

Raport științific și tehnic
PN-III-P1-1.1-PD-2019-0652

Titlul proiectului: Identificarea pesticidelor din timpul procesului de vinificație și impacturile asupra mediului și sănătății umane (Safewine)

Perioada de derulare a proiectului: 01.09.2020-31.08.2022

Website: <http://safewine.icpm.tuiasi.ro/>

Director proiect: CS. dr. Georgiana-Diana GABUR

Mentor: Prof. dr. ing. Carmen TEODOSIU

CUPRINS

Etapa 1	
Obiectivul etapei	3
Rezumatul etapei	3
Activitatea 1.1. Revizuirea preliminară a literaturii și metodologiile analitice relevante	3
Activitatea 1.2. Vinificația din struguri locali și internaționali și analiza eficienței fiecărei etape	4
Activitatea 1.3. Monitorizarea pesticidelor din vinuri și din sol (partea 1)	4
Etapa 2	
Obiectivul etapei	7
Rezumatul etapei	7
Activitatea 2.1. Monitorizarea și identificarea pesticidelor din vinuri și din sol (partea 2). Analize statistice de date	8
Activitatea 2.2. Metode de identificare și cuantificare a impactului și a riscurilor asupra sănătății umane	13
Activitatea 2.3. Analizarea compusilor aromatici și activității antioxidante	14
Etapa 3	
Obiectivul și rezumatul etapei	18
Activitatea 3.1 - Modificări ale proceselor de vinificație și îmbunătățirea practicilor oenologice. Recomandări pentru dezvoltarea durabilă a procesului de vinificație.	18
Activitatea 3.2 - Diseminarea rezultatelor prin comunicări naționale și internaționale	21
Activitatea 3.3 - Publicarea rezultatelor cercetării în reviste indexate internațional	22
Activitatea 3.4 - Managementul proiectului	24
Bibliografie	24

Etapa de execuție nr. 1/2020

Etapa 1 - Producerea vinurilor din soiuri locale și internaționale de struguri la scară pilot. Monitorizarea pesticidelor rezultate în urma procesului de vinificație (partea I). Diseminarea rezultatelor.

Obiectivul principal al primei etape a proiectului este vinificația a două soiuri de struguri (unul local și unul internațional) la scară pilot precum și monitorizarea pesticidelor rezultate în urma acestui proces.

Obiectivul principal al etapei a fost realizat în totalitate prin îndeplinirea completă a tuturor activităților, în acord cu planul de realizare al proiectului.

Etapa inițială a proiectului a constat în realizarea unui studiu complex asupra metodelor analitice care corespunde activității *A.1.1. Revizuirea preliminară a literaturii și metodologiile analitice relevante*. A fost realizată vinificația strugurilor negri, care corespunde activității *A.1.2. Vinificația din struguri locali și internaționali și analiza eficienței fiecărei etape*. Un alt studiu a vizat monitorizarea pesticidelor din vinuri și din sol din diferitele etape ale vinificației (corespunde activității *A.1.3. din planul proiectului*).

Activitățile desfășurate în cadrul proiectului au condus la realizarea integrală a obiectivelor etapei, fapt dovedit și de îndeplinirea următorilor indicatori:

- ✓ Vinificația a 2 soiuri autohtone și cosmopolite de struguri
- ✓ Recoltarea de probe din fiecare etapă tehnologică
- ✓ 1 poster prezentat la manifestări științifice naționale și internaționale:
Georgiana-Diana Dumitriu (Gabur), Nieves Lopez de Lerma, Rafael A. Peinado, Valeriu V. Cotea, Carmen Teodosiu, 2020. Alternative Winemaking Techniques with Improved Content of Phenolic and Aromatic Compounds. 14th Edition of the International Conference for Food Physicists, November 05-06, Iași, România
- ✓ Achiziționarea standardelor și reactivilor necesare determinării pesticidelor
- ✓ Stabilirea metodelor de cuantificare a pesticidelor
- ✓ Monitorizarea pesticidelor din vinuri și din sol (partea I)

În continuare sunt prezentate rezultate experimentale preliminare pe fiecare activitate în parte conform planului proiectului.

