 02.11.18 în: *Monitorul Oficial al Republicii Moldova* nr. 410-415, art. nr.1109.
57. SM SR EN 13188:2012 Oțet. Produs fabricat din lichide de origine agricolă. Definiții, prescripții, marcare. *Catalogul standardelor naționale ale Republicii Moldova* : [în 2 vol.] / Inst. Naț. De Standardizare (INS). – Publicație oficială. – Chișinău : Institutul Național de Standardizare, 2014. – ISBN 978-9975-9526-5-1.
58. GOST 32097-2013. Vinegars of food raw material. General specifications. Date of introduction: 2014-07-01. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology: Moscow, Russian, 2014.
59. BUDAK, N.H., AYKIN, E., SEYDIM, A.C. et al. Functional Properties of Vinegar. In: *Jurnal of Food Science a publication of the Institute of Food Technologists*. 2014, vol. 79, nr. 5, pp. R757-R764 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12434>
60. MARQUES, F.P.P., SPINOSA, W., FERNANDES, K. F., CASTRO, C. F. S., CALIARI, M. Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais. In: *Food Science and Technology*. 2010, nr. 30 (Suppl. 1), p119-126. ISSN 1678-457X [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000500019>
61. Codex Stan 162-1987, Codex Alimentarius Volume 11: Codex Standard for Vinegar, *FAO/WHO Joint Publications*, 1987.

62. Real Decreto 661/2012, de 13 de abril, por el que se establece la norma de calidad para la elaboración y la comercialización de los vinagres, *Ministerio de la Presidencia «BOE»* núm. 100, de 26 de abril de 2012 Referencia: BOE-A-2012-5529 [citad 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.boe.es/buscar/pdf/2012/BOE-A-2012-5529-consolidado.pdf>
63. TEFAYE, W., MORALES, M.L., GARCÍA-PARRILLA, M.C., TRONCOSO, A.M. Improvement of Wine Vinegar Elaboration and Quality Analysis: Instrumental and Human Sensory Evaluation, In: *Food Reviews International*. 2009, nr. 25:2, pp. 142-156, DOI: 10.1080/87559120802682748.
64. CHINNICI, F., DURÁN-GUERRERO, E. RIPONI, C. Discrimination of some European vinegars with protected denomination of origin as a function of their amino acid and biogenic amine content. In: *J. Sci. Food Agric*. 2016, nr.96(11), pp. 3762-3771 [citad 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1002/jsfa.7566>
65. MENEGUZZO, J., RIZZON, L. A. Sistema de Produção de Vinagre. *Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho*. 2002. 31p. ISSN 1678-8761 [citad 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/538944/1/Doc36.pdf>
66. CALLEJÓN, R. M., M. J. TORIJA, A. MAS, MORALES, M. L., TRONCOSO, A. M. Changes of volatile compounds in wine vinegars during their elaboration in barrels made from different woods, In: *Food Chemistry*. 2010, vol. 120, nr. 2, pp. 561–571. ISSN 0308-8146 [citad 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.026>
67. CALLEJÓN, R.M., TEFAYE, W., TORIJA, M.J. et al. Volatile compounds in red wine vinegars obtained by submerged and surface acetification in different woods. In: *Food Chemistry*. 2009, vol. 113, Issue 4, pp.1252-1259. ISSN 0308-8146 [citad 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.027>
68. CALLEJÓN, R. M., MORALES, M. L., SILVA FERREIRA, A. C., TRONCOSO, A. M. Defining the typical aroma of Sherry vinegar: sensory and chemical approach. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008, vol. 56, nr. 17, pp. 8086–8095. Online ISSN: 1520-5118 [citad 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1021/jf800903n>
69. GARCÍA-PARRILLA, M. C., HEREDIA, F. J., TRONCOSO, A. M. The influence of the acetification process on the phenolic composition of wine vinegars. In: *Sciences des Aliments*. 1998, vol. 18, nr. 2, pp. 211–221. ISSN : 0240-8813 [citad 03.09.2022]. Disponibil: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR1998003978>
70. ANDLAUER, W., STUMPF, C., FÜRST, P. Influence of the Acetification Process on Phenolic Compounds. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, nr. 48 (8), pp. 3533-3536 [citad 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1021/jf000010j>

71. GARCÍA-PARRILLA, M. C., HEREDIA, F. J., TRONCOSO, A. M. Sherry wine vinegars: phenolic composition changes during aging. In: *Food Research International*. 1999, vol.32, nr.6, pp.433–440. ISSN 0963-9969 [citat 03.09.2022]. Disponibil: [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(99\)00105-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00105-2)
72. TESFAYE, W., MORALES, M.L., GARCIA-PRAILLA, M.C., TRONCOSO, A.M. Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. In: *Trends in Food Science and Technology*. 2002, nr.13, pp.12-21. ISSN 0924-2244 [citat 03.09.2022]. Disponibil: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00023-7)
73. SCHMOELLER, R., BALBI, M. Caracterização e controle de qualidade de vinagres comercializados na região metropolitana de Curitiba/PR (Characterization and quality control of vinegar marketed in metropolitan region curitiba / PR). In: *Visão Acadêmica*, Curitiba. 2010, v. 11, n. 2, pp. 80-92. ISSN 1518-5192.
74. CANNON, R.E. *Acetobacter xylinum* - Biotechnology and Food Technology In Electrotransformation of Bacteria. *Springer-Verlag*, Germany 2000, pp.104-107. ISBN 978-3-642-08593-2 [citat 03.09.2022]. Disponibil: https://doi.org/10.1007/978-3-662-04305-9_12
75. NICKOL, G.B. Microbial Technology (Second Edition) Chapter 6 – Vinegar. *Academic Press*. 1979, pp.155-172. ISBN 9780125515023 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-551502-3.50011-6>
76. BOURGEOIS, J. F., BARJA, F. The history of vinegar. In: *Archives des sciences*. 2009, nr.62, pp.147-160 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <http://doi.org/10.5169/seals-738455>
77. BRIGGS, M. Vinegar-1001 Practical Uses. *Abbeyle Press*. 2006. 160p. ISBN13: 9781861471673.
78. SALMANNEZHAD, H., MOZAFFARPUR, S., MOJAHEDIA, M. et al. Oxymels (Sekanjabin) in Persian Medicine: Kinds and Applications. In: *Journal of Islamic and Iranian Traditional Medicine*. 2015, nr. 6(2), pp. 116-124 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <http://jiitm.ir/article-1-514-en.html>
79. REZAZADEH BARI M., JAHANGOSHAYESH T. et. al. Optimization of the formulation of Sekanjabin traditional functional drink containing basil seed. In: *FSCT*. 2021, nr.18 (112), pp.199-211 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-42089-en.html>
80. D.C. MD JARVIS. Folk Medicine: A New England Almanac of Natural Health Care from a Noted Vermont Country Doctor. *Fawcett Publications*. 1985. 192 p. ISBN 978-0-449-20880-9.
81. CORIN HIRSCH. Forgotten Drinks of Colonial New England: From Flips & Rattle-Skulls to Switchel & Spruce Beer (American Palate). *The History Press*. 2014. 128 p. ISBN-13 : 978-1626192492.
82. HLADKÁ, D., ŠTUBŇA, J. Effect of the ancient drinks on pearls (The Mystery of Cleopatra cocktail). In: *Gemologický Spravodajca*. 2012, nr.1., pp.14-22. ISSN 1338-5275.
83. AIERKEN, YIPAER. The Influence of Ancient Rome on Wine History Research Paper. *Doctoral dissertation*. Arizona State University, 2016. 274 p. [citat 03.09.2022]. Disponibil: https://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/91455/conison_1.pdf;sequence=1
84. DIETSCH, M. How to Make Shrub Syrups. *Serious eats*. 2011. 224p. ISBN13: 9781581572445.

85. DIETSCH, M. Shrubs: An Old Fashioned Drink for Modern Times. *Countryman Press*. 1st edition. 2014. 224p. ISBN-10:1581572441.
86. TOLAND, B. Spirits: Vinegary 'shrubs' are growing on people. *Pittsburgh Post-Gazette*. 2012 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.post-gazette.com/life/libations/2012/09/06/Spirits-Vinegary-shrubs-are-growing-on-people/stories/201209060415>
87. D'Ambrosio Felicia. Mind the Shrubs: A Colonial Cocktail Ingredient Is Back in Vogue. THE DRINK NATION, 2012 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://thedrinknation.com/articles/read/8002-Mind-the-Shrubs-A-Colonial-Cocktail-Ingredient-Is-Back-in-Vogue>
88. GROMET-ELHANAN Z, HESTRIN S. Synthesis of cellulose by acetobacter xylinum. 1963, Vol.85, pp. 284-292 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/jb.85.2.284-292.1963>
89. SANDULACHI, L., RUBȚOV, S., POPESCU, L., și alt. Controlul microbiologic al produselor alimentare. *Editura Tehnica-UTM*. 2017. ISBN 978-9975-45-472-8.
90. GARRITY, G. M., BRENNER, D. J., KRIEG, N. R. et al. Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume Two: The Proteobacteria (Part C), *Springer Science & Business Media*. 2006. 79 p. ISBN 9780387292984.
91. KIM, D. H., CHON, J. W., KIM, H., SEO, K. H. Development of a novel selective medium for the isolation and enumeration of acetic acid bacteria from various foods. In: *Food Control*. 2019, 106 [106717]. ISSN0956-7135 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106717>
92. MAMLOUK, D., GULLO, M. Acetic Acid Bacteria: Physiology and Carbon Sources Oxidation. In: *Indian J Microbiol*. 2013, nr.53, pp.377–384 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1007/s12088-013-0414-z>
93. ZAHOOR, T., SIDDIQUE, F., FAROOQ, U. Isolation and characterization of vinegar culture (*Acetobacter aceti*) from indigenous sources. In: *British Food Journal*. 2006, vol. 108, nr. 6, pp. 429-439 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1108/00070700610668405>
94. GOST ISO 11133-2016. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media. Date of introduction: 2017-07-01. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology: Moscow, Russian, 2016.
95. GOST 30712-2001. Products of non-alcoholic industry. Methods of microbiological analysis. Date of introduction: 2002-07-01. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology: Moscow, Russian, 2001.
96. ГРИЦКЕВИЧ, Е. Р. и др. Лабораторный практикум по микробиологии: пособие / Л12–Минск. *ИВЦ Минфина*. 2017. 113 с. ISBN 978-985-7142-96-5.
97. JOSHI, V.K., SHARMA, S. Cider Vinegar: Microbiology, Technology and Quality. In: Solieri L., Giudici P. (eds) *Vinegars of the World*. *Springer*, Milano. 2009, pp. 197–207 [citat 03.09.2022]. Disponibil: https://doi.org/10.1007/978-88-470-0866-3_12

98. XU, W., HUANG, Z., ZHANG, X. et al. Monitoring the microbial community during solid-state acetic acid fermentation of Zhenjiang aromatic vinegar. *In: Food Microbiology*. 2011, vol.28(6), pp.1175-1181. ISSN 0740-0020 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.03.011>
99. GOST 10444.12-2013 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Methods for the detection and colony count of yeasts and moulds. Date of introduction: 2015-07-01. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology: Moscow, Russian, 2014.
100. GOST ISO 17410-2013 Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms. Date of introduction: 2015-07-01. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology: Moscow, Russian, 2014.
101. SERODIO, M.H. Microbiology of Vinegar: from isolation, phenetic characterization and detection of acetic Bacteria to Microbial profiling of an industrial production. *Thesis to obtain the Master of Science Degree in Microbiology*. 2016. 56 p.
102. UK STANDARDS FOR MICROBIOLOGY INVESTIGATIONS. Catalase test. Bacteriology – Test Procedures. TP 8. Issue 4, Date: 02.04.19. p.14 [citat 03.09.2022]Disponibil: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/791639/TP_8i4.pdf
103. UK STANDARDS FOR MICROBIOLOGY INVESTIGATIONS. Potassium hydroxide test. Bacteriology – Test Procedures.TP30. Issue 4, Date: 02.04.19. 13p. [Citat 03.09.2022]. Disponibil: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/794214/TP_30i4.pdf
104. OENO 53/2000 Wine vinegars - Determination of the fixed acidity content. [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.oiv.int/public/medias/2781/oeno-53-2000-2.pdf>
105. OENO 54/2000 Wine vinegars - Determination of the volatile acid content. [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.oiv.int/public/medias/2782/oeno-54-2000-2.pdf>
106. JURNALUL OFICIAL AL UNIUNII EUROPENE. Lista și descrierea metodelor de analiză menționate la articolul 120g primul paragraf din Regulamentul (CE) nr. 1234/2007 al Consiliului 43/01. 19.02.2010. [citat 03.09.2022]. Disponibil:<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2010:043:0001:0060:RO:PDF>
107. OENO 57/2000 Wine vinegars - Determination of total dry extract content, [citat 03.09.2022]. Disponibil: <http://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/methods-of-analysis/compendium-of-methods-of-analysis-of-wine-vinegars>
108. GOST 32114-2013 The alcohol production and raw material for it producing. Methods for determination of titrating acids. Date of introduction: 2014-07-01. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology: Moscow, Russian, 2013.

109. SM GOST R 51655:2008 Produse alcoolice și materie primă pentru producerea lor. Metoda de determinare a concentrației masice a dioxidului de sulf liber și total. Data intrării în vigoare: 15.04.2008. p.14 [citată 03.09.2022]. Disponibil: https://shop.standard.md/ru/standard_details/219833#
110. PARPINELLO, G. P., VERSARI, A., CHINNICI, F., GALASSI, S. Relationship among sensory descriptors, consumer preference and color parameters of Italian Novello red wines. *Food Research International*, 42(10) 2009, 1389-1395 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.005>
111. LORENTZ JÄNTSCHI. Analize Chimice și Instrumentale. U. T. PRES. 2006, 328p. ISBN 973-8335-19-1.
112. CLIFF, M. A., KING, M. C., SCHLOSSER, J. Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. In: *Food Research International*. 2007, 40(1), pp.92-100 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.08.002>
113. MARTÍNEZ, J. A., MELGOSA, M., PÉREZ, M. M. et al. Note. Visual and instrumental color evaluation in red wines. In: *Food Science and Technology International*. 2001, nr.7(5), pp.439-444 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1106/VFAT-5REN-1WK2-5JGQ>
114. BAIZE, D. Guide des analyses en pédologie: choix – expression – présentation -interprétation. Edition: INRA. 2000. 257 p. ISBN 978-2-7380-0892-3.
115. CHOSSAT, J.C. La mesure de la conductivité hydraulique dans les sols: choix des méthodes. Ed. Tec & doc. 2005. 720 p. ISBN 978-274-300-653-2.
116. ROLLET, P., BOUAZIZ, R. L'analyse thermique. Tome 1, les changements de phase. Paris: Gauthier-Villars. 1972. 357 p.
117. GILLOTT, J.E. *Clay in Engineering Geology*, 2nd Edition. Elsevier Science. 1984, vol.41, 484p. ISBN 978-044-460-049-3.
118. KONANJ, K.L., SOROJ, Y., ANDJI, Y. et al. Etude comparative de la déshydroxylation/amorphisation dans deux kaolins de cristallinité différente. In: *J. Soc. Ouest-Afr chim.* 2010, nr.030, pp. 29-39 [citată 03.09.2022]. Disponibil: https://www.researchgate.net/publication/285897629_Etude_comparative_de_la_deshydroxylationamorphisation_dans_deux_kaolins_de_cristallinite_differente
119. ISO 6658:2017 Sensory analysis — Methodology — General guidance, Publication date : 2017-07, Edition : 3, pages : 26 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.iso.org/standard/65519.html>
120. GOST ISO 13299-2015 Organoleptic analysis. Methodology. General guidance for establishing an organoleptic profile. Date of introduction 2017-07-01. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology: Moscow, Russian, 2016, p.35.
121. GOST P 52623.1-2008 Technologies of simple medical services for functional check-up, Date of introduction 2009-09-01. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology: Moscow, Russian, 2009, p.35.

122. ISO 26642:2010 *Food products-Determination of the glycaemic index (GI) and recommendation for food classification*. Publication date : 2010-10, Edition : 1, Number of pages : 18 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.iso.org/standard/43633.html>
123. TORIJA, M. J., MATEO, E., GUILLAMÓN, J. M., MAS, A. Identification and quantification of acetic acid bacteria in wine and vinegar by TaqMan–MGB probes. In: *Food Microbiology*.2010, nr.27(2), pp.257-265 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.10.001>
124. USER GUIDE, Detection of Acetic Acid Bacteria, For research in vitro use only, Catalog #2401-15 [citat 03.09.2022]. Disponibil: https://www.pika-weihenstephan.de/wp-content/uploads/2020/03/Manual_2401-15_4everyone_DetectionKit_B_Acetics_Screening2003E.pdf
125. MATAIX, E., DE CASTRO, M.L. Determination of total and free sulfur dioxide in wine by pervaporation–flow injection. In: *Analyst*. 1998, nr.123(7), pp.1547-1549 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1039/A802566E>
126. BĂLĂNUȚĂ, A., GHERCIU, L., SCLIFOS, A., BÎȘCĂ, V. Utilizarea dioxidului de sulf în vinificație. Material didactic. *Editura Tehnica-UTM*. 2006. 36p.
127. SULHEE, L., JIN-A, L. et al. Semi-Continuous Fermentation of Onion Vinegar and Its Functional Properties. In: *Molecules*. 2017, nr.8(22), 1313 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.3390/molecules22081313>
128. CHEN, Y., BAI, Y., LI, D. et al. Improvement of the Flavor and Quality of Watermelon Vinegar by High Ethanol Fermentation using Ethanol-Tolerant Acetic Acid Bacteria. In: *International Journal of Food Engineering*. 2017, vol. 13, nr. 4 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1515/ijfe-2016-0222>
129. GORE, E., MARDON, J., LEBECQUE, A. Draining and salting as responsible key steps in the generation of the acid-forming potential of cheese: Application to a soft blue-veined cheese. In: *J. Dairy Sci.* 2016b, nr.99, pp.6927-6936 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11094>
130. БОИШТЯН, А.В., КИРСАНОВА, А.И., РУБЦОВ, С.Л., КИСЕЛИЦА, Н. Выявление оптимального источника для изолирования уксуснокислых бактерий. In: *Журнал Все о мясе*. 2020, nr.5S, pp.59-62. ISSN 2071-2499, УДК 579.6 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.vniimp.ru/journal/all-about-meat/2071-2499-2020/5s/59.html>
131. BOISTEAN, A. Isolation of vinegar bacteria from local wine products. In: *Conferința științifico-practică Națională „INOVAȚIA: FACTOR AL DEZVOLTĂRII SOCIAL-ECONOMICE” Ediția a V-a SAHUL*, 17 decembrie 2020. ISBN 978-9975-88-058-9.
132. BOISTEAN, A., CHIRSANOVA, A., ZGARDAN, D. et al. The methodological aspects of using real-time PCR in acetobacter detection. In: *Journal of Engineering Science*. 2020, vol.V(XXVII), № 3, pp. 232-238. ISSN 2587-3474 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <http://doi.org/10.5281/zenodo.3949726>