Activitatea 1.1 - Revizuirea preliminară a literaturii și metodologiile analitice relevante

Produsele agrochimice sunt formulări chimice care sunt utilizate în general pentru a controla dăunătorii, agenții patogeni și furnizarea de substanțe nutritive solului. Utilizarea produselor agrochimice (regulatori de creștere, pesticide și îngrășăminte) a crescut randamentul și productivitatea culturilor și astfel asigură stabilitate producției agricole. Prezența pesticidelor rămase în alimente și băuturi este considerată o problemă de sănătate publică la nivel mondial și una dintre cele mai importante cauze ale restricțiilor legate de comerțul internațional. În ciuda utilizării scăzute a pesticidelor la hectar, folosirea lor a condus la prezența reziduurilor atât în secțiunile biotice, cât și în cele abiotice ale mediului. Multe pesticide, inclusiv insecticide, erbicide și fungicide, bioacumulează niveluri dăunătoare corpului uman și pot provoca neurotoxicitate (Nougadere, Reninger, Volatier și Leblanc, 2011). Prin urmare, alimentele sunt cea mai importantă sursă pentru oameni de expunerea la reziduurile de pesticide (Pico, Font, Ruis și Fernández, 2006; Pirsahab și colab., 2019). Analiza reziduală, monitorizarea și evaluarea riscurilor pesticidelor din vinuri câștigă importanță în fiecare zi.

Mai multe metode, cum ar fi spectrometria de masă (MS), cromatografia gazoasă (GC), cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC) sunt cunoscute pentru detectarea și cuantificarea acestor pesticide din probe de vinuri. De asemenea, reziduurile de pesticide pot fi determinate utilizând metode cromatografice: lichid cromatografie cu spectrometrie de masă cu detector de tip tripluadropol (LC-MS-MS) și gaz cromatografie cu spectrometrie de masă cu detector cu timp de zbor (GC-TOF-MS). Metodele cromatografice sunt cele mai convenabile metode pentru determinarea reziduurilor de pesticide din alimente și băuturi (Jeong și colab., 2012). În 2003, Anastassiades și colab. (2003) au dezvoltat o metodă care include etape rapide și simple de pre-aplicare pentru a determina reziduurile de pesticide din alimente. Numele acestei noi metode dezvoltate a fost de metoda rapidă, ușoară, ieftină, eficientă, robustă și sigură (QuEChERS). Metoda implică extracția la scară microscopică utilizând extracția dispersivă în fază solidă (d-SPE) cu o cantitate mică de acetonitril și se bazează pe diferența de afinități dintre reactivi și pesticide. Metoda QuEChERS a fost validată și publicată oficial pentru analiza pesticidelor în multe alimente și băuturi (AOAC, 2007).

Activitatea 1.2 - Vinificația din struguri locali și internaționali și analiza eficienței fiecărei etape

Pentru a obține vinuri de calitate superioară este necesar să se utilizeze struguri sănătoși culeși la stadiul corect de maturitate și, din acest motiv, trebuie sporită atenția în prevenirea atacurilor parazitare asupra viței de vie. Diferite pesticide pot fi identificate la recoltarea strugurilor în funcție de caracteristica chimică a ingredientelor active.

Strugurii de Fetească neagră și Cabernet Sauvignon au fost recoltați manual din arealul viticol Iași, din Ferma Vasile Adamachi și aduși la Laboratorul de Oenologie. Strugurii de Fetească neagră au fost recoltați în data de 21.09.2020, iar cei de Cabernet Sauvignon pe 15.10.2020.

Desciorchinarea strugurilor reprezintă procesul inițial din fluxul general de prelucrare a strugurilor în care are loc zdrobirea boabelor în vederea eliberării mustului și separarea ciochinilor. Prin zdrobire se urmărește distrugerea integrității boabelor și transformarea în două faze și anume, una lichidă-mustul și una solidă-din părțile solide ale bobului sau boștina. În mustuiala obținută s-au adăugat taninuri catechinice cu polizaharide vegetale - *Softan Vinification*, (40 g/hL) și enzime pectolitice pentru mustuieli de roșu - *Vinozym Vintage FCE*, (5 g/hL). Au fost prelevate probe de must din ambele soiuri în urma etapei de desciorchinare și zdrobire. Macerarea este operația care constă în menținerea mustuielii în contact cu părțile solide ale recoltei, bogate în tanin, substanțe colorante, odorante, azotate și compuși minerali, care trec astfel în vin. Astfel, macerarea-fermentarea pe boștina a fost de 2 zile atât pentru Fetească neagră cât și pentru Cabernet Sauvignon. Presarea mustuielii fermentate presupune două etape distincte: scurgerea mustului ravac și presarea boștinei. Mustul obținut în urma presării a fost transferat în cisterna de inox în care s-au adăugat produsele oenologice: enzimele - *Opti Estersm*, *Lamothé Abiet* (30 g/hL) și *Optithiols*, precum și levura - *Xr Grand Rouge*, *Saccharomyces cerevisiae*. S-au colectat probe din ambele soiuri în urma etapei de presare. După terminarea fermentației malolactice, vinurile au fost trase de pe drojdie, a avut loc umplerea completă a vaselor cu vin și sulfitarea vinului. Maturarea reprezintă perioada dintre finalul fermentației și îmbuteliere, perioadă în care vinul se limpezește și se stabilizează, la care se adaugă și alte procese ce conduc la îmbunătățirea culorii, gustului și aromei. Urmează etapa de filtrare și de îmbuteliere în săptămânile ce urmează. Monitorizarea și analizarea pesticidelor o să fie realizate în partea a II-a, anul 2021 folosind protocolul deja stabilit.

Tabel 1. Tratamentele fitosanitare ale vitei de vie

Cultura	Data	Produce utilizate	Substanța activă	Suprafața (ha)	Cantitate (kg/L)	MRL / n (mg/kg)	Toxicitate
Viță de vie	07-12.05.2020	Dihane	Mancozeb	12.48	24.960	5-5	ADI=0.05 Dtr 05/72 ARDD= 0.6 Dtr 05/72 AOEL=0.035 Dtr 05/72
Tratament I							
Viță de vie	20-24.05.2020	Zorvec; Zelavin+Folpan	Oxathiapiprolin	12.48	5.490	0.7-0.7	ADI=0.14 mg/kg bw/day Reg. (EU) 2017/239 ARDD= Not applicable AOEL=0.04 Reg. (EU) 2017/239
			Folpet			0.5	ADI=0.1 Dtr 07/5 ARDD= 0.2 SCofCAH July 08 AOEL=0.1 Dtr 07/5
		Systhane	Miclobutanil	12.48	1.880	1-0.1	ADI=0.025 EFSA 10 ARDD=0.31 EFSA 10 AOEL=0.03 EFSA 10
Tratament II							
Viță de vie	03-06.06.2020	Melody Compact	Iprovaicarb	12.48	18.720	2-2	ADI=0.015 Reg. (EU) 2016/147 ARDD=Not applicable Reg. (EU) 2016/147 AOEL=0.015 Reg. (EU) 2016/147
		Folicur	Tebuconazol	12.48	5.000	0.5-1	ADI=0.03 EFSA 08 ARDD=0.03 EFSA 08 AOEL=0.03 Dtr 08/125
		Coragen	Clorantripirol	12.48	2.180	1-1	ADI=1.56 cîsa 2013 ARDD=Not applicable EFSA 2013 AOEL=0.36 EFSA 2013
Tratament III							
Viță de vie	10-14.06.2020	Zorvec; Zelavin+Folpan	Oxathiapiprolin + Folpet	12.48	4.370		
		Folicur	Tebuconazol	12.48	4.990		
		Copfort	Cupru	2.48	7.440		
Tratament IV							
Viță de vie	19-24.06.2020	Coragen	Clorantripirol	12.48	2.184		
		Systhane Forte	Miclobutanil	2.48	0.248		
		Zorvec; Zelavin+Folpan	Oxathiapiprolin + Folpet	10.00	3.725		
		Copfort	Cupru	2.48	7.440		