133. MAS, A., TRONCOSO, A.M., GARCÍA-PARRILLA, M.C., TORIJA, M.J. Vinegar. In: *Encyclopedia of Food and Health*. 2016, pp. 273-294. ISBN print version 978-2-9566303-0-2 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.32741/fihb>
134. SENGUN, I.Y. Acetic Acid Bacteria: Fundamentals and Food Applications (1st ed.). *CRC Press*. 2017. 360 p. [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1201/9781315153490>
135. Hotărârea Guvernului a RM nr. 1111 din 06.12.2010 cu privire la aprobarea Reglementărilor tehnice „Sucuri și anumite produse similare destinate consumului uman”, publicată: 17.12.2010 în Monitorul Oficial, nr. 247–251, art. nr. 1234.
136. **BOIȘTEAN, A.** Grape pomace as a filler in wine vinegar fermentation. *Simpozionul Științific Național cu participare internațională "BIOTEHNOLOGII MODERNE - SOLUȚII PENTRU PROVOCĂRILE LUMII CONTEMPORANE"*, Chișinău 20-21 mai 2021 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://imb.md/ro/programul-simpozionului-stiintific-biotehnologii-moderne-solutii-pentru-provocarile-lumii>
137. BATAILLON, M., RICO, A., SABLAYROLLES, JM. et al. Early thiamine assimilation by yeasts under enological conditions : impact on fermentation kinetics. In: *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 1996, 82(2), pp.145-150. ISSN 0922-338X [citat 03.09.2022]. Disponibil: [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(96\)85037-9](https://doi.org/10.1016/0922-338X(96)85037-9)
138. HENSCHKE, P.A., JIRANEK, V. Yeast-Metabolism of nitrogen compounds. In: *Wine. Microbiology and Biotechnology (Fleet. G. H., Eds.). Harwood Academic Publishers*, chapter 4, Chur, Switzerland. 1993, pp. 77-165.
139. SALMON, J.M., VINCENT, O., MAURICIO, J.C., BELY, M., BARRE, P. Sugar transport inhibition and apparent loss of activity in *Saccharomyces cerevisiae* as a major factor of enological fermentations. In: *American Journal of Enology and Viticulture*. 1993, 44(1), pp. 56-64 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.ajevonline.org/content/44/1/56>
140. ANSANAY-GALÉOTE, V., BLONDIN, B., DEQUIN, S., SABLAYROLLES, J.M. Stress effect of ethanol on fermentation kinetics by stationary-phase cells of *Saccharomyces cerevisiae*. In: *Biotechnology Letters*. 2001, nr.123, pp. 677-681.
141. PARROU, J.L., ENJALBERT, B., PLOURDE, L. et al. Dynamic responses of reserve carbohydrate metabolism under carbon and nitrogen limitations in *Saccharomyces cerevisiae*. In: *Yeast*. 1999, nr.15(3), pp.191-203.
142. BELY, M., SABLAYROLLES, J.M., BARRE, P. Automatic control of assimilable nitrogen addition during alcoholic fermentation in enological conditions. In: *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 1990, Volume 70, Issue 4, pp. 246-252. ISSN 0922-338X.
143. MARCU, O., **BOIȘTEAN, A.** Technology of obtaining wine vinegar from grape concentrate. *The 9th International Conference for Students STUDENT IN BUCOVINA*, December, 18th, 2020. Suceava, Romania. 44p. ISSN 2068-7648. [citat 03.09.2022]. Disponibil: [http://fia-old.usv.ro/fiajournal/Student in Bucovina 2020/doc/Abstracte%20SIB%2018%20decembrie%202020.pdf](http://fia-old.usv.ro/fiajournal/Student%20in%20Bucovina%202020/doc/Abstracte%20SIB%2018%20decembrie%202020.pdf)

144. BELY, M., SALMON, J.M., BARRE, P. Assimilable nitrogen addition and hexose transport system activity during enological fermentations. In: *Journal of the Institute of Brewing*. 1994, 100, pp. 279-282 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1994.tb00824.x>
145. SABLAYROLLES, J.M. Sluggish and stuck fermentations. Effectiveness of ammoniacal nitrogen and oxygen additions. In: *Viticulture and Enology Science*. 1996, 51(3), pp.147-151.
146. BELL, S.J, HENSCHKE, P.A. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. In: *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 2005, 11(3), pp. 242-295 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00028.x>
147. ALEXANDRE, H., COSTELLO, P.J., REMIZE, F. et al. *Saccharomyces cerevisiae*-*Oenococcus oeni* interactions in wine : current knowledge and perspectives. In: *International Journal of Food Microbiology*. 2004, nr.93(2), pp.141-154 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.10.013>
148. **BOIȘTEAN, A.** Investigation of obtaining vinegar using concentrated juice. *The 16th International Conference of Constructive Design and Technological Optimization in Machine Building Field*, OPROTEH, Bacau, may 25-27, 2021. 70p. ISSN 2457 – 3388 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <http://oproteh.ub.ro/assets/abstracts.pdf?v=8439f13s>
149. NDOYE, B., LEBECQUE, S., DUBOIS-DAUPHIN, R. et al. Thermoresistant properties of aceticacids bacteria isolated from tropical products of Sub-Saharan Africa anddestined to industrial vinegar. In: *Enzyme Microb. Technol.* 2006, nr.39, pp. 916-923 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.01.020>
150. GUIRAUD, J., GALZY, P. L`analyse Microbiologique Dans Les Industries Agroalimentaires. *Eds. Usine Nouvelle, Coll, Genie Alimentaire*. 1980. 349p. ISBN: 0-12-363501-2.
151. SEKAVOVA, B., MELZUCH, K., PAULOVA, L., RYCHTERA, M. Application of flow cytometry to *Saccharomyces cerevisiae* peculation analysis. In: *Chimia*. 2005, nr.59, pp.745-748 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.2533/000942905777675741>
152. CLARO, F.B., RIJSBRACK, K., SOARESE, V. Flocculation onset in *Saccharomyces cerevisiae*: effect of ethanol heat and osmotic stress. In: *J. Appl. Microbiol.* 2007, nr.102, pp.693-700 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03130.x>.
153. VALLI, M., SAUER, M. et al. Intracellular pH distribution in *Saccharomyces cerevisiae* cell populations, analyzed by flow cytometry. In:*Applied Environ. Microbiol.* 2005, nr.71, pp.1515-1521 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.3.1515-1521.2005>
154. GRAVES, T., NARENDRANATH, N.V., DAWSON, K., POWER, R. Interaction effects of lactic acid and acetic acid at different temperatures on ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* in corn mash. In: *Applied Microbiol. Biotechnol.* 2007, nr.73, pp.1190-1196. PMID: 17058076 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0573-5>

155. ETHIRAJ, S., SURESH, E.R. Studies on the utilisation of mango processing wastes for production of vinegar. In: *J. Food Sci. Technol.* 1990, nr.29, pp.48-50 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.3923/pjbs.2010.132.137>
156. FREBORTOVA, J., MATSUSHITA, K., ADACHI, O. Effect of growth substrates on formation of alcohol dehydrogenase in *Acetobacter methanolicus* and *Acetobacter aceti*. In: *J. Ferment. Bioeng.* 1997, Volume 83, Issue 1, pp.21-25. ISSN 0922-338X [citat 03.09.2022]. Disponibil: [https://doi.org/10.1016/S0922-338X\(97\)87321-7](https://doi.org/10.1016/S0922-338X(97)87321-7)
157. WALTER, P. Determination of organic acids in food by means of ion exclusion chromatography. In: *Mitteilungen aus Lebensmittel untersuchung und Hygiene.* 2005, nr.96, pp.476-483.
158. YANG, M., CHOONG, Y. A rapid gas chromatographic method for direct determination of short-chain (C1-C12) volatile organic acids in foods. In: *Food Chem.* 2001, nr.75, pp.101-108 [citat 03.09.2022]. Disponibil: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00211-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00211-4)
159. GULLO, M., CAGGIA, C., DE VERO, L., GIUDICI, P. Characterization of acetic acid bacteria in "traditional balsamic vinegar". In: *Int J Food Microbiol.* 2006, 106(2), pp.209-12. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.024. PMID: 16214251.
160. LOTONG, N., MALAPAN, W., BOONGORSRANG, A. et al. Production of vinegar by *Acetobacter* cells fixed on a rotating disc reactor. In: *Appl Microbiol Biotechnol.* 1989, nr.32, pp.27–31 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1007/BF00164818>
161. STURZA, R., COVACI, E. Tartaric stabilization of young wines and thermodynamic indices of stability. In: *Revue Roumaine de Chimie.* 2015, nr.60(11-12), pp. 1019-1024.
162. HOTĂRĂREA GUVERNULUI a RM nr.1.134 din 10 octombrie 2002 pentru aprobarea Normelor metodologice de aplicare a Legii viei și vinului în sistemul organizării comune a pieței vitivinicole. Publicat în *Monitorul oficial* nr. 798 din 4 noiembrie 2002.
163. CHIRSANOVA, A., REȘITCA, V., CAPCANARI, T., SIMINIUC, R., **BOIȘTEAN, A.** Microbiologie alimentară. Universitatea Tehnică a Moldovei.-Chișinău: *MS Logo*, 2022.-203 p. ISBN 978-9975-3464-7-4.
164. KRUSONG, W., TANTRATIAN, S. Acetification of rice wine by *Acetobacter aceti* using loofa sponge in a low-cost reciprocating shaker. In: *J Appl Microbiol.* 2014, nr.117, pp.1348-1357 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1111/jam.12634>
165. HUTCHINSON, U., JOLLY, N., CHIDI, B. et al. Vinegar Engineering: a Bioprocess Perspective. *Food Eng Rev*, nr. 11, pp. 290–305 (2019). [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1007/s12393-019-09196-x>
166. GARG, N., YADAV, K.K., BEG, E. Improved vinegar production through *Acetobacter* immobilization. *Conference: National Conference on "Women Power in Cutting Edge Biotechnology WoPCEB 2013*, At: Amity University Uttar Pradesh, Lucknow Campus. 51p. DOI: 10.13140/RG.2.1.1732.5207

167. KOCHER, G. S., KALRA, K. L., PHUTELA, R. P. Comparative production of sugarcane vinegar by different immobilization techniques. In: *Journal of the Institute of Brewing*. 2006, nr.112(3), pp.264-266 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2006.tb00722.x>
168. PRIDA, A. *Caracterizarea chimică a lemnului de stejar în scopul optimizării folosirii lui în vinificație*: tz. de doct. în tehnică. Chișinău. 2014. 209p.
169. CEREZO, A.B., ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ, M.A. et al. Phenolic Composition of Vinegars over an Accelerated Aging Process Using Different Wood Species (Acacia, Cherry, Chestnut, and Oak). In: *J. Agric. Food Chem.* 2014, nr.62(19), pp.4369–4376 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1021/jf500654d>
170. **BOISTEAN, A.**, CHIRSANOVA, A., STURZA R. Prospects for the use of agricultural waste as a substrate for acetic fermentation. *Symposium Euro Aliment 2021*, Galați, Romania. 180p. [citat 03.09.2022]. Disponibil: http://www.euroaliment.ugal.ro/files/Book_of_abstracts.pdf
171. LAMBRI, M., DORDONI, R., SILVA, A., DE FAVERI, D.M. Effect of Bentonite Fining on Odor-Active Compounds in Two Different White Wine Styles. In: *Am. J. Enol. Vitic.* 2010, nr.61: 2, pp. 225-233 [citat 03.09.2022]. Disponibil: https://www.dalci.com/ENG/altridw/publicazioni/bentoniti_AJEV_2010.pdf
172. **BOISTEAN, A.**, CHIRSANOVA, A., CIUMAC, J. The particularities of the clarification process with bentonite of the wine vinegar. *The 9th international symposium "Euro-aliment"*. 5-6 september 2019, Galati, România. 60 p. ISSN 1843-5114 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.gup.ugal.ro/guppress/index.php/test/catalog/book/859>
173. SERRATRICE, J-F., SOYEZ, B. Les essais de gonflement, BULLETIN DES LABORATOIRES DES PONTS ET CHAUSSÉES - 204 - juillet-aout 1996 - réf. 4082 - pp. 65-85 [citat 03.09.2022]. Disponibil: https://www.ifsttar.fr/collections/BLPCpdfs/blpc_204_65-85.pdf
174. DUFRECHOU, M., PONCET-LEGRAND, C., SAUVAGE, F. X., VERNHET, A. Stability of white wine proteins: combined effect of pH, ionic strength, and temperature on their aggregation. In: *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012, nr.60(5), pp.1308-1319 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1021/jf204048j>
175. OCT 18-49-71 Бентониты для винодельческой промышленности. Вступил в действие: с 01.07.1972. Электронный ресурс: <http://www.1bm.ru/techdocs/kgs/ost/28/info/87/>
176. **BOISTEAN, A.**, CHIRSANOVA, A., CIUMAC, J., GAINA, B. The particularities of the clarification process with bentonite of white wine vinegar. In: *Food systems*. 2020, nr.3(1), pp.25–32. UDC 663.242:666.322.4. DOI: 10.21323/2618–9771–2020–3–1–25–32 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.fsjour.com/jour/article/view/65/101>
177. CHANG, R.-C., LEE, H.-C., OU, S.-M. Investigation of the physicochemical properties of concentrated fruit vinegar. In: *Journal of Food and Drug Analysis*. 2005, vol. 13, Iss. 4, Article 1 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2559>

178. JAMALUDIN, M.A. Study on physiochemical properties and the halalness of commercially marketed vinegar in Malaysia. In: *International Food Research Journal*. 2017, Volume 24, pp. 428-435. ISSN: 19854668.
179. COSTA S.C., FERNANDES J.C.B. Listening to pH. In: *Journal of Chemical Education*. 2019, nr.96 (2), pp.372-376 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.8b00641>
180. ARVANITI, O. S., MITSONIS, P., SIOROKOS, I., DERMISHAJ, E., SAMARAS, Y. The physicochemical properties and antioxidant capacities of commercial and homemade Greek vinegars. In: *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 2019, nr.18(3), pp.225–234. [citat 03.09.2022]. Disponibil: <http://dx.doi.org/10.17306/>
181. ЕГОРОВ, Н. Основы учения об антибиотиках. Москва: Наука. 2004. 528 с. ISBN 5-211-04669-2.
182. БИРГЕР, М. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования: научное издание. - 3-е изд., перераб. и доп. Москва : Медицина. 1982. 464 с. ГРНТИ 34.27.05, 34.25.05; УДК:579(035)578(035).
183. КУЛЕШОВА, С. Определение активности антибиотиков методом диффузии в агар. В: *Журнал Ведомости, Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Ежеквартальный рецензируемый научно-практический*. 2015, nr.3, с.13-17. УДК 615.33:615.076, ISSN 2619-1172.
184. КОШЕЛЕВ, Ю.А., ЧЕРНУХА, Б.А., ГАЛКИНА, Г.В., КУЛЕШОВА, Н.И., и др. Способ производства уксуса. Патент RU 2 385 924 С1. Опубликовано: 10.04.2010. Бюл. № 10.
185. GARG, N., TANDON, D.K., KALRA, S.K. Production of mango vinegar by immobilized cells of *Acetobacter aceti*. In: *Journal of food science and technology-mysore*. 1995, nr.32, pp.216-218. ISSN: 0022-1155.
186. TARHON, M.C. Instalație pilot pentru fermentația acetică submersă. In: *Buletinul AGIR*. 2003, nr. 3, pp.13-15 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.agir.ro/buletine/23.pdf>
187. DURÁN GUERRERO, E., NATERA MARÍN, R. et al. Procedimiento de obtención de vinagres. Patent ES 2 430 938 A1. Fecha de publicación de la solicitud: 22.11.2013.
188. CHIRSANOVA, A., BOIȘTEAN, A., COVALIOV, E., REȘITCA V. Valorisation de coquilles de noix broyées dans le processus de fermentation acetique afin d'obtenir du vinaigre, Le gaspillage alimentaire: gestion et revalorisation des déchets alimentaires. *Editura AcademicPres*, Cluj-Napoca. 2021, pp.151-166. ISBN:978-973-744-886-6 [citat 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.auf.org/europe-centrale-orientale/nouvelles/actualites/le-gaspillage-alimentaire/>
189. BOIȘTEAN, A., CHIRSANOVA, A., GAINA, B., SIMINIUC, R., Procedeu de obținere a oțetului din vin alb. *Brevet de invenție - MD 1517(13)Y*. Publicat în BOPI 4/2021, 30.04.2021 [citat 03.09.2022]. Disponibil: http://www.agepi.md/sites/default/files/bopi/BOPI_04_2021.pdf
190. BOIȘTEAN, A. Impactul adăugării unor nutrienți asupra procesului de obținere a oțetului de mere. In: *Conferința tehnico-științifică a studenților, masteranzilor și doctoranzilor 1-3 aprilie Chișinău*. 2020, vol.1, pp. 441-442. ISBN 978-9975-45-632-6 [citat 03.09.2022]. Disponibil: https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/441-442_1.pdf

191. **BOISTEAN, A.,** CHIRSANOVA, A., CIUMAC, J., GAINA, B. Impactul condițiilor de fermentare asupra calității oțetului de vin. *Conferința Internațională Zilele Academiei de Științe Tehnice din România cu tema „Creativitatea în dezvoltarea Societății Cunoașterii”*, 17-18 octombrie 2019, Chișinău [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://old.asm.md/galerie/Program%20ZASTR%202019.pdf>
192. SCOREI, V., SCOREI, I. R. Concentrat hipocaloric pentru bauturi racoritoare. Brevet de invenție: a2001 00784 publicat în BOPI 7-2004, p. 14. <https://osim.ro/wp-content/uploads/Publicatii-OSIM/BOPI-Inventii/2004/bopi1004.pdf>
193. HAN, C.-K., KIM, S.-S., GO, H.-N. Development and Functional Evaluation of Health Drink Composed of Persimmon Vinegar and Red Ginseng for the Promotion of Vitality.. *The FASEB Journal*, 20: 2006. A1021-A1021. <https://doi.org/10.1096/fasebj.20.5.A1021-d>
194. Calorie Control Council. FOOD CALORIE CALCULATOR [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://caloriecontrol.org/healthy-weight-tool-kit/food-calorie-calculator/>
195. The Coca-Cola Company. Great Britan. How many calories are there in a 330ml can of Coca-Cola Original Taste? Publicat:10/01/2020 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://www.coca-cola.co.uk/our-business/faqs/calories-in-330ml-can-of-coca-cola>
196. REY-LÓPEZ, J. P., GONZALEZ, C. A. Research partnerships between Coca-Cola and health organizations in Spain. In: *European journal of public health*. 2019, nr.29(5), pp.810–815 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1093/eurpub/cky175>
197. SHAH, N.R., BRAVERMAN, E.R. Measuring Adiposity in Patients: The Utility of Body Mass Index (BMI), Percent Body Fat, and Leptin. In: *PLoS ONE*. 2012, nr.7(4), e33308 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033308>
198. EBIHARA, K., NAKAJIMA, A. Effect of acetic acid and vinegar on blood glucose and insulin responses to orally administered sucrose and starch. *Agricultural and biological chemistry*, nr.52(5) 1988. pp. 1311-1312. [citată 03.09.2022]. Disponibil: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb1961/52/5/52_5_1311/_pdf
199. ÖSTMAN, E., GRANFELDT, Y., PERSSON, L. et al. Vinegar supplementation lowers glucose and insulin responses and increases satiety after a bread meal in healthy subjects. In: *Eur J Clin Nutr*. 2005, nr.59, pp.983–988 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602197>
200. BRIGHENTI, F., CASTELLANI, G., BENINI, L. et al. Effect of neutralized and native vinegar on blood glucose and acetate responses to a mixed meal in healthy subjects. In: *Eur J Clin Nutr*. 1995 Apr;49(4):242-7(1995). PMID: 7796781.
201. LEFF, J. W., FIERER, N. Bacterial communities associated with the surfaces of fresh fruits and vegetables. In: *PloS one*. 2013, nr.8(3), e59310 [citată 03.09.2022]. Disponibil: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059310>

202. Hotărârea Guvernului a RM cu privire la instituirea Sistemului informațional automatizat „Registrul de stat al apelor minerale naturale, potabile și băuturilor nealcoolice îmbuteliate” Nr. 934 din 15-08-2007. Publicat în *Monitorul Oficial al RM*, 24-08-2007, nr. 131-135, art. 970.
203. **BOIȘTEANA, A.**, POPOVICI, V. Development and optimization of new beverages based on different fruits or berries and white wine vinegar. *SCDS-UDJG 2021 The Ninth Edition, GALAȚI*, 10th-11th of June 2021. 243p. [citat 03.09.2022]. Disponibil: <http://www.cssd-udjg.ugal.ro/index.php/2020-2/abstracts-2023>
204. ANDRONIC, P., BEM, M., **BOIȘTEANA, A.** Development of technology for the production of non-alcoholic beverage with natural vinegar as a natural conservant. *International Competition of Student Scientific Works "Black Sea Science 2022"*, Odessa, Ucraina. UDC 001.8(063). pp. 6-15. <http://isc.ontu.edu.ua/2022-2/?lang=en>

ANEXE

**Utilajul tehnologic proiectat și executat în cadrul proiectului
18.80015.5007.222T. „Elaborarea biotehnologiei și implementarea liniei moderne de
producere a oțetului heresat natural condimentat de calitate înaltă competitiv pe piața internă
și externă”**



Fig.A.1.1. Bioreactoare pentru fermentarea alcoolică și acetică



Fig.A.1.2. Instalația de filtrare prin membrane



Fig.A.1.3. Rezervor pentru recepția materiei prime (în stânga). Rezervor pentru produsul finit - oțet (în dreapta).