Tratament V							
Viță de vie	02-06,07,2020	Bouillie Bordelaise	20% cupru si 80% sulfat de cupru neutralizat	12.48	62.400		
		Decis Expert	Deltametrin	10.00	1.000	0.2-0.2	ADI=0.01 Dir 03/5 ARFD=0.01 Dir 03/5 AOEL=0.0075 Dir 03/5
Tratament VI							
Viță de vie	10-14,07,2020	Bouillie Bordelaise	20% cupru si 80% sulfat de cupru neutralizat	12.48	62.400		
		Systhane Forte	Miclobutanil	6.00	0.900		
		Decis Expert	Deltametrin	12.48	1.248		
Tratament VII							
Viță de vie	28-31,07,2020	Bouillie Bordelaise	20% cupru si 80% sulfat de cupru	10.00	50.000		
		Gazelle	Acetamiprid	10.00	2.500	0.5-0.5	ADI=0.025 Reg. (EU) 2018/113 ERFD=0.025 Reg. (EU) 2018/113 AOEL=0.025 Reg. (EU) 2018/113
Tratament VIII							
Viță de vie	02-04,08,2020	Bouillie Bordelaise	20% cupru si 80% sulfat de cupru	2.48	12.400		
		Gazelle	Acetamiprid	2.48	0.620		
Fertilizări							
Viță de vie	01,02,03,04,2020	NPK 16-16-16		12.48	4.37		
		Erbicidări					
Viță de vie	15/04/2020	Glyfos ultra		6	36.00	0.5-0.5	ADI=0.5 Reg. (EU) 2017/2324 ARFD=0.5 Reg. (EU) 2017/2324 AOEL=0.1 Reg. (EU) 2017/2324
		Glyfos ultra		4	20.00		
	18/05/2020	Fusilade Forte		2.71	4.34	0.01-0.01	ADI=0.01 EFSA 10 ARFD=0.017 EFSA 10 AOEL=0.02 EFSA 10
		Fusilade Forte		0.72	1.16		
	31/05/2020	Fusilade Forte		2	3.18		

Etapa de execuție nr. 2/2021

Etapa 2 - Monitorizarea și analiza pesticidelor din procesul de vinificație, vinuri și sol (partea 2). Metode integrative de evaluare a impactului și a riscurilor asupra sănătății umane. Efectul pesticidelor asupra calității vinurilor. Diseminarea rezultatelor

Obiectivul principal al celei de-a doua etape a proiectului este identificarea pesticidelor din cele două vinuri, metodele de identificare și cuantificare a impactului și a riscurilor asupra sănătății umane precum și analizarea compusilor aromatici și activității antioxidante.

Obiectivul principal al etapei a fost realizat în totalitate prin îndeplinirea completă a tuturor activităților, în acord cu planul de realizare al proiectului.

Etapa a doua a proiectului a constat în identificarea și cuantificarea pesticidelor din etapele principale ale vinificației care corespunde activității *A.2.1. Monitorizarea și identificarea pesticidelor din vinuri și din sol (partea 2). Analize statistice de date*. A fost realizat un studiu complex privind metodele integrative de evaluare a impacturilor și a riscurilor asupra sănătății umane, care corespunde activității *A.2.2. Metode de identificare și cuantificare a impactului și a riscurilor asupra sănătății umane*. Un alt studiu a vizat analizarea compusilor aromatici și a activității antioxidante din vinurile obținute (corespunde activității *A.2.3. din planul proiectului*).

Activitățile desfășurate în cadrul proiectului au condus la realizarea integrală a obiectivelor etapei, fapt dovedit și de îndeplinirea următorilor indicatori:

✓ **1 capitol de carte publicat (Open access) :**

Dumitriu (Gabur), G.D., Teodosiu, C., Cotea, V.V. 2021 - Management of Pesticides from Vineyard to Wines: Focus on Wine Safety and Pesticides Removal by Emerging Technologies, IntechOpen, in Grapes and Wine, Edited by Antonio Morata, Iris Loira and Carmen González. DOI: 10.5772/intechopen.98991

✓ **2 articole publicate în reviste ISI cu factor de impact, Q1, zona rosie (articole premiate):**

Dumitriu (Gabur), G.D., Teodosiu, C., Morosanu, I., Plavan, O., Gabur, I., Cotea, V. V. 2021 - Heavy metals assessment in the major stages of winemaking: Chemometric analysis and impacts on human health and environment. Journal of Food Composition and Analysis, 100, 103935, doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103935, **Impact factor: 4.556**

Dumitriu (Gabur), G.D., Teodosiu, C., Gabur, I., Cotea, V.V., Peinado, R.A., López de Lerma, N. 2021 - Alternative winemaking techniques to improve the content of phenolic and aromatic compounds in wines. Agriculture (Switzerland), Open Access, 11(3), 2335, doi.org/10.3390/agriculture11030233, **Impact factor: 2.925**

✓ **2 postere prezentate la manifestări științifice naționale și internaționale:**

Georgiana-Diana Dumitriu (Gabur), Carmen Teodosiu, Irina Morosanu, Oana Plavan, Iulian Gabur, Valeriu V. Cotea, 2021 - An assessment of heavy metals in commercial wines. 11th International Conference on Environmental Engineering and Management, 8-10 September 2021, Muttenz, Switzerland.

Georgiana-Diana Dumitriu (Gabur), Carmen Teodosiu, Iulian Gabur, Ioan Moraru, Valeriu V. Cotea, 2021 - Physicochemical and Sensory Characteristics of Red Wines, The

In continuare sunt prezentate rezultatele experimentale pe fiecare activitate in parte conform planului proiectului.

Activitatea 2.1 - Monitorizarea si identificarea pesticidelor din vinuri si din sol (partea 2). Analize statistice de date

Viticultura constituie o activitate traditionala, de importanta socio-economica, dezvoltata armonios in decurs de secole, ca rezultat al conditiilor naturale deosebit de prielnice pe care vița de vie le gaseste pe tot cuprinsul tarii. Vita de vie si strugurii pot fi afectati de un numar mare de boli, precum mana (*Plasmopara viticola*), fainarea (*Uncinula necator*), putregaiul (*Botrytis cinerea*, *Botrytis fuckeliana*, *Coniella diplodiella*), antracnoza (*Gleosporium ampelophagum*) și multe altele. Incidenta bolilor si lipsa soiurilor rezistente genetic au incurajat utilizarea unor cantitati mari de pesticide in podgorii, pentru a genera productii stabile si struguri de inaltă calitate. In timpul sezonului de productie a strugurilor si mai tarziu in vinificatie, producatorii au identificat cantitati mici de pesticide si le-au numit reziduuri. In consecinta, diferite tipuri si cantitati de reziduuri de pesticide ar putea fi transferate de pe struguri la vinuri (Gonzalez-Rodríguez si colab., 2011; Schusterova si colab., 2021). In fiecare an, in intreaga lume sunt utilizate aproximativ 2 milioane de tone de pesticide si se estimeaza ca utilizarea pesticidelor in productia globala va creste pana la 3,5 milioane de tone (Sharma si colab., 2019).

Riscul ca reziduurile acestor pesticide sa fie prezente in vinuri implica un pericol pentru sanatatea umana. In Uniunea Europeana, nivelurile maxime de reziduuri (LMR) de pesticide permise in produsele de origine vegetala destinate consumului uman sunt stabilite prin Regulamentul 396/2005/CE (Santé, 2015). Intrucat reziduurile de pesticide reprezinta una dintre principalele preocupari legate de siguranta alimentara si multi autori raporteaza prezenta lor in vinurile finale, tendinta fiind catre un sistem de productie mai durabil (Thiollet-Scholtus si colab., 2021), unde pot fi detectate mai putine reziduuri de pesticide in vinurile imbuteliate (Fuentes Espinoza si colab., 2018).