Fig.A.1.4. Instalație și panoul de comandă automatizat



Fig.A.1.5. Pasteurizator cu plăci destinat sterilizării vaselor și produsului finit

Extragerea ADN

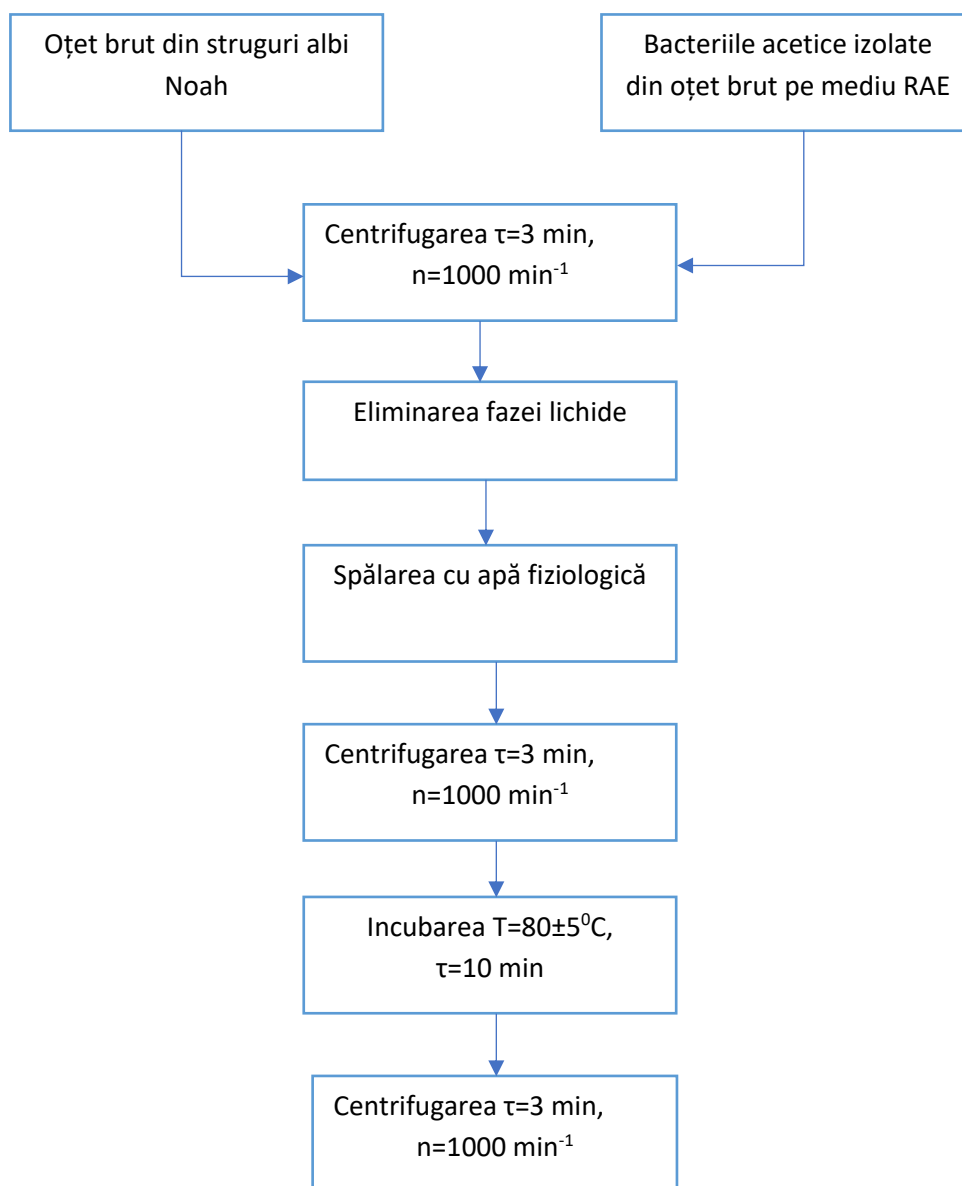


Fig. A.2.1. Schema-bloc de extragere a ADN

Detectarea ADN

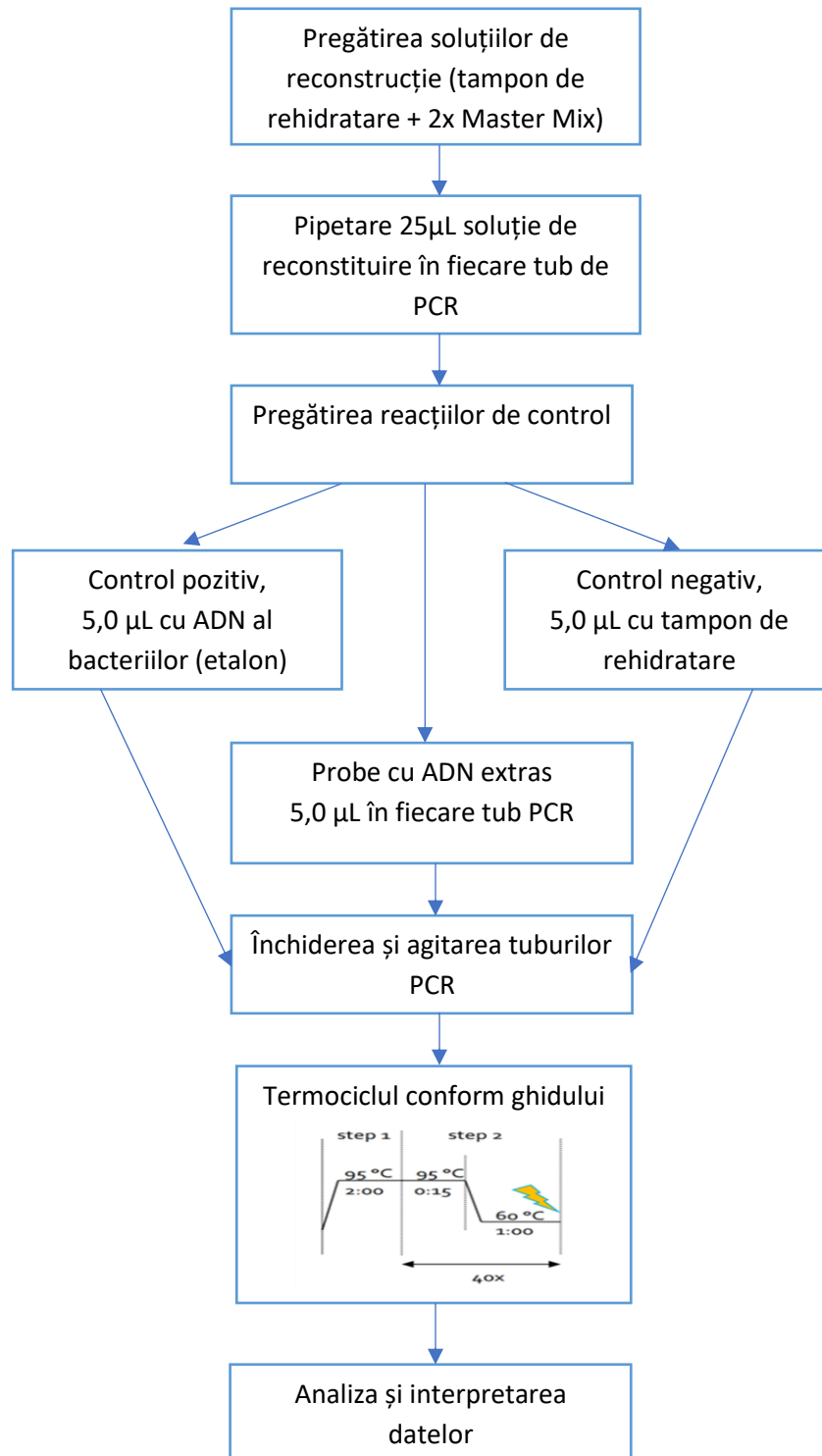


Fig. A.2.2. Schema-bloc de detectare a ADN



INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE
ȘI BIOTEHNOLOGIE AL A.Ș.M.

COLECȚIA NAȚIONALĂ DE MICROORGANISME NEPATOGENE

str. Academiei, 1, MD-2028, Chișinău, Republica Moldova, Tel. (373 22) 73 96 09, e-mail: imbcnmn@yahoo.com

ADEVERINȚĂ DE DEPOZITARE

Chirsanova A., Boiștean A., Rubțov S.

(numele, prenumele)

Universitatea Tehnică a Moldovei, UTM

(denumirea organizației)

Bd. Ștefan cel Mare, 168, MD-2004, mun. Chișinău, Republica Moldova

(adresa deponentului)

Acetobacter aceti ATCC 23746

Tulpina oxidează alcoolul etilic în acid acetic și este destinată
utilizării la obținerea oțetului din vin

(Genul, specia și destinația tulpinii)

Numărul de înregistrare, invocat tulpinii
depozitate de către Colecție:

Acetobacter aceti CNMN-AcB-01

Data depozitării: 21.12. 2020

Adresa și denumirea colecției:

str. Academiei 1, MD-2028, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie,
Colecția Națională de Microorganisme Nепatogene (CNMN),
Chișinău, Republica Moldova
Tel.: (+373 22) 73 96 09
E-mail: imbcnmn@yahoo.com
Web: www.imb.asm.md

Directorul Institutului de Microbiologie și Biotehnologie,
academician, profesor universitar

Șef al CNMN, doctor în biologie,
Chiselița



 L. Cepoi

 T. Sîrbu.

Fig. A.3.1. Adeverința de depozitare în CNMN a bacteriilor acetice izolate

Anexa 4. Chestionar privind utilizarea oțetului în bucătărie

Cod _____

Bună ziua. În cadrul studiului privind cunoașterea și utilizarea oțetului în bucătărie în rândul populației vă rugăm să completați chestionarul următor. Vă asigurăm deplina confidențialitate a opiniilor dumneavoastră. Interesul nostru este doar de a număra persoanele care au o opinie sau alta. Vă mulțumim!

1. Sexul respondentului:

masculin feminin

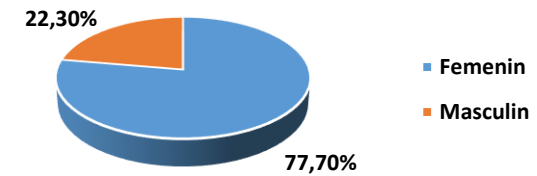


Fig. A.4.1. Sexul respondentului

2. Vârsta respondenților

până la 20 ani 20-29 ani 30-39 ani
 40-49 ani 50-59 ani peste 60 ani

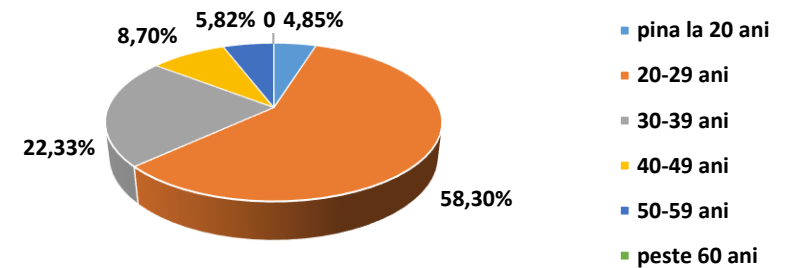


Fig. A.4.2. Vârsta respondenților

3. Locul de trai:

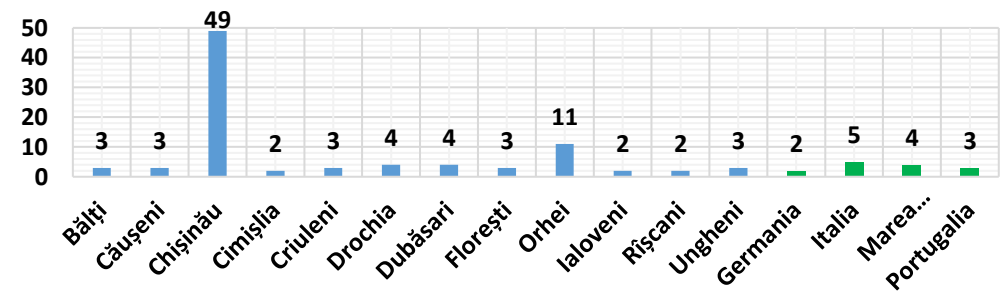


Fig. A.4.3. Locul de trai al respondentelor

4. Ocupația:

- Student
- Angajat
- Antreprenor
- Casnic
- Fără ocupație

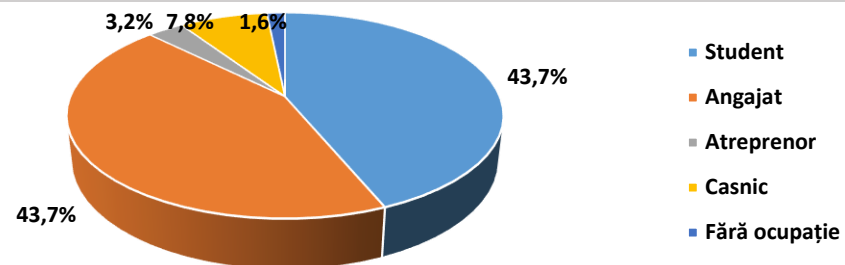


Fig. A.4.4. Ocupația respondenților

5. Studii:

- Școala primară
- Gimnaziu
- Liceu
- Facultate
- Studii post universitare

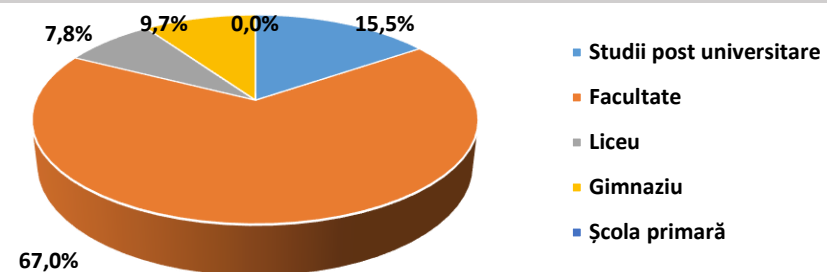


Fig. A.4.5. Studii

6. Tipul de alimentație

- Mixtă
- Ovo-lacto-vegetariană
- Lacto-vegetariană
- Vegetariană
- Raw vegană

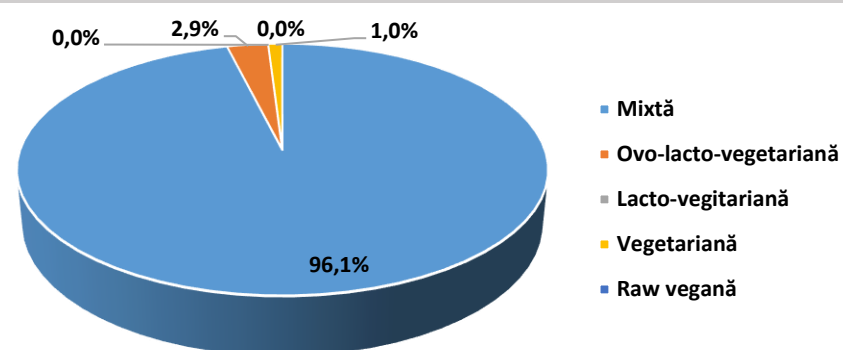


Fig. A.4.6. Tipul de alimentație

7. În opinia dumneavoastră oțetul este - :

- Produs obținut prin fermentare
- Substanță chimică
- Acid natural
- Condiment
- Varianta dvs. _____

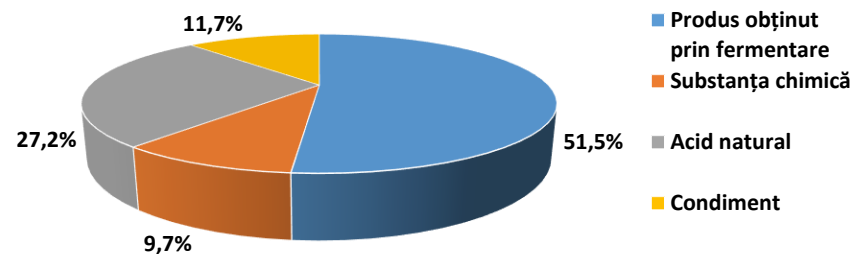


Fig. A.4.7. Definirea oțetului

8. Selectați tipurile de oțet pe care le cunoașteți: (mai multe variante posibile)

- Oțet de masă
- Oțet de mere
- Oțet din vin alb
- Oțet din vin roșu
- Oțet din orez
- Oțet din miere
- Oțet din orez
- Oțet din miere
- Oțet din pomușoare
- Oțet din malț
- Oțet balsamic
- Oțet condimentat și aromatizat
- Acid acetic de uz alimentar
- Altele _____

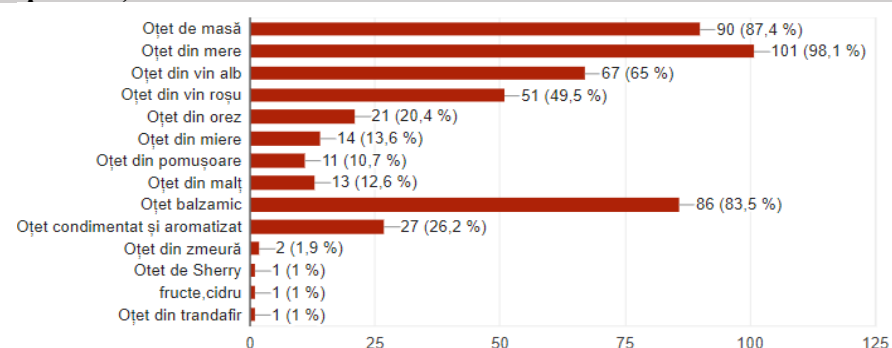


Fig. A.4.8. Tipurile de oțet și utilizarea lor

9. Vă rugăm să indicați cât de importanți sunt acești factori când procurați un oțet

	Foarte important	Important	Mediu	Neimportant
Preț	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ambalaj	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Produs autohton	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Brand	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Gust	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Calitate	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Recomandat de alții	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