De la desciorchinarea si presarea strugurilor si pana la imbutelierea vinurilor, am prelevat diferite probe (inclusiv de drojdie) pentru a studia evolutia nivelurilor reziduale de pesticide in timpul diferitelor etape de vinificatie. Pesticidele detectate pe tot parcursul procesului de vinificatie a doua soiuri rosii în conditiile noastre climatice au fost acetamiprid, clorantraniliprol, iprovalicarb, miclobutanil, tebuconazol si oxitiapiprolin. Concentratiile de mancozeb, folpet, deltrametrin si fluazifop-P-butyl nu au fost detectate in probele studiate din vinuri si sol. Metodele de pretratare și detecție a acestor pesticide s-a realizat cu o metoda noua, rapida, eficienta, robusta si sigura, QuEChERS si LC-MS/MS.

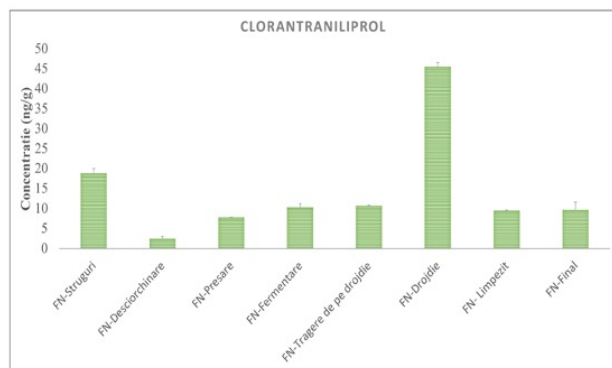
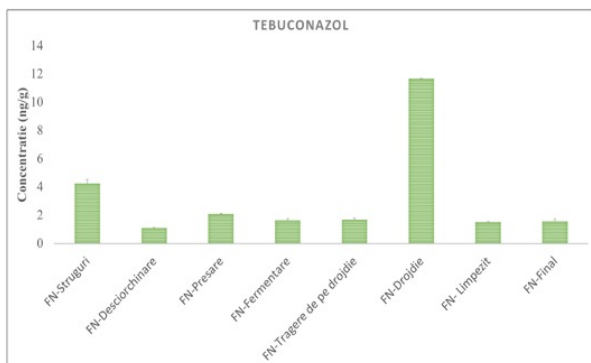
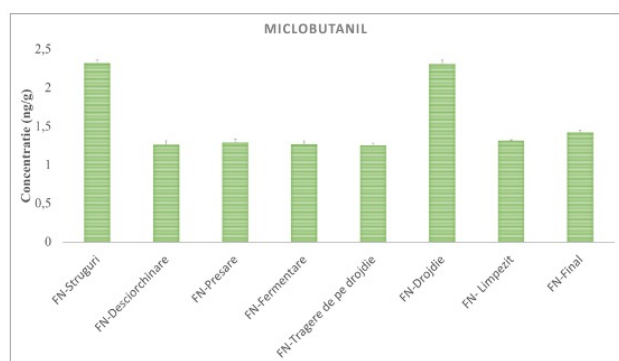
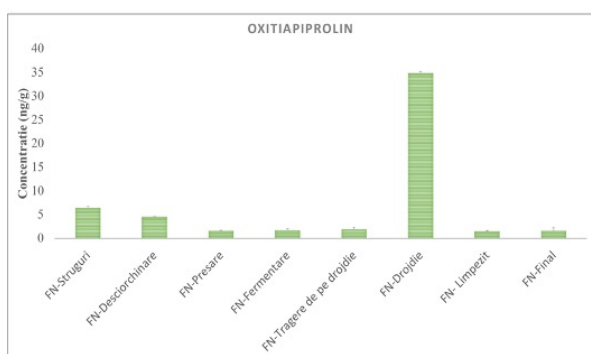
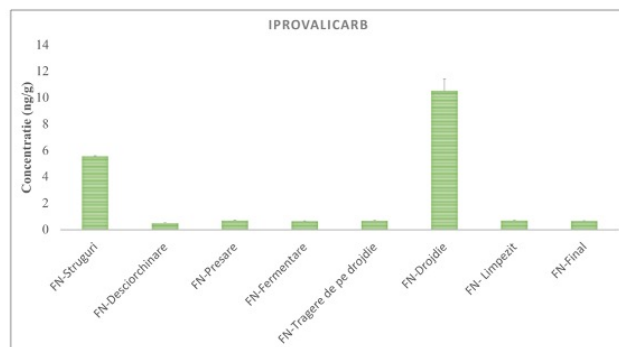
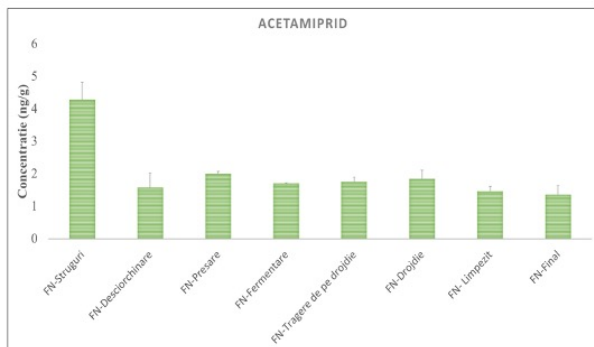