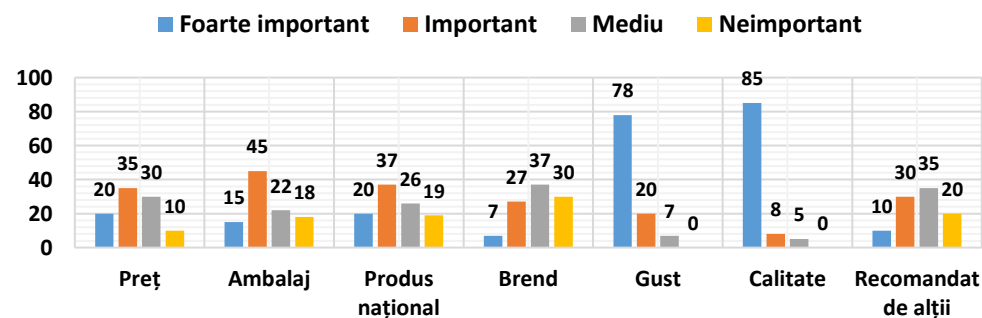


Fig. A.4.9. Factorii de selectare a oțetului

10. Procurați oțet cu o concentrație de:

- 3%
- 6%
- 9%
- Altele _____

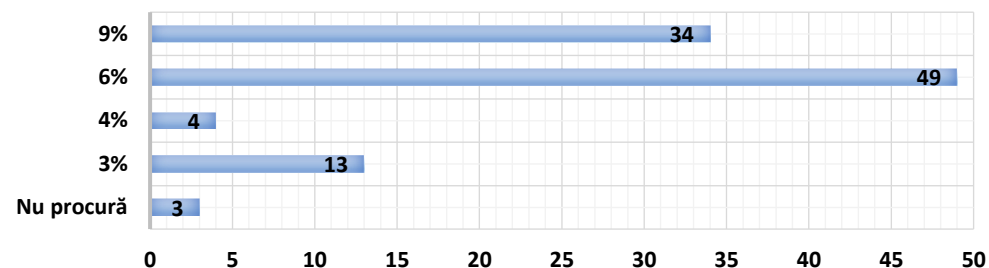


Fig. A.4.10. Concentrația oțetului procurat

11. Utilizați oțetul în calitate de:

- Condiment
- Conservant
- Dezinfectant
- Soluție anti calcar
- În scop medical
- Cosmetice naturiste
- Altele _____

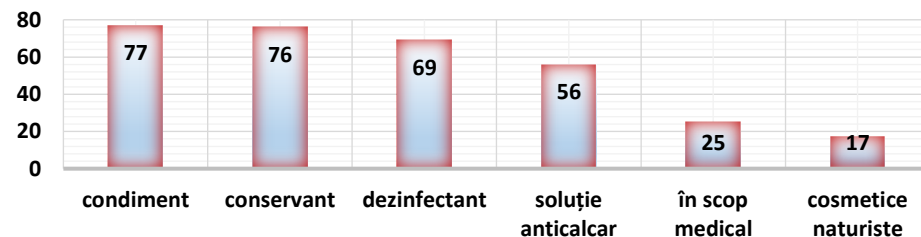


Fig. A.4.11. Metode de utilizare a oțetului

12. Cât de des utilizați oțetul la prepararea bucatelor?

	Mereu	Des	Rar	Niciodată
Dressing pentru salate	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prepararea sosurilor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Menținerea culorii legumelor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fierberea ouălor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fierberea rapidă a cărnii	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Spumarea albușului	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Marinarea legumelor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Marinarea cărnii	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

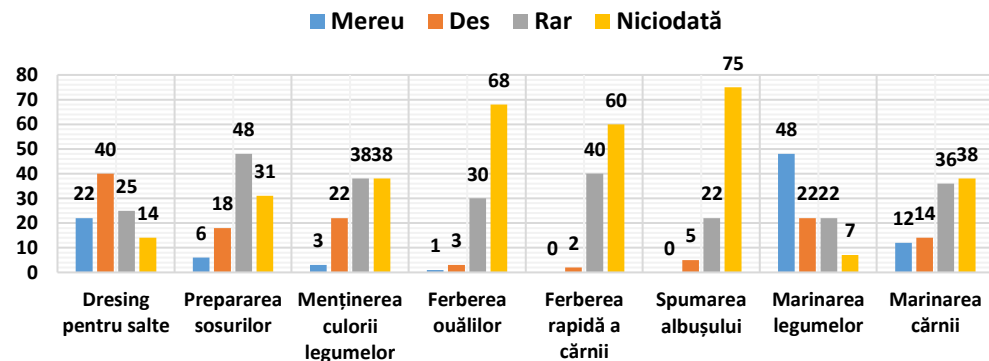


Fig. A.4.12. Utilizarea oțetului la prepararea bucatelor

13. Dumneavoastră ați preparat oțet de casă? (Dacă răspunsul este Nu, atunci omiteți întrebarea 14 și 15)

- Da
- Nu

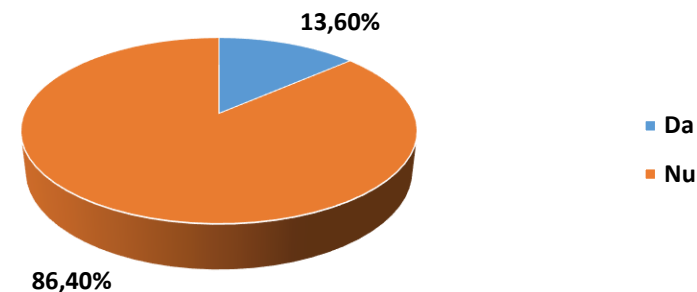


Fig. A.4.13. Prepararea oțetului în condiții casnice

14. De câte ori ați preparat oțet de casă?

- Niciodată
- O singură dată
- Ocazional
- Permanent

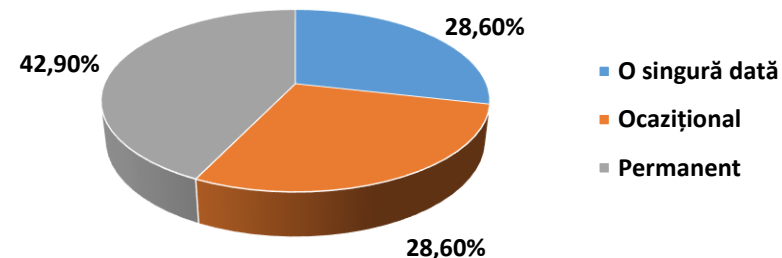


Fig. A.4.14. Frecvența preparării oțetului în condiții casnice

15. Din care motive preferați să faceți oțet de casă?

- Dispuneți de o rețetă personală
- Obțineți oțet cu arome speciale
- Nu aveți încredere în calitatea oțetului din comerț
- Alt motiv _____

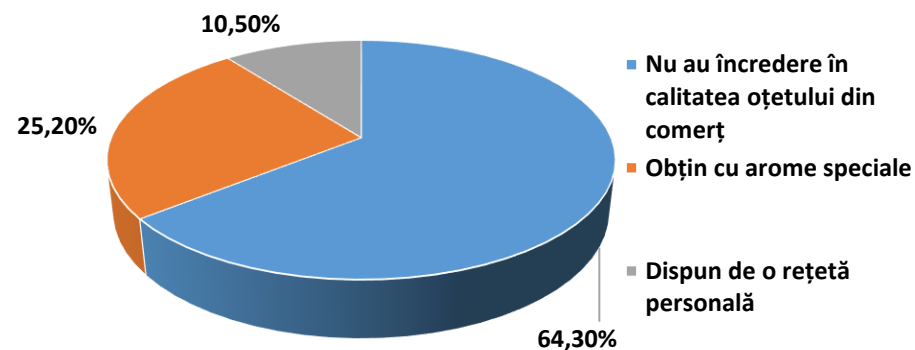


Fig. A.4.15. Motivul preparării oțetului în condiții casnice

16. Dacă a-ți utilizat procesul de limpezire a oțetului indicați ce metodă a-ți utilizat?

- Auto limpezirea
- Limpezirea cu bentonită
- Limpezirea cu albumină
- Limpezirea cu gelatină
- Altă metodă _____

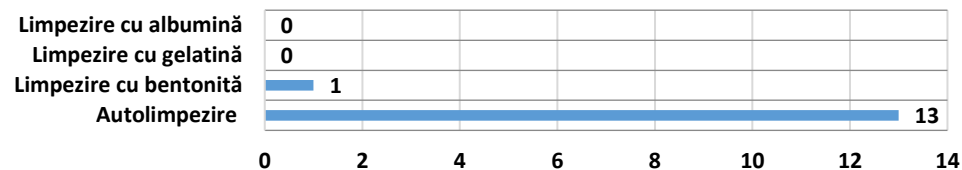


Fig. A.4.16. Procesul de limpezire utilizat

17. Utilizați oțet din vin? (Dacă răspunsul este Nu, omiteți întrebarea 18)

- Da
- Nu

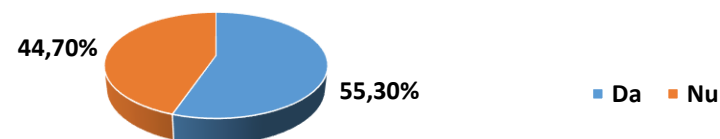


Fig. A.4.17. Utilizarea oțetului de vin

18. Preferați ca oțetul să fie din:

- Vin alb
- Vin roșu

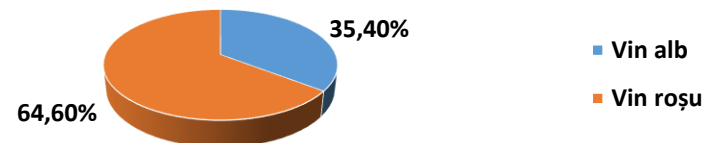


Fig. A.4.18. Tipul de oțet de vin utilizat

19. Cu ce fel de arome preferați să fie aromatizat oțetul:

- Tarhon
- Rozmarin
- Mentă
- Trandafir
- Ardei iute
- Altele _____

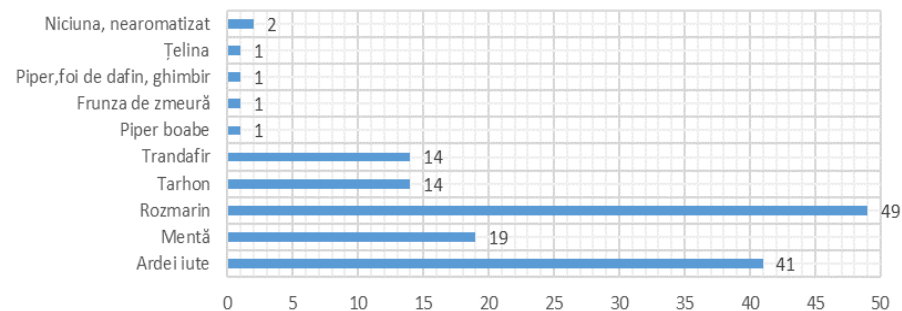


Fig. A.4.19. Tipuri de arome ale oțetului

20. Considerați că oțetul are asupra organismului efecte:

- Benefice
- Nocive

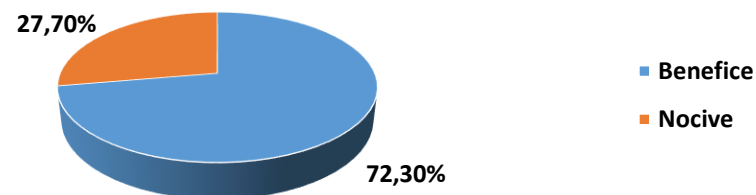


Fig. A.4.20. Efectele oțetului asupra organismului

21. Ce efecte benefice ale oțetului cunoașteți?

- Îmbunătățește digestia
- Împiedică dezvoltarea tumorilor maligne
- Reglează glicemia
- Stopează apariția bolilor cardiovasculare
- Altele _____

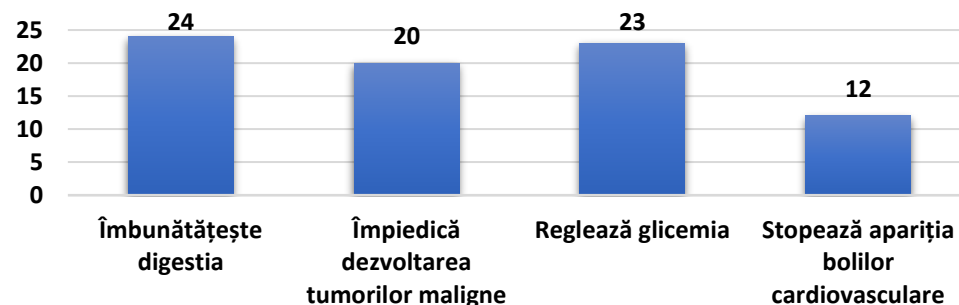


Fig. A.4.21. Efectele benefice ale oțetului

22. Ce efecte nocive ale oțetului cunoașteți?

- Favorizează apariția gastritei
- Scade nivelul de potasiu în oase
- Distruge smalțul dinților
- Indigestie
- Altele _____

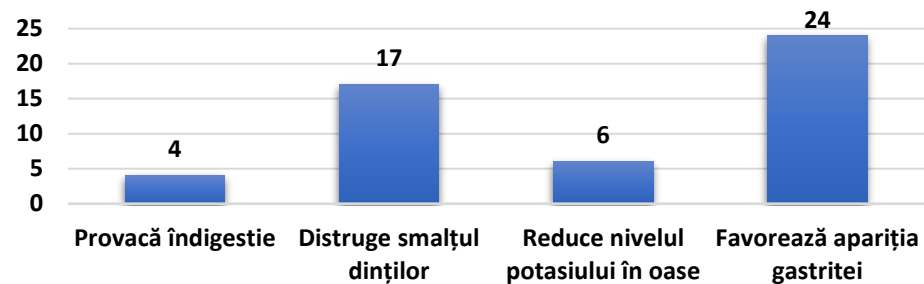


Fig. A.4.22. Efectele nocive ale oțetului

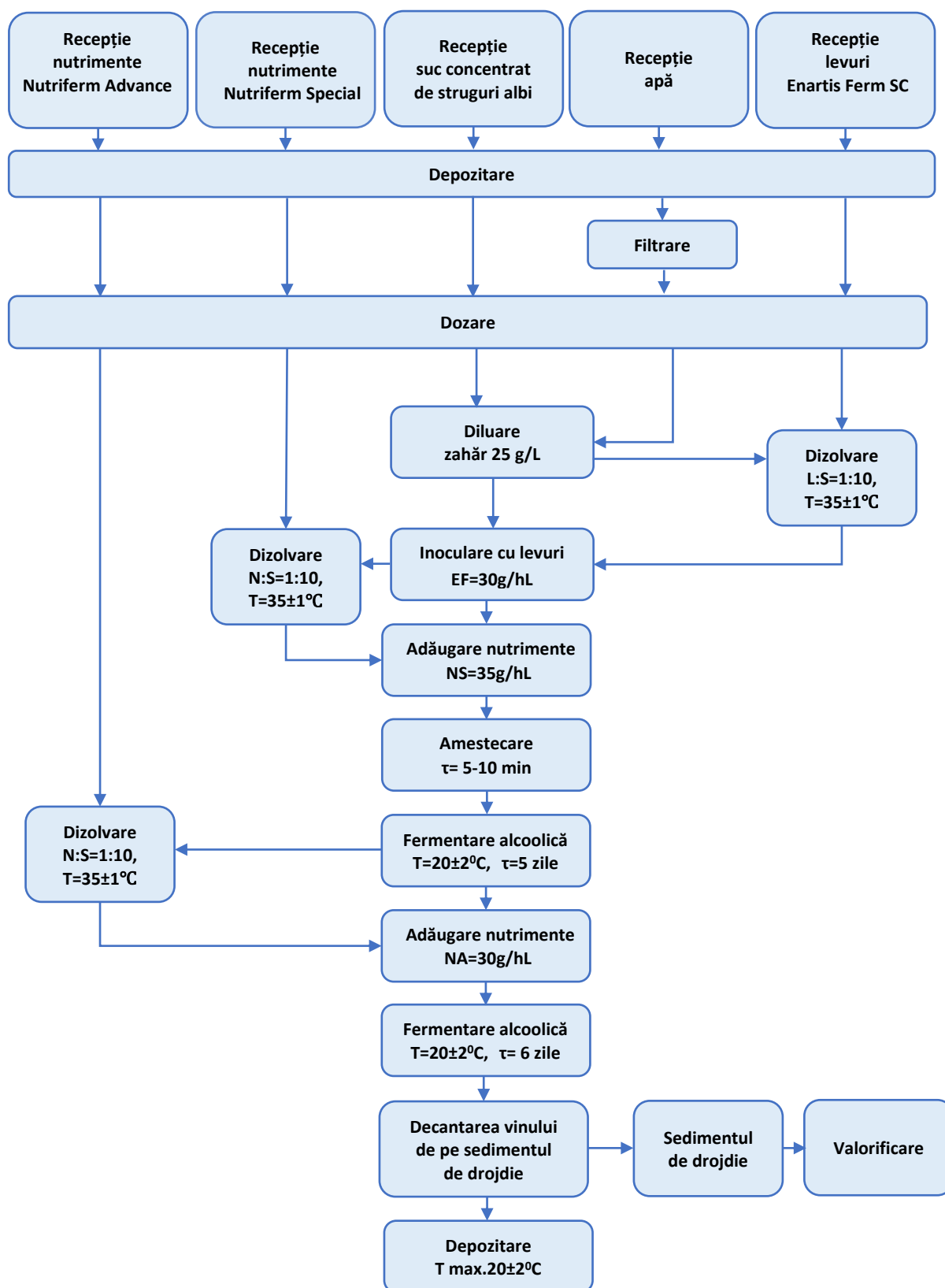


Fig. A.5.1. Schema-bloc a procesului de fermentare alcoolică a concentratului din suc de struguri albi cu utilizarea nutrimenților

Anexa 6

Calculul cantității necesare de dioxid de sulf pentru utilizarea în cercetare

Pentru a majora concentrația de SO_2 într-un vin alb în volum de 100 dal (V_0) de la 40 mg/L (concentrația inițială) (C_2) până la 80 mg/L (C_0) a fost utilizată soluția de SO_2 5% (C_1).

Soluția s-a calculat reieșind din SO_2 5% necesar pentru efectuarea majorării concentrației [125].

Enunț: $V_0 = 100$ dal (1000 L)

$C_1 = 5\%$

$C_2 = 40$ mg/L

$C_0 = 80$ mg/L

$V_0 = ?$

Rezolvare:

1) Cantitatea de SO_2 necesară pentru majorarea concentrației inițiale într-un litru din vin:

$$80 \text{ mg/L} - 40 \text{ mg/L} = 40 \text{ mg/L } \text{SO}_2$$

2) Aflăm cantitatea totală de SO_2 necesară pentru sulfitare, multiplicând volumul vinului destinat sulfității cu valoarea dozei de SO_2 obținută, reieșind din următoarea proporție:

$$1000 \text{ mL} \dots\dots\dots 40 \text{ mg } \text{SO}_2$$

$$100 \text{ mL} \dots\dots\dots X \text{ mg } \text{SO}_2$$

De unde: $X = 4$ mg sau 0,04 g SO_2

3) Calculăm volumul soluției de SO_2 5% necesară pentru majorarea concentrației de SO_2 în vin, reeșind din proporția:

$$1 \text{ L} \dots\dots\dots 40 \text{ mg } \text{SO}_2$$

$$X \text{ L} \dots\dots\dots 0,04 \text{ g } \text{SO}_2$$

De unde $X = 0,0008$ L sau 0,8 mL SO_2

Răspuns: pentru majorarea concentrației de SO_2 de la 40 mg/L până la 80 mg/L în vinul cu volumul de 100 mL sunt necesare 0,8 mL soluție de lucru de SO_2 pentru o probă, care respectiv va conține cea mai mică concentrație de SO_2 adăugată. Pentru următoarele probe concentrația se dublează, în care se va adăuga:

Proba I – cu cantitatea de SO_2 inițială $\Rightarrow 40 \text{ mg/dm}^3$

Proba II - 100 mL vin + 0,8 mL $\text{SO}_2 \Rightarrow 80 \text{ mg/dm}^3$

Proba III - 100 mL vin + 1,6 mL $\text{SO}_2 \Rightarrow 160 \text{ mg/dm}^3$

Proba IV – 100 mL vin + 2,4 mL $\text{SO}_2 \Rightarrow 240 \text{ mg/dm}^3$

Proba V - 100 mL vin + 3,2 mL $\text{SO}_2 \Rightarrow 320 \text{ mg/dm}^3$

LABORATORUL DE ÎNCERCĂRI „ILAS” AL I.P. „INSTITUTULUI DE CHIMIE”
AL MECC AL RM

MD -2028, m. Chișinău, str. Academiei, 3, tel. 022 739 977



RAPORT DE ÎNCERCĂRI

Nr. 75

05 mai 2021

DENUMIREA PROBEI - Oțet din vin alb
 NUMĂRUL DE MOSTRE - 1
 PREZENTATOR - p.f. Boiștean Alina
 TIPUL ȘI SCOPUL ÎNCERCĂRILOR - determinarea metalelor

Nr. or.	Denumirea parametrilor și unitatea de măsură	Valorile depistate	Metoda de încercări
1	Calciu (Ca +), m g/L	79,2	absorbție atomică
2	Magneziu (Mg +), m g/L	53,1	absorbție atomică
3	Fier (Fe) total, m g/L	6,38	absorbție atomică
4	Sodiu g/L	125,3	emisie în flacără
5	Potasiu (K), m g/L	553,8	emisie în flacără
6	Zinc (Mn), m g/L	0,63	absorbție atomică
7	Fosfați (P205), m g/L	260,0	fotocolorimetrică

Notă: Rezultatele încercărilor se referă numai la mostra încercată.
 Multiplicarea raportului de încercări este admisă cu acordul laboratorului

Tatiana Mitina

Fig. A.7.1. Analiza chimică a oțetului din vin alb elaborat

Certificat de implementare

Aprob
Director V. DEVELOP S.R.L.
BACIU Victoria

Prin prezența se confirmă, că în perioada de iunie 2020 - februarie 2021 la întreprinderea Societatea cu Răspundere Limitată V. DEVELOP (r-ul Straseni, sat. Cojusna, str. Revaz Lomtadze 4) au fost efectuate încercări de testare a culturii de bacterii acetice autohtone *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01, izolate din strugurii soiului autohton Nova, în procesul industrial de fabricare a oțetului din vin, în conformitate cu instrucțiuni tehnologice TU 9182-003-94883750-2013.

Implementare a fost realizată de către Doamna Alina BOIȘTEAN- lector universitar, ghidată de Aurica CHIRSANOVA- conferențiar universitar, șef Departament Alimentație și Nutriție din cadrul Facultății Tehnologia Alimentelor a Universității Tehnice a Moldovei și specialiștii întreprinderii noastre.

Confirm că culturile de bacterii *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 au fost introduse în cantitate necesară conform rețetei de producere a oțetului de vin.

Concluzii: Culturile de bacterii acetice autohtone *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 izolate din strugurii soiului autohton Nova, prezintă interes practic și economic și pot fi utilizate în producere la întreprindere.

Recomandare: de a organiza producerea industrială a culturii de bacterii acetice autohtone *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01 pentru fabricarea oțetului organic.

Data 22.01.21



Fig. A.8.1. Certificat de implementare a bacteriilor *Acetobacter aceti* CNMN-AcB-01

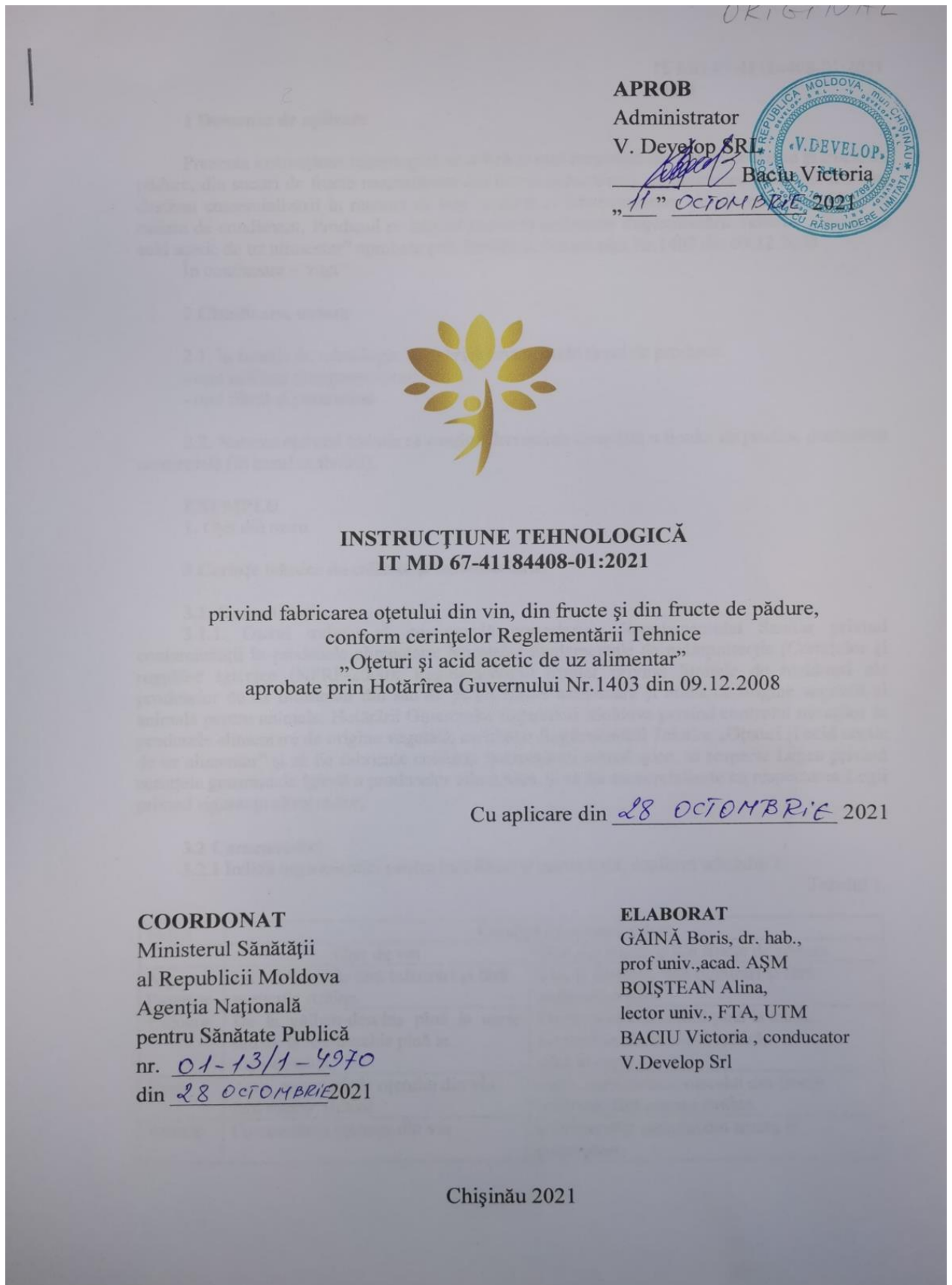


Fig. A.8.2. Instrucțiune tehnologică IT MD 67-41184408-01:2021



Fig. A.9.1. Brevet de invenție nr. 1517, publicat: în BOPI nr.4 30.04.2021
http://www.agepi.md/sites/default/files/bopi/BOPI_04_2021.pdf

CONTRACT DE LICENȚĂ NEECLUSIVĂ

18.04.2022

Universitatea Tehnică a Moldovei
(forma organizatorico-juridică și numele titularului de drept)

în persoana domnului **Bostan Viorel** numit în continuare **Licențiator (Licențiar)**, pe de o parte, și

SRL Fermented Fruits
(forma organizatorico-juridică și denumirea întreprinderii)

în persoana doamnei **Munteanu Ludmila** numit în continuare **Licențiat**, pe de altă parte, luând în considerație faptul că:

1. Licențiatorul (Licențiarul) este titularul drepturilor exclusive asupra brevetului de invenție de scurtă durată, conferite prin certificatul nr. **MD 1517 Y**;

2. Licențiatul dorește să achiziționeze, în condițiile stipulate în prezentul contract, licența de folosire a brevetului de invenție de scurtă durată conform certificatului menționat la pct.1, în scopul comercializării produsului obținut în urma aplicării procedurii descrise în brevetul de invenție de scurtă durată cu nr. **MD 1517 Y**.

au convenit asupra următoarelor:

1. Definierea termenilor

În sensul prezentului contract, termenii de mai jos semnifică:

1.1. „Certificat” - certificatul nr. **MD 1517 Y**, precum și documentele de protecție, care pot fi obținute pentru obiectul prezentului contract în perioada de valabilitate a acestuia.

1.2. „Confidențialitate” – respectarea măsurilor de preîntâmpinare a divulgării accidentale sau intenționate a datelor, ce țin de prezentul contract, persoanelor terțe.

1.3. „Perioadă de dare de seamă” – perioada de activitate a Licențiatului în scopul îndeplinirii clauzelor prezentului contract pentru fiecare trei luni, de la data intrării în vigoare a contractului.

1.4. „Teritoriu” – Republica Moldova.

1.5. „Plăți neto” – plățile ce includ achitarea de către Licențiat a tuturor taxelor și impozitelor.

2. Subiectul contractului

Prin prezentul contract se stabilește modalitatea de folosire de către Licențiat a drepturilor neexclusive ale Licențiatorului asupra brevetului de invenție de scurtă durată înregistrat conform certificatului nr. **MD 1517 Y**.

3. Obiectul contractului

3.1. Licențiatorul (Licențiarul) acordă Licențiatului pentru termenul de valabilitate a prezentului contract și pentru o recompensă din partea Licențiatului, licența neexclusivă de folosire a invenției, protejată prin brevet de scurtă durată.

Totodată, Licențiatului i se acordă dreptul:

de utilizare a brevetului de invenție de scurtă durată, în zona teritorială a Republicii Moldova, cu scopul de a aplica la nivel de producere conform certificatului **MD 1517 Y** ”Procedeu de obținere a oțetului din vin alb,,

12. Alte prevederi

13.1. Drepturile și obligațiile fiecăreia din Părți în conformitate cu prezentul contract nu pot fi cedate unei alte persoane fizice sau juridice fără un acord în scris al celeilalte Părți, cu excepția cazurilor prevăzute de prezentul contract.

13.2. Toate modificările și completările la prezentul contract se întocmesc în scris și sunt semnate de către persoanele împuternicite în acest scop și aprobate de către organele competente, în cazul în care o asemenea aprobare este necesară.

13.3. Sub rezerva prevederilor prezentului contract, în toate celelalte cazuri se vor aplica normele dreptului civil și dreptului procesual civil din Republica Moldova.

13.4. Prezentul contract este încheiat la *18.04.22* în două exemplare.

Adresa și rechizitele bancare ale Părților

<p>LICENȚIATOR: Universitatea Tehnică a Moldovei (UTM)</p> <p>Adresa: Bd. Ștefan cel Mare nr. 168, MD-2004, Chișinău, Republica Moldova Tel.: (022) 23-78-61, fax: (022) 23-85-04 Codul fiscal: 1007600001506 Contul IBAN: MD32AG000000022512015310 Banca beneficiară: BC „Moldova-Agroindbank” SA Codul băncii: AGRNMD2X723</p> <p>Rector Viorel BOSTAN</p> <p>Semnătura <i>[Signature]</i> L.Ș.</p>	<p>LICENȚIAT: SRL Fermented Fruits</p> <p>Adresa: <i>Str. Viorel 12, S. Dăncușeni, Z. Malolovei</i> <i>MD 2084, Republica Moldova</i> Beneficiar: Codul fiscal: <i>1018600024840</i> Contul IBAN: <i>MD56AB000000022513402857</i> Contul bancar: Banca beneficiară: <i>BC „Malolove-Agroindbank”</i> Codul băncii: <i>AGBANMD2X</i></p> <p>Director general Ludmila MUNTEANU</p> <p>Semnătura <i>[Signature]</i> L.Ș.</p>
---	--

Fig. A.9.2. Contract de licență neexclusivă a brevetului de invenție MD 1517 Y

Rezultate sondajului privind opinia consumatorilor despre prepararea băuturilor nealcoolice cu oțet

Cod _____

Bună ziua. În cadrul studiului privind cunoașterea și utilizarea oțetului la prepararea băuturilor nealcoolice în rândul populației vă rugăm să completați chestionarul următor. Vă asigurăm deplina confidențialitate a opiniilor dumneavoastră. Interesul nostru este doar de a cunoaște opiniile consumatorilor despre băuturile nealcoolice cu oțet. Vă mulțumim!

1. Sexul respondentului:

- masculin feminin

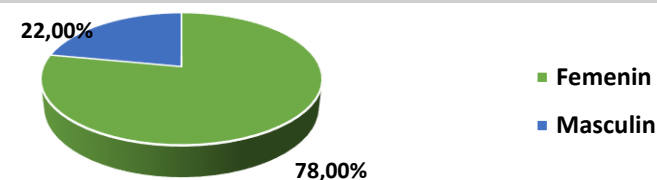


Fig. A.10.1. Sexul respondentului

2. Vârsta respondenților

- până la 18 ani
 18-30 ani
 30-50 ani
 peste 50 ani

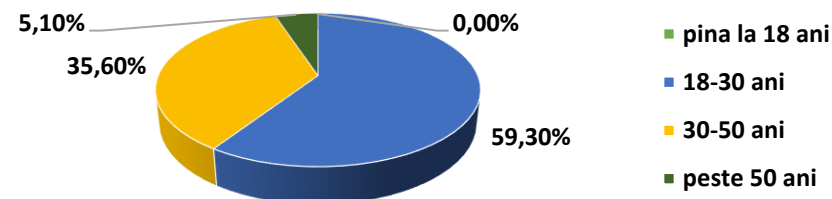


Fig. A.10.2. Vârsta respondenților

3. Locul de trai:

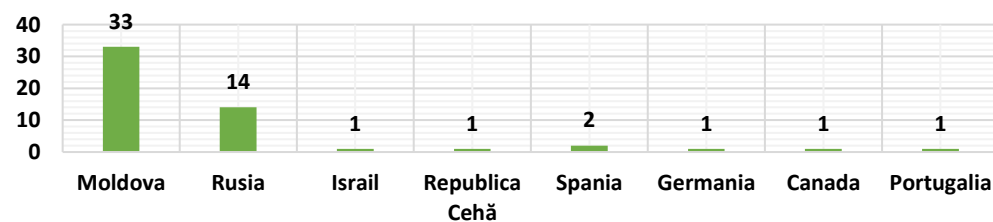


Fig. A.10.3. Locul de trai al respondenților

4. Ocupația

- Elev
- Student
- Angajat
- Antreprenor
- Casnic
- Fără ocupație

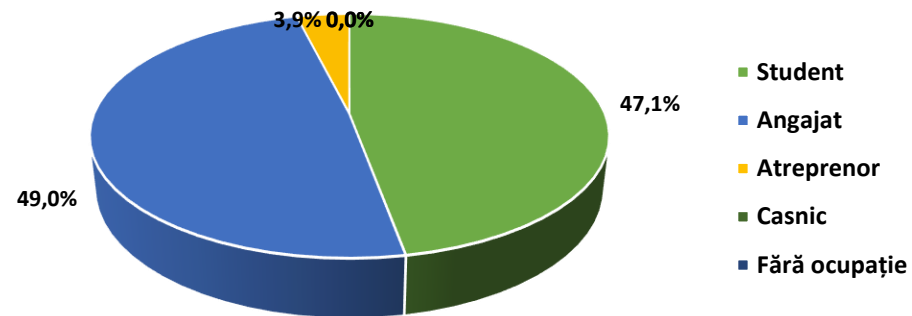


Fig. A.10.4. Ocupația respondenților

5. Studii

- Gimnaziu
- Liceu
- Facultate
- Studii post universitare

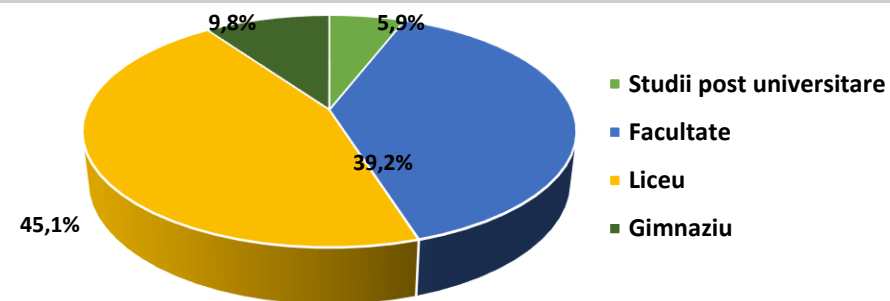


Fig. A.10.5. Studii

6. Ce unități ale alimentației publice preferați să vizitați în timpul liber?

- Bar
- Cafenea/restaurant
- Fast-food
- Cluburi de noapte
- Nici una

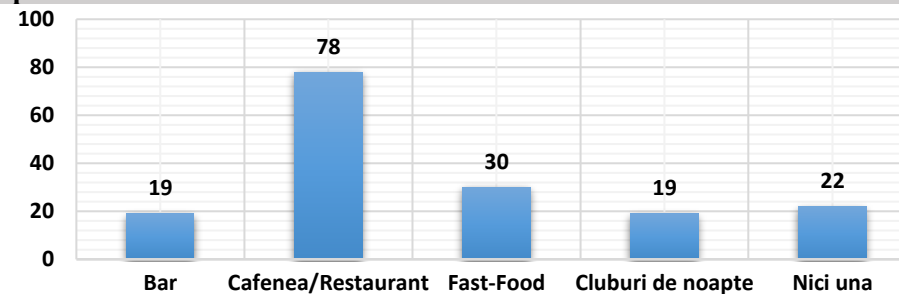


Fig. A.10.6. Tipul UAP preferat

7. Ce tip de băuturi preferați?

- Sucuri fresh
- Sucuri din comerț
- Băuturi din comerț
- Cocktailuri
- Băuturi de casă (compot, smoothie, etc.)
- Varianta dvs. _____

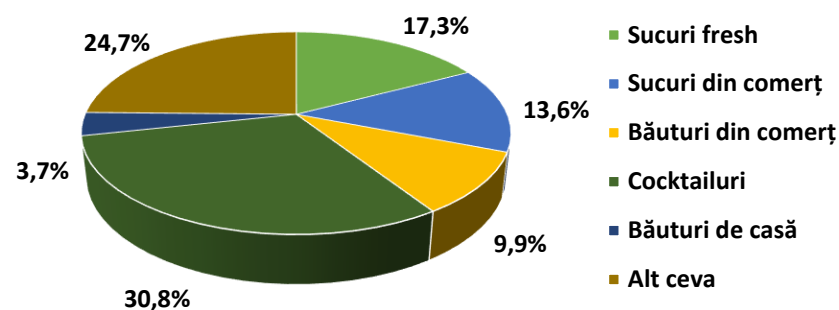


Fig. A.10.7. Preferințe de băuturi

8. Ce este important pentru dumneavoastră în băutură?

- Prețul
- Naturalitatea și autenticitatea
- Potolește setea
- Gustul dulce
- Gustul original și unic

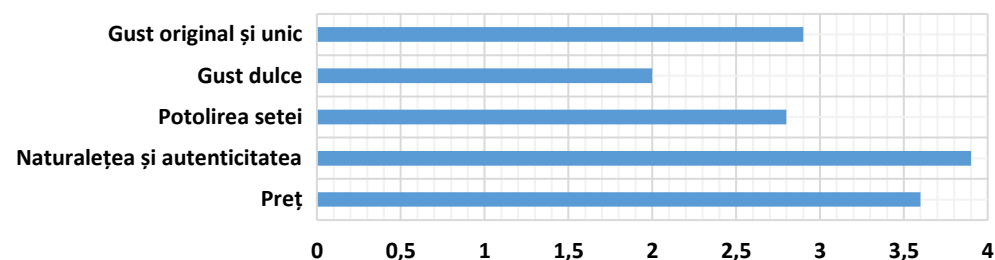


Fig. A.10.8. Factori importanți ai băuturilor nealcoolice

9. Ce părere aveți despre băuturile care conțin oțet?

- Nu mi-ar plăcea să degust
- Cred că este delicioasă
- Nu pot da un răspuns până nu degust

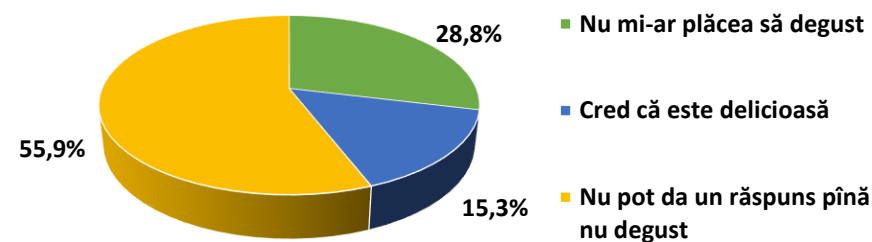


Fig. A.10.9. Părerea privind băuturile care conțin oțet

10. Ați consumat vreodată băuturi nealcoolice în care a fost utilizat oțetul?

- Da
- Nu

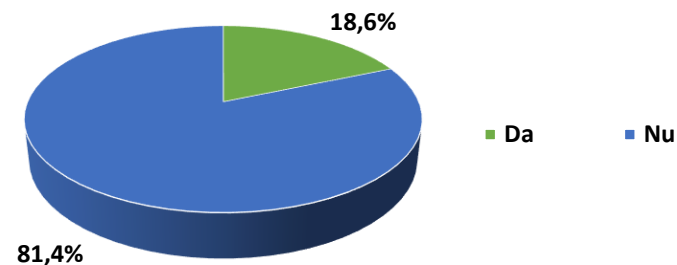


Fig. A.10.10. Consumarea băuturilor care conțin oțet

11. Dacă ați răspuns pozitiv la întrebarea 9, atunci cu ce scop?

- Pentru slăbire
- Pentru a îmbunătăți sau a menține sănătatea
- Pentru un gust special
- N-am consumat

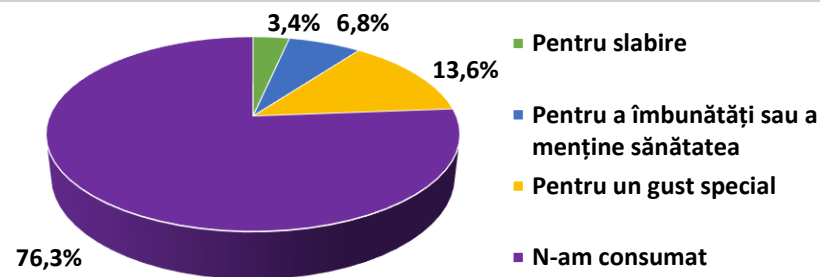


Fig. A.10.11. Scopul utilizării băuturilor pe bază de oțet

12. Ce tip de oțet ați folosit în băuturile nealcoolice preparate de Dvs. în condiții casnice?

- De vin
- De masă
- Balsamic
- De orez
- De mere
- De malț
- Varianta dvs. _____

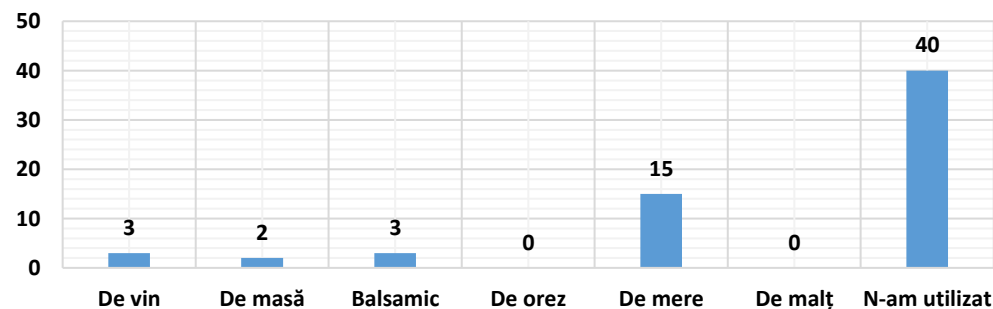


Fig. A.10.12. Utilizarea oțetului la prepararea băuturilor nealcoolice

13. V-ar plăcea să găsiți pe rafturile magazinelor băuturi nealcoolice în care au fost folosite diferite tipuri de oțet?

- Da
- Nu
- Nu-mi pasă

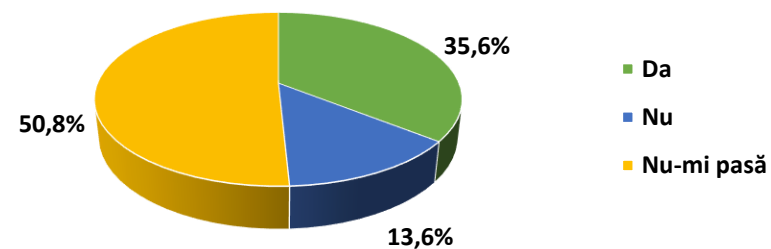


Fig. A.10.13. Părerea privind apariția băuturilor cu oțet pe rafturi

14. Credeți că utilizarea oțetului diluat are un efect pozitiv sau negativ asupra organismului uman?

- Pozitiv
- Negativ
- Depinde de calitatea oțetului

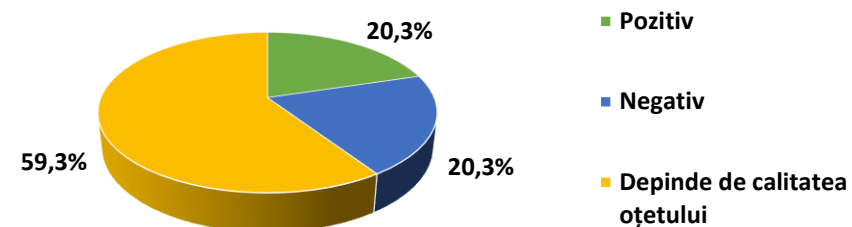


Fig. A.10.14. Influența oțetului asupra organismului

15. Dacă ați răspuns pozitiv la întrebarea 14, atunci pentru care boli va fi benefică consumul băuturilor cu oțet?

- Diabetul zaharat
- Bolile cardiovasculare
- Obezitatea
- Intoxicații
- Toate răspunsurile de mai sus
- Nici unul din răspunsurile de mai sus

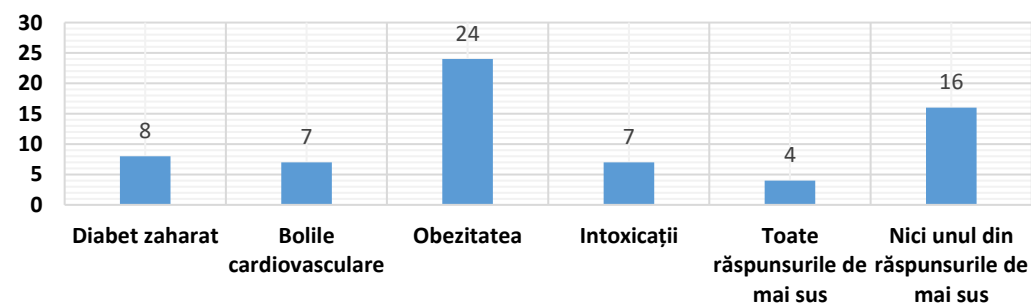


Fig. A.10.15. Cunoașterea influenței benefice a băuturilor cu oțet

16. Cum vă place ideea de a folosi sirop concentrat din fructe, oțet și zahăr pentru cocktailuri în loc de siropuri și lichioruri pe bază de adausuri sintetice?

- Cred că aceasta va fi o alternativă bună și utilă
- Cred că acest sirop nu se va încadra în rețete clasice

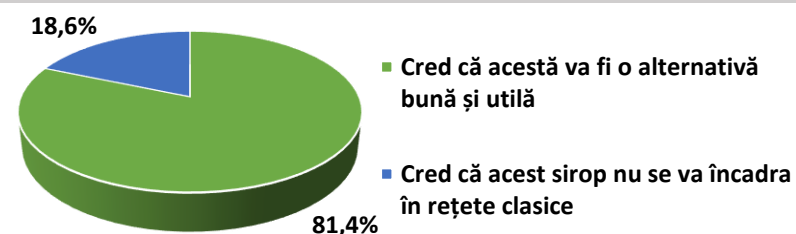


Fig. A.10.16. Părerea privind înlocuirea siropurilor

17. Ați auzit de băutura scrub? (Aceasta este o băutură veche americană, în care fructele sunt maturate în oțet timp de aproximativ o săptămână, apoi se adaugă o cantitate mare de zahăr.)

- Am auzit și am gustat
- Am auzit, dar n-am gustat
- N-am auzit și n-am gustat

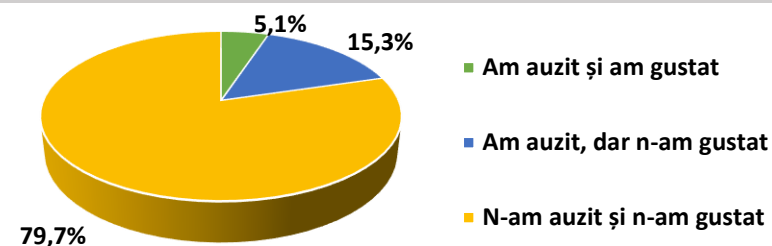


Fig. A.10.17. Cunoștințele privind băuturile cu oțet

18. Dacă astfel de băutura (scrub) apare în meniul unităților de alimentație publică sau pe rafturile magazinelor, care este probabilitatea să o cumpărați?

- Cu plăcere voi cumpăra
- Posibil, depinde de preț
- Nu-l voi cumpăra

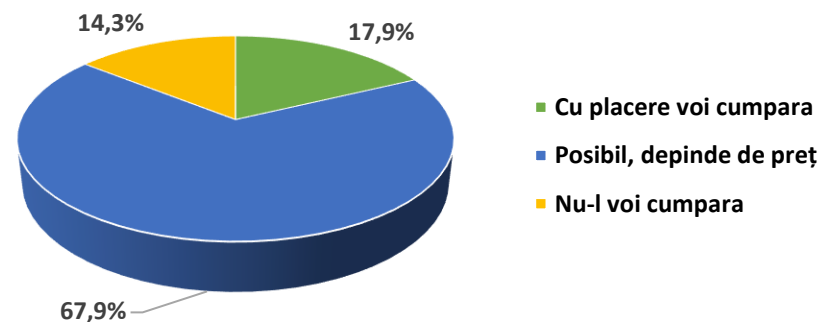


Fig. A.10.18. Nivelul de cumpărare a băuturilor

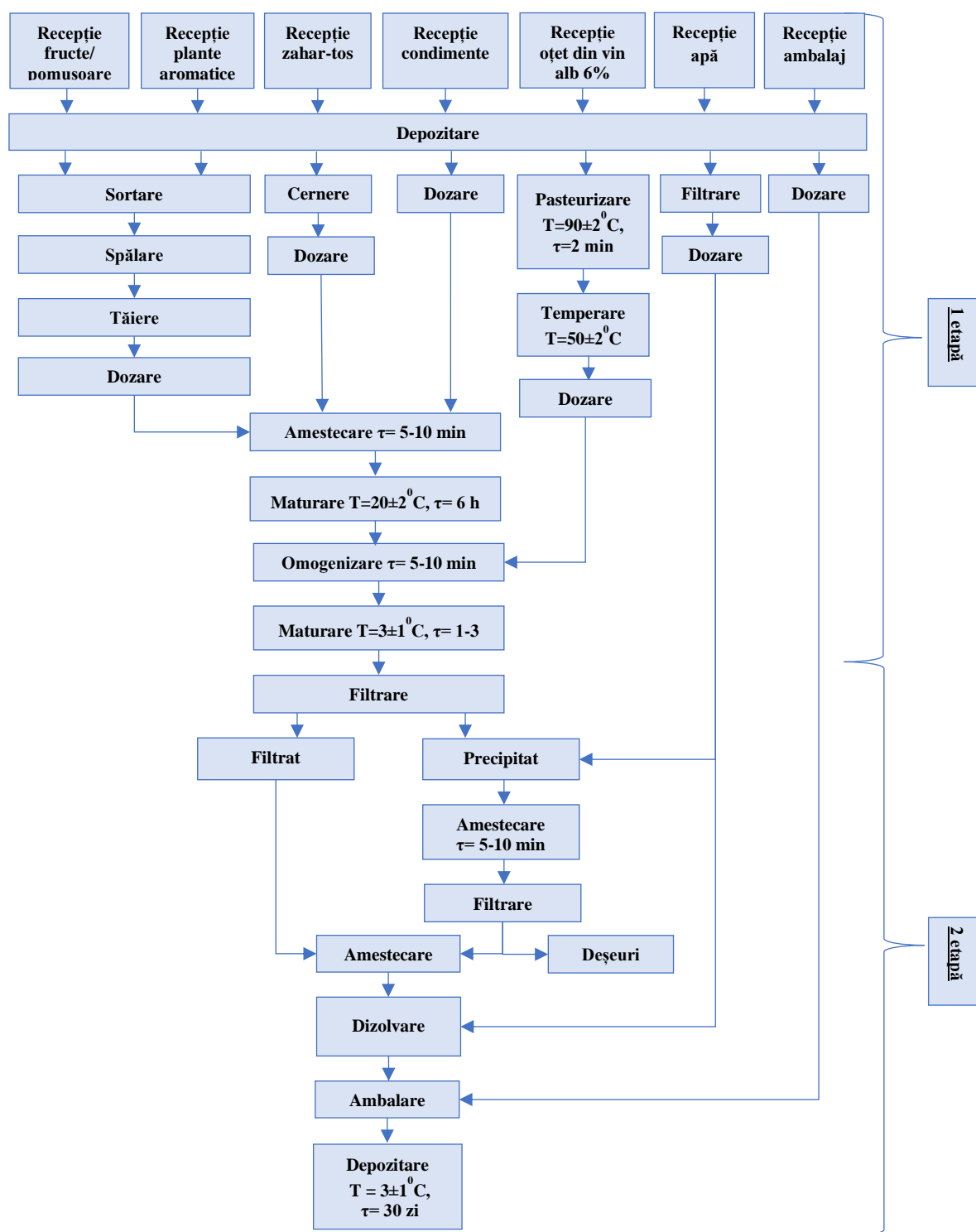


Fig. A.11.1. Schema-bloc de obținere a băuturilor nealcoolice cu oțet din vin alb

CONSIMȚĂMÂNT INFORMAT AL VOLUNTARULUI
Vă rugăm să citiți și să completați formularul cu atenție!!!

Titlul studiului: Efectul băuturii nealcoolice cu oțet din vin alb asupra indicelui glicemic

Scopul studiului: Determinare efectului a băuturii nealcoolice cu oțet din vin alb asupra nivelului glicemiei


Subsemnatul/a: Suonic Renat

IDNP: -,

Domiciliat:

Descrieți starea de sănătate: Bună

Nr	Informații	Răspunsul	
		DA	NU
1.	Am fost informat/ă despre acest studiu.	✓	
2.	Mi s-a oferit ocazia de a pune întrebări și mi s-a răspuns la nelămuririle pe care le-am avut în legătură cu acest studiu.	✓	
3.	Fiind informat le accept și îmi asum răspunderea pentru efectuarea tuturor investigațiilor necesare și prezentarea rezultatului.	✓	
4.	Am fost informat că pentru reușita studiului, prima condiție este ca investigație să fie efectuată zilnic, obligatoriu pe stomac gol.	✓	
5.	Înțeleg că, dacă într-o zi am uitat să măsoar preventiv nivelul zaharului din sânge, atunci nu încerc să-și continui investigație.	✓	
6.	Înțeleg că, dacă în cazul în care nu am respectat doza corectă a băuturii, atunci investigație va fi irosită.	✓	
7.	În cazul în care constat că apar simptome sau organismului reacționează negativ, atunci opresc investigații și anunț pe curator.	✓	
8.	Mă declar de acord cu instituirea acestui studiu precum și a tuturor examenelor necesare.	✓	
9.	Mă declar de acord să urmez instrucțiunile curatorului, să răspund la întrebări și să efectuez în timp toate manifestare tratamentului.	✓	
10.	Mă declar de acord cu prelucrarea datelor personale și prezentarea rezultatelor investigații.	✓	

Data: 17.10.2020 Semnătura: 

CONSIMȚĂMÂNT INFORMAT AL VOLUNTARULUI
Vă rugăm să citiți și să completați formularul cu atenție!!!

Titlul studiului: Efectul băuturii nealcoolice cu oțet din vin alb asupra indicelui glicemic

Scopul studiului: Determinare efectului a băuturii nealcoolice cu oțet din vin alb asupra nivelului glicemiei


Subsemnatul/a: Bem Margarita

IDNP: -,

Domiciliat:

Descrieți starea de sănătate: Sănătoasă

Nr	Informații	Răspunsul	
		DA	NU
1.	Am fost informat/ă despre acest studiu.	✓	
2.	Mi s-a oferit ocazia de a pune întrebări și mi s-a răspuns la nelămuririle pe care le-am avut în legătură cu acest studiu.	✓	
3.	Fiind informat le accept și îmi asum răspunderea pentru efectuarea tuturor investigațiilor necesare și prezentarea rezultatului.	✓	
4.	Am fost informat că pentru reușita studiului, prima condiție este ca investigație să fie efectuată zilnic, obligatoriu pe stomac gol.	✓	
5.	Înțeleg că, dacă într-o zi am uitat să măsoar preventiv nivelul zaharului din sânge, atunci nu încerc să-și continui investigație.	✓	
6.	Înțeleg că, dacă în cazul în care nu am respectat doza corectă a băuturii, atunci investigație va fi irosită.	✓	
7.	În cazul în care constat că apar simptome sau organismului reacționează negativ, atunci opresc investigații și anunț pe curator.	✓	
8.	Mă declar de acord cu instituirea acestui studiu precum și a tuturor examenelor necesare.	✓	
9.	Mă declar de acord să urmez instrucțiunile curatorului, să răspund la întrebări și să efectuez în timp toate manifestare tratamentului.	✓	
10.	Mă declar de acord cu prelucrarea datelor personale și prezentarea rezultatelor investigații.	✓	

Data: 17.10.2020 Semnătura: 

CONSIMȚĂMÂNT INFORMAT AL VOLUNTARULUI
Vă rugăm să citiți și să completați formularul cu atenție!!!

Titlul studiului: Efectul băuturii nealcoolice cu oțet din vin alb asupra indicelui glicemic

Scopul studiului: Determinare efectului a băuturii nealcoolice cu oțet din vin alb asupra nivelului glicemiei


Subsemnatul/a: Boiștean Alina

IDNP: -,

Domiciliat:

Descrieți starea de sănătate: sănătate bună

Nr	Informații	Răspunsul	
		DA	NU
1.	Am fost informat/ă despre acest studiu.	✓	
2.	Mi s-a oferit ocazia de a pune întrebări și mi s-a răspuns la nelămuririle pe care le-am avut în legătură cu acest studiu.	✓	
3.	Fiind informat le accept și îmi asum răspunderea pentru efectuarea tuturor investigațiilor necesare și prezentarea rezultatului.	✓	
4.	Am fost informat că pentru reușita studiului, prima condiție este ca investigație să fie efectuată zilnic, obligatoriu pe stomac gol.	✓	
5.	Înțeleg că, dacă într-o zi am uitat să măsoar preventiv nivelul zaharului din sânge, atunci nu încerc să-și continui investigație.	✓	
6.	Înțeleg că, dacă în cazul în care nu am respectat doza corectă a băuturii, atunci investigație va fi irosită.	✓	
7.	În cazul în care constat că apar simptome sau organismului reacționează negativ, atunci opresc investigații și anunț pe curator.	✓	
8.	Mă declar de acord cu instituirea acestui studiu precum și a tuturor examenelor necesare.	✓	
9.	Mă declar de acord să urmez instrucțiunile curatorului, să răspund la întrebări și să efectuez în timp toate manifestare tratamentului.	✓	
10.	Mă declar de acord cu prelucrarea datelor personale și prezentarea rezultatelor investigații.	✓	

Data: 17.10.2020 Semnătura: 

CONSIMȚĂMÂNT INFORMAT AL VOLUNTARULUI
Vă rugăm să citiți și să completați formularul cu atenție!!!

Titlul studiului: Efectul băuturii nealcoolice cu oțet din vin alb asupra indicelui glicemic

Scopul studiului: Determinare efectului a băuturii nealcoolice cu oțet din vin alb asupra nivelului glicemiei

Subsemnatul/a: Națibulina Maria

IDNP: -,

Domiciliat:

Descrieți starea de sănătate: sănătoasă

Nr	Informații	Răspunsul	
		DA	NU
1.	Am fost informat/ă despre acest studiu.	✓	
2.	Mi s-a oferit ocazia de a pune întrebări și mi s-a răspuns la nelămuririle pe care le-am avut în legătură cu acest studiu.	✓	
3.	Fiind informat le accept și îmi asum răspunderea pentru efectuarea tuturor investigațiilor necesare și prezentarea rezultatului.	✓	
4.	Am fost informat că pentru reușita studiului, prima condiție este ca investigație să fie efectuată zilnic, obligatoriu pe stomac gol.	✓	
5.	Înțeleg că, dacă într-o zi am uitat să măsoar preventiv nivelul zaharului din sânge, atunci nu încerc să-și continui investigație.	✓	
6.	Înțeleg că, dacă în cazul în care nu am respectat doza corectă a băuturii, atunci investigație va fi irosită.	✓	
7.	În cazul în care constat că apar simptome sau organismului reacționează negativ, atunci opresc investigații și anunț pe curator.	✓	
8.	Mă declar de acord cu instituirea acestui studiu precum și a tuturor examenelor necesare.	✓	
9.	Mă declar de acord să urmez instrucțiunile curatorului, să răspund la întrebări și să efectuez în timp toate manifestare tratamentului.	✓	
10.	Mă declar de acord cu prelucrarea datelor personale și prezentarea rezultatelor investigații.	✓	


Data: 17.10.2020 Semnătura: 

Fig. A.12.1. Consimțământ informat al voluntarului

Rezultatele monitorizării glucozei plasmaticice

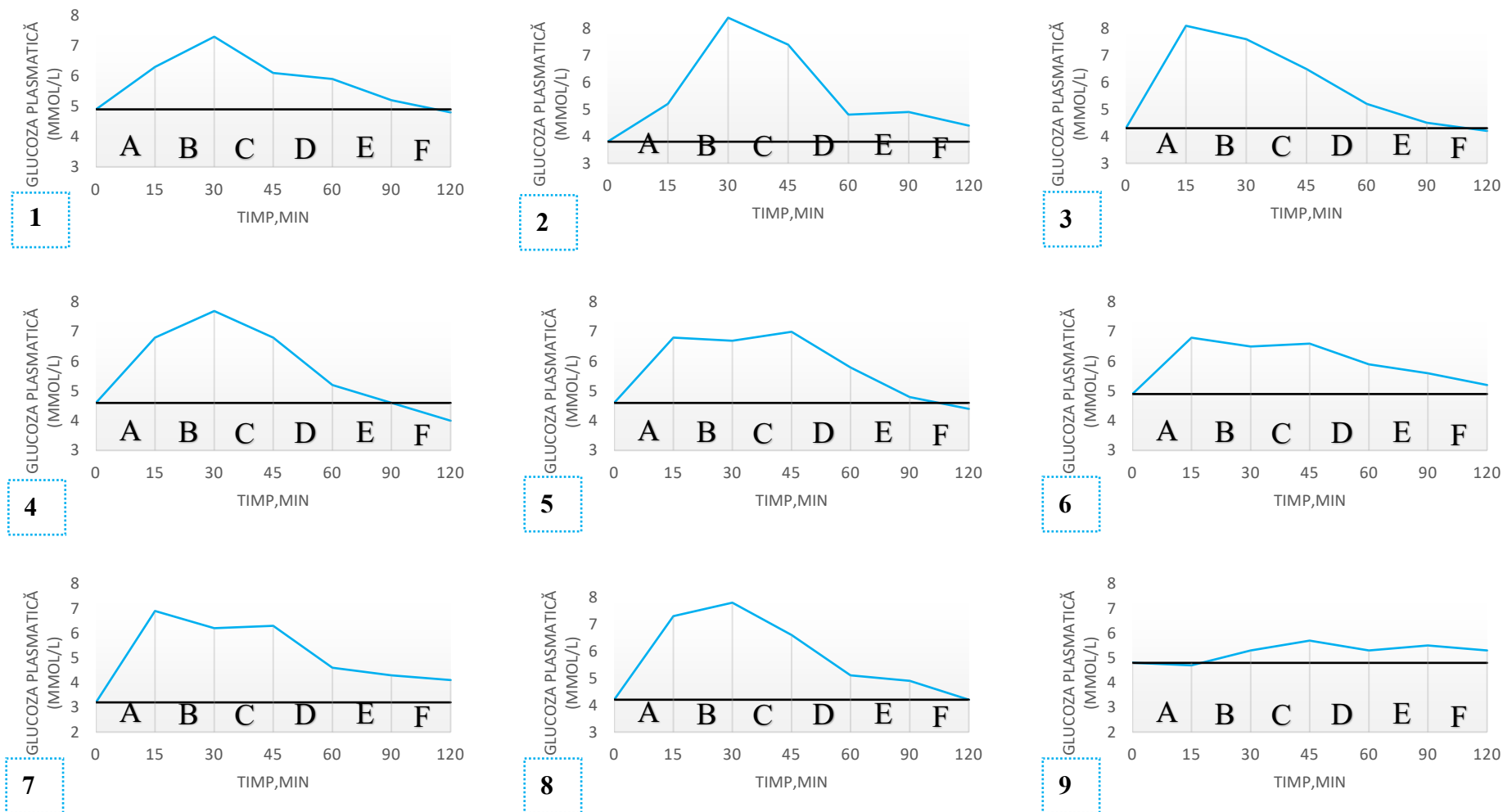


Fig. A.13.1. Graficele nivelului de zahărului din sânge față de timp după consumarea etalonului (glucoză praf) pentru fiecare participant

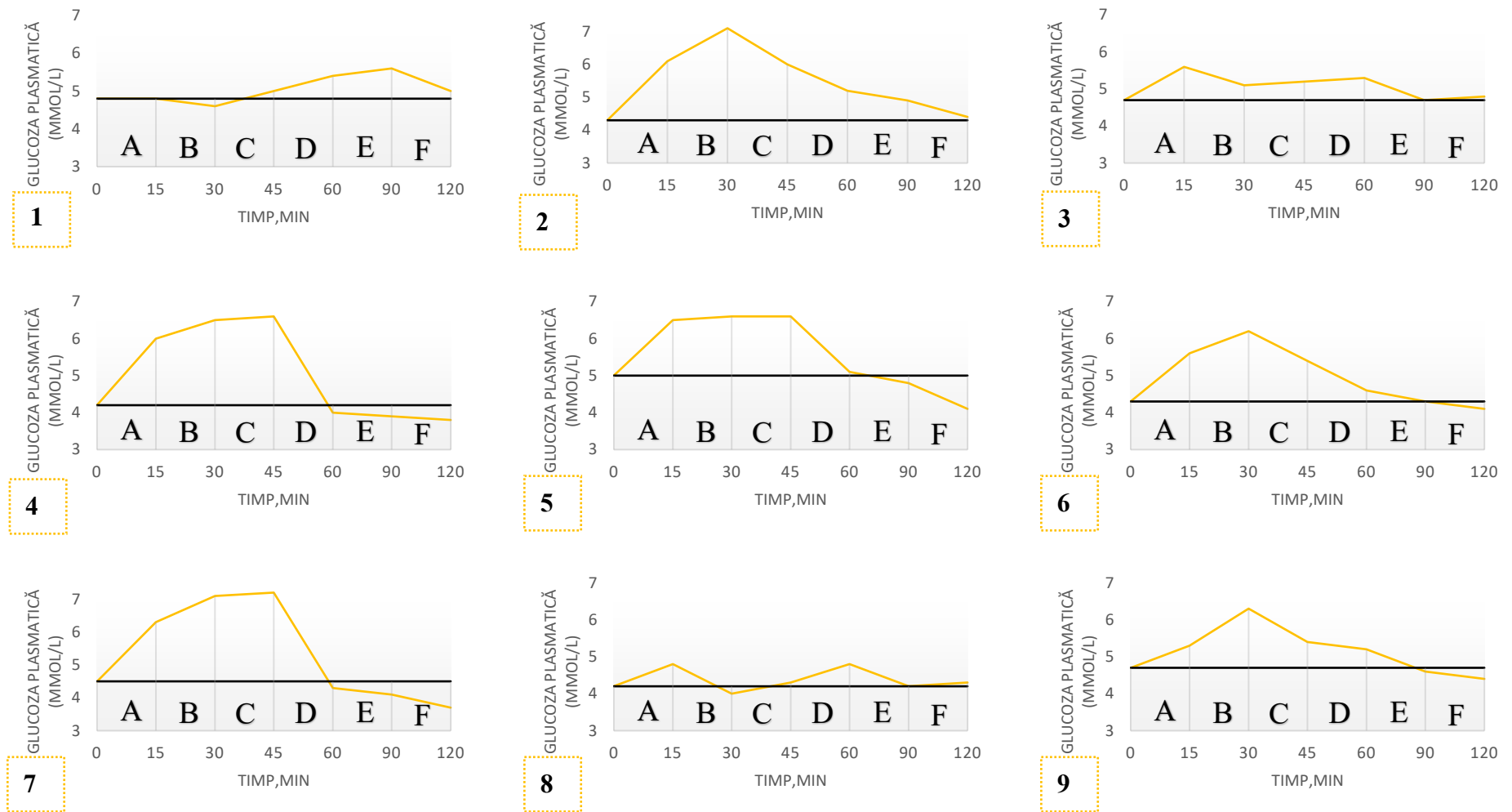


Fig. A.13.2. Graficele nivelului de zahărului din sânge față de timp după consumarea băuturii din prune cu levănțică pentru fiecare participant

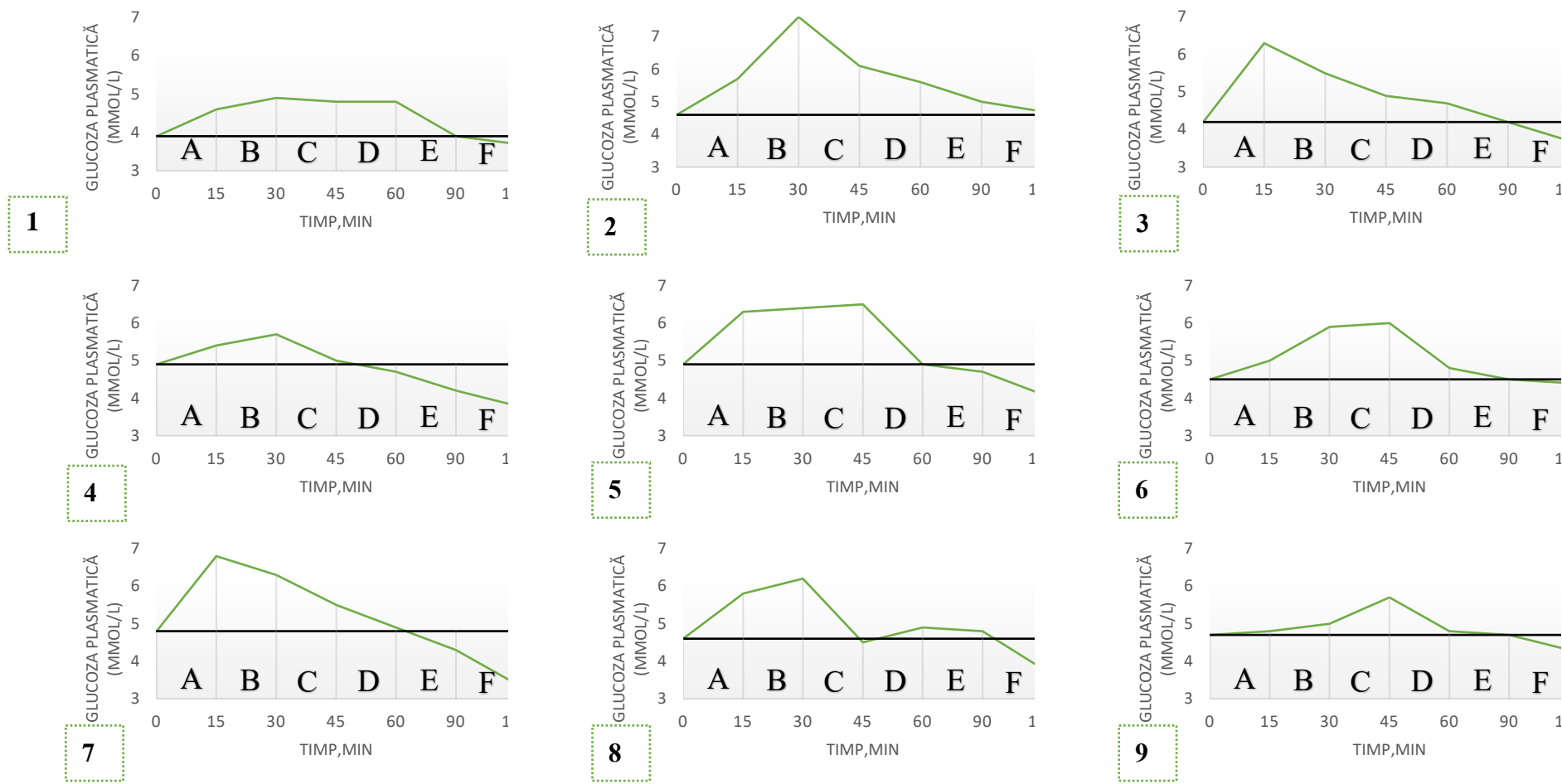


Fig. A.13.3. Graficele nivelului de zahărului din sânge față de timp după consumarea băuturii din piersici cu scorțișoară pentru fiecare participant

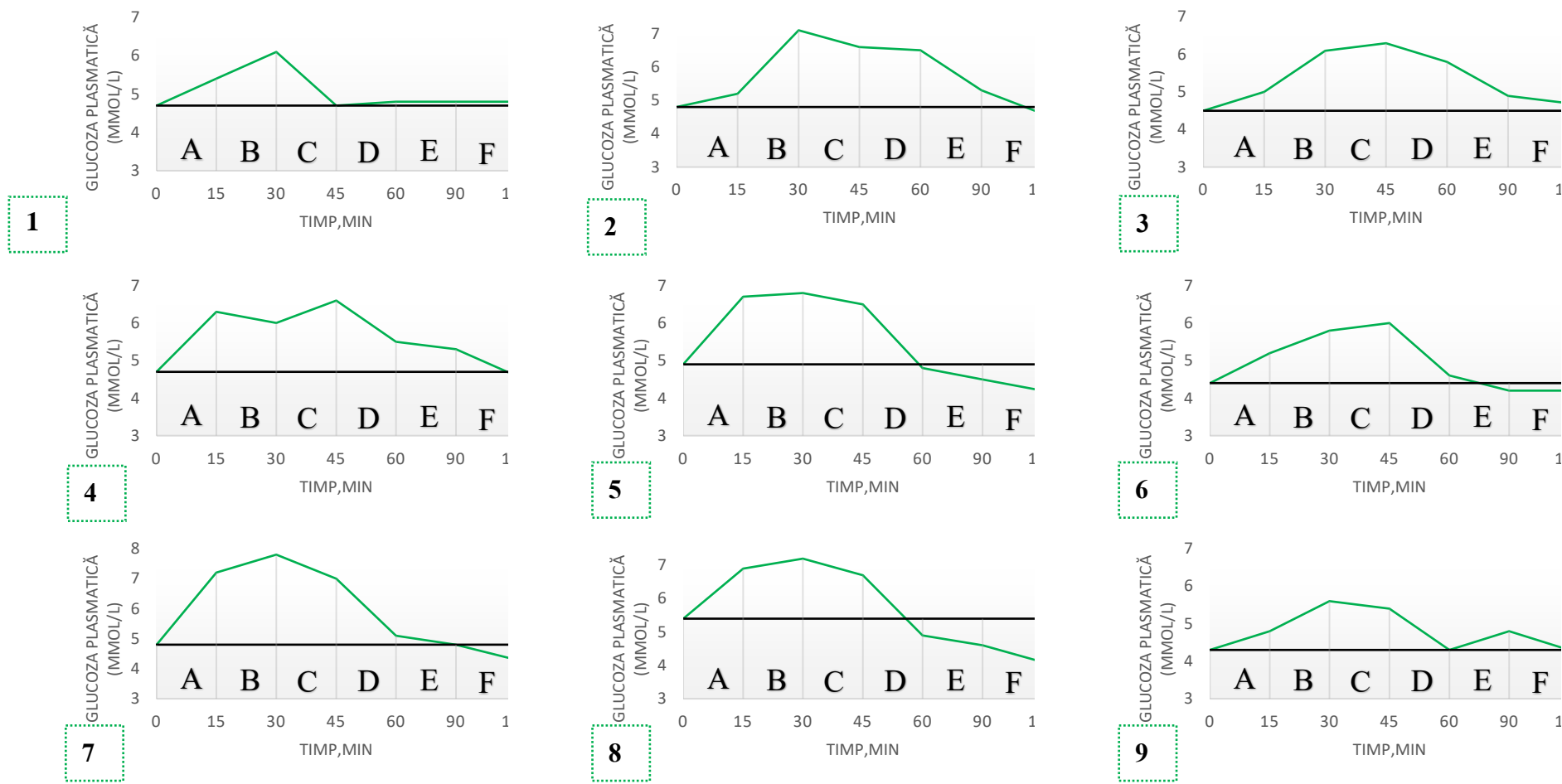


Fig. A.13.4. Graficele nivelului de zahărului din sânge față de timp după consumarea băuturii din mere cu vanilie pentru fiecare participant

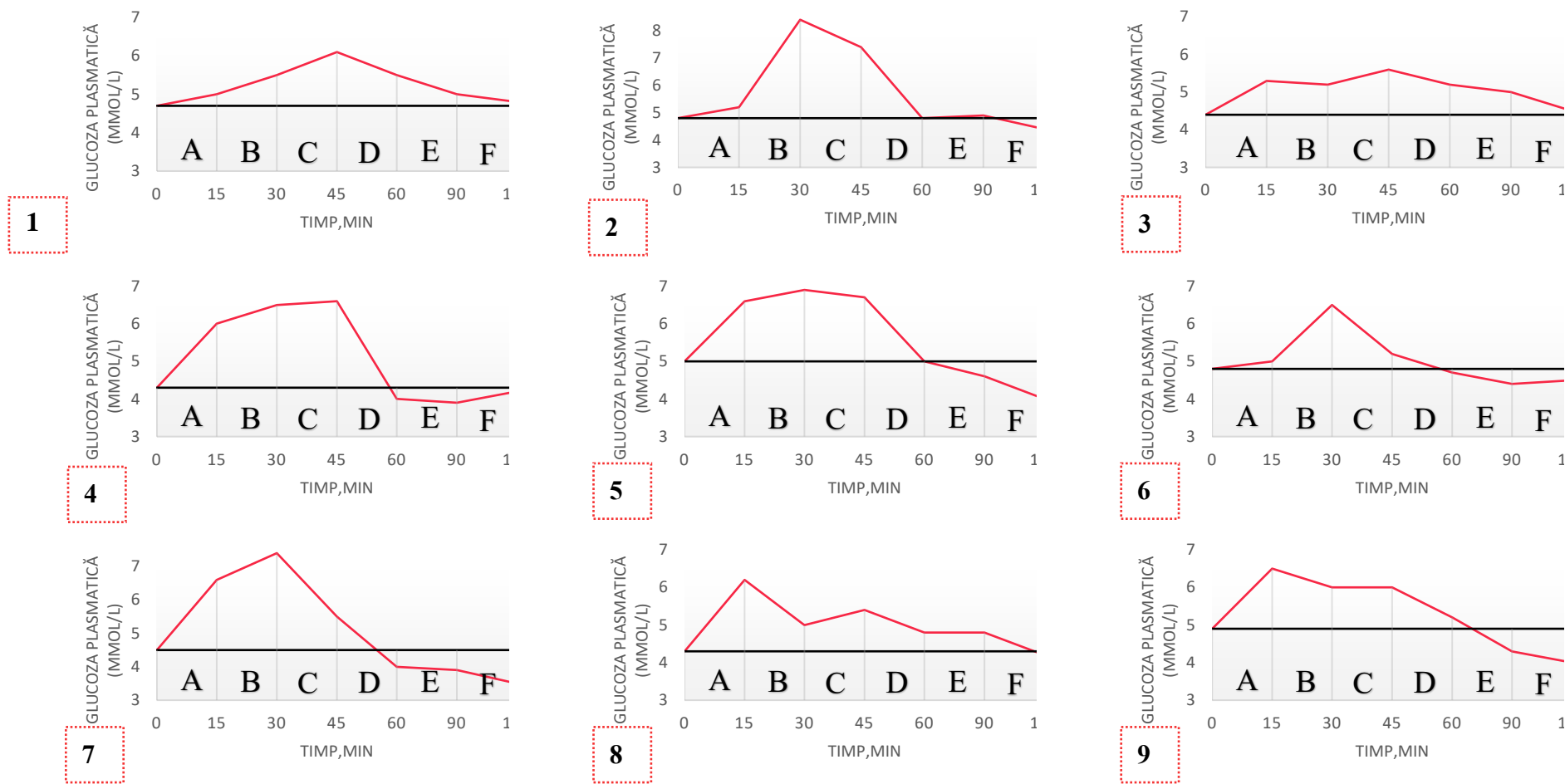


Fig. A.13.5. Graficele nivelului de zahărului din sânge față de timp după consumarea băuturii din cășună cu busuioc pentru fiecare participant

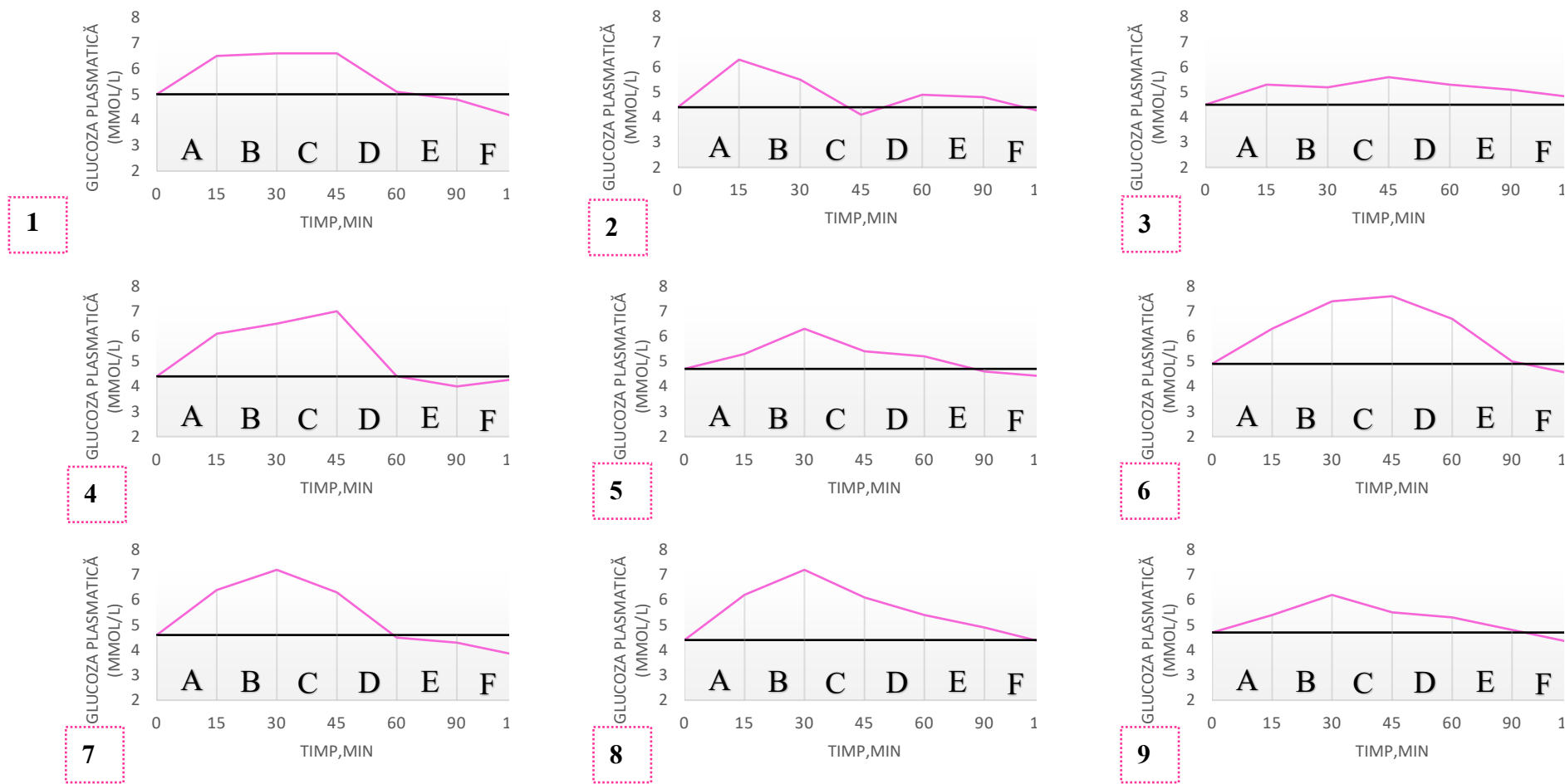


Fig. A.13.6. Graficele nivelului de zahărului din sânge față de timp după consumarea băuturii din zmeură cu mentă pentru fiecare participant

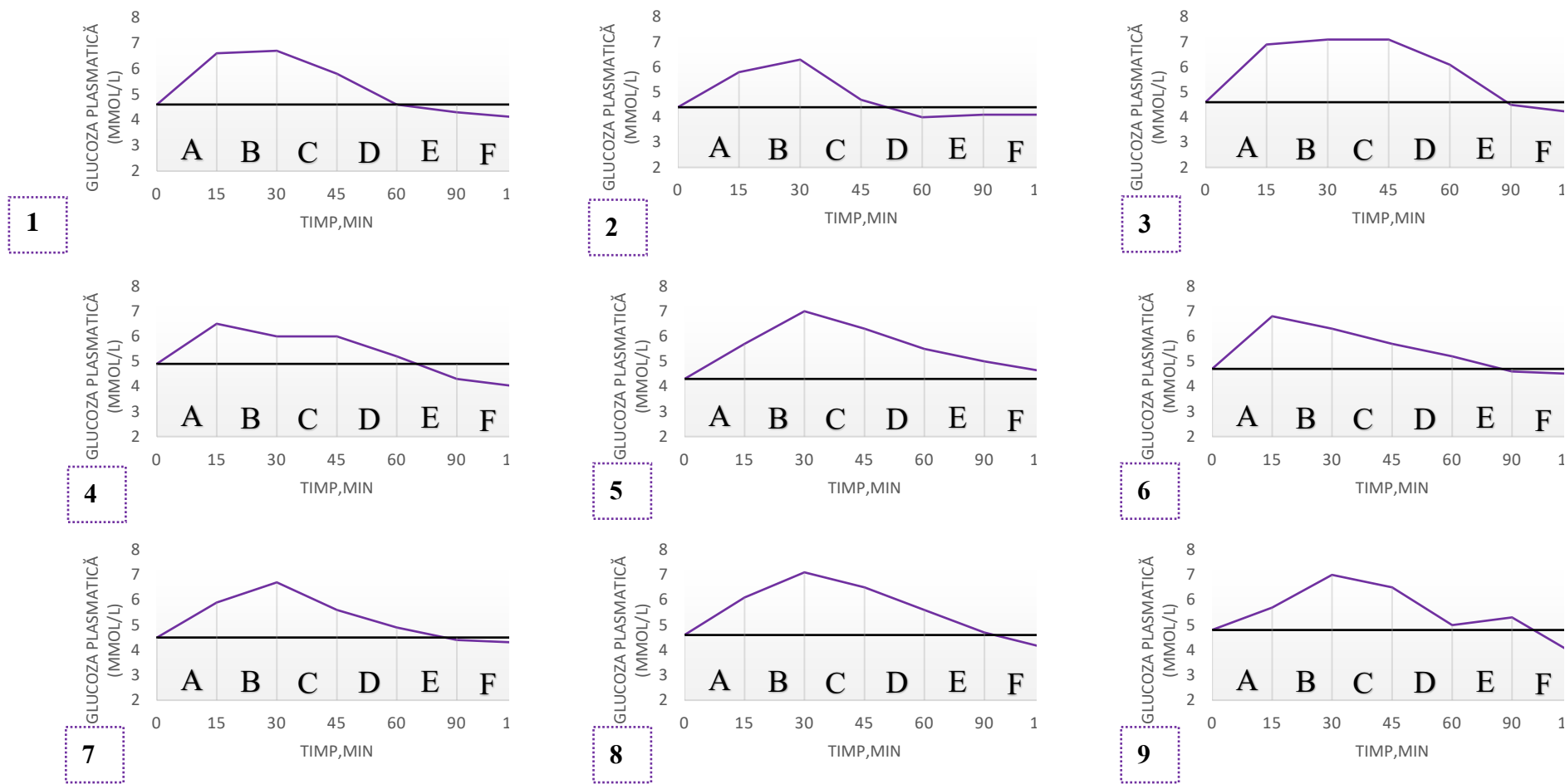


Fig. A.13.7. Graficele nivelului de zahărului din sânge față de timp după consumarea băuturii din zmeură cu mentă fără oțet pentru fiecare participant

DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnata, Boiștean Alina, declar pe răspunderea personală că materialele prezentate în teza de doctor sunt rezultatul propriilor cercetări și realizări științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

BOIȘTEAN Alina

Semnătura:



Data: 01.01.2022

CURRICULUM VITAE

PERSONAL INFORMATION



BOIȘTEAN ALINA

📍 str. Florilor 4/3, ap 12, Chișinău, MD-2068, Republica Moldova
☎ +37369081217
✉ alina.boistean@toap.utm.md
🏠 alina.boistean@mail.ru

Sex Feminin | Date of birth 24/09/1982 | Nationality Moldoveancă

WORK EXPERIENCE

2005- 2010 Manager Vânzări, SRL Dina Cociug, mun. Chișinău
Inginer cat. I ,Universitatea Tehnica a Moldovei
2010- 2012 Facultatea Tehnologia Alimentelor
Departamentul Alimentație și Nutriție
2012- 2018 Maistru de instruire, Universitatea Tehnica a Moldovei
Facultatea Tehnologia Alimentelor
Departamentul Alimentație și Nutriție
2018- 2022 Lector universitar, Universitatea Tehnica a Moldovei
Facultatea Tehnologia Alimentelor
Departamentul Alimentație și Nutriție

EDUCATION AND TRAINING

2018 Certificat de absolvire - cursul de perfecționare la specialitatea - Utilizarea mijloacelor informaționale de comunicare în învățământ
2012- prezent Studii ciclul III, Doctorat, Universitatea Tehnica a Moldovei, Școala Doctorală
Domeniu: 05.18.01 – Tehnologia produselor alimentare
Specialitatea: 253.01 – Tehnologia produselor de origine vegetală
2006-2007 Studii ciclul II, Master
Universitatea Tehnica a Moldovei ,Tehnologia produselor alimentare. Calitatea si securitatea produselor alimentare
2005 Certificat de absolvire - cursul de contabilitate pentru începători
2001-2005 Studii ciclul I, Licență, Universitatea Tehnica a Moldovei
Tehnologia produselor alimentației publice
1989-2001 Liceul Teoretic №3 or. Drochia

6-11 iulie 2020	Certificat de participare la Conferința Internațională EDUCAȚIE ONLINE 50 de webinare și sesiuni Facebook Live
24 iunie 2020	Certificat de participare la webinar ”Открытый доступ: что надо знать выбирая журнал для публикации” organizat de editura John Wiley&Sons
04 februarie 2020	Certificat de participare la training ”HOW TO PUBLISH” organizat de editura SPRINGER NATURE
18-19 decembrie 2019	Certificat de participare la webinar ”Поиск научной информации и подходящего журнала для публикации на платформе Wiley Online Library” și ” Публикация в открытом доступе” organizat de editura John Wiley&Sons
17 octombrie 2019	Diplomă de apreciere pentru promovarea activă a valorilor științifice și ingineresti în cadrul celei de-a XIV-a ediții a conferinței internaționale ”Zilele Academiei de Științe Tehnice din România: Creativitatea în dezvoltarea Societății Informaționale”
24 septembrie 2019	Diplomă de apreciere pentru dedicație, consecvența, implicare pleneră în activitatea comunității academice a UTM
06 septembrie 2019	Certificate of Attendance to 9 th Euro-aliment Symposium

16-19 iulie 2019	Certificat de participare la școală de vară « <i>Les contaminants et les nutriments des produits agroalimentaires et leur effet sain</i> »
26-29 martie	Diploma de mențiune pentru lucrarea „Influence du processus d’ozonation sur la teneur en nitrates des racines”
22-23 februarie 2019	Certificat de participare la formare « <i>Recherche doctorale entre changement et qualité</i> »
11 februarie 2019	Certificat de participare la training ”HOW TO PUBLISH” organizat de editura SPRINGER NATURE
17-19 decembrie 2018	Atestat de participare la colocviu internațional ”Aliments fonctionnels et produits écologiques”
18-19 iunie 2018	Certificat de participare „ <i>Principes et pratiques de la communication scientifique et technique</i> ”
10 mai 2018	Certificat de participare la activitatea practică “ <i>L’oeuf et la volaille</i> ” predat de profesor Marc FOUCHER, director Art Culinaire Conseil-Meilleur Ouvrier de France, din Agrocampus Ouest, Rennes, Franța, și Huong FOUCHER
20 martie 2018	Certificat de participare la seminar științifico-practic pe tema “ <i>Produits sans gluten. Pour qui ? Pourquoi ? Avantages et risques</i> ”
08-10 februarie 2018	Certificat de participare la activitatea de formare a abilităților profesionale pe tema “ <i>Bucătăria Italiană</i> ” prezentată de bucătar șef Guido Mori
28 decembrie 2016-28 ianuarie 2017	Certificat de absolvire - cursul de instruire în folosirea tablei interactive și a softului pentru crearea lecțiilor interactive SMART Notebook.
2-14 septembrie 2016	Certificat de participare la școală de vară « <i>La recherche scientifique en sciences sociales. Approche méthodologique et institutionnelle</i> »
3-5 octombrie 2013	Certificate of Attendance to 6 th Euro-aliment Symposium
1-3 noiembrie 2012	Diplomă de participare la conferința internațională MTFI

PROJECTS

2020-2023	Proiectului de stat 20.80009.5107.10. Nutriție personalizată și tehnologii inteligente pentru bunăstarea mea (2021-2023).
2020-2023	Proiect de stat 20.80009.5107.09 Ameliorarea calității și siguranței alimentelor prin biotehnologie și inginerie alimentară (2021-2023).
2020-2021	Proiect AUF-MECC-RM-02.04 Développement durable de l’apiculture: enjeux économiques, écologiques, de développement rural et de santé publique (2022).
2019-2021	Proiectului internațional: <i>Projet pour le renforcement d’une formation professionnalisante de niveau licence à la Formation universitaire Francophone «Technologies Alimentaires»</i> de l’Université Technique de Moldova (2019-2020).
2018 - 2020	Proiectului de inovare și transfer tehnologic 18.80015.5007.222T Elaborarea biotehnologiei și implementarea liniei moderne de producere a oțetului heresat natural condimentat de calitatea înaltă (2018-2020).
2013 - 2015	Proiect internațional: 318946 - FP7-PEOPLE - 2012 – IRSES, NUTRILAB; NUTritional LABELing Study in Black Sea Region Countries.

PERSONAL SKILLS

tongue(s)	rusă, română, ucraineană;				
Other language(s)	UNDERSTANDING		SPEAKING		WRITING
	Listening	Reading	Spoken interact.	Spoken product.	
Engleză	A2: Basic user	A2: Basic user	A2: Basic user	A2: Basic user	A2: Basic user
Germană	A1/A2: Basic user	A1/A2: Basic user	A1/A2: Basic user	A1/A2: Basic user	A1/A2: Basic user
Franceză	A1/A2: Basic user	A1/A2: Basic user	A1/A2: Basic user	A1/A2: Basic user	A1/A2: Basic user
	Levels: A1/A2: Basic user - B1/B2: Independent user - C1/C2 Proficient user Common European Framework of Reference for Languages				
Digital skills	Office Applications, Sistema de operare Windows, Corel Draw, AutoCAD, Paint.NET, Smart Draw.				