Fig 1. Concentratiile reziduurilor de pesticide identificate in etapele vinificatiei la soiul Feteasca neagra

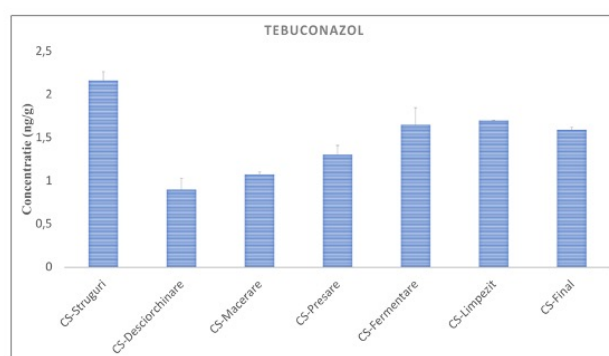
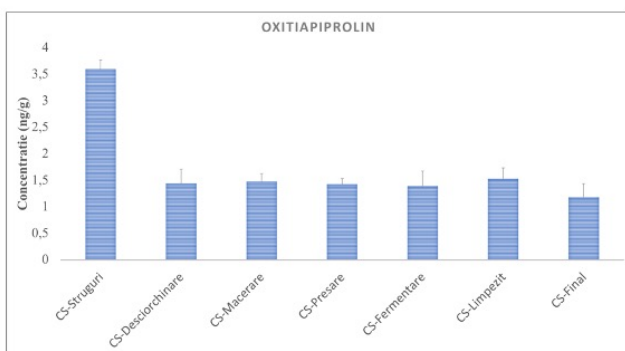
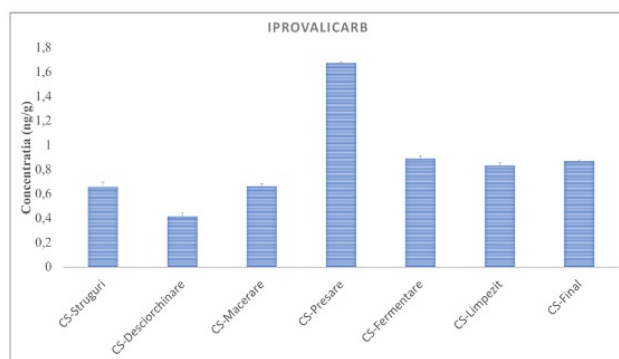
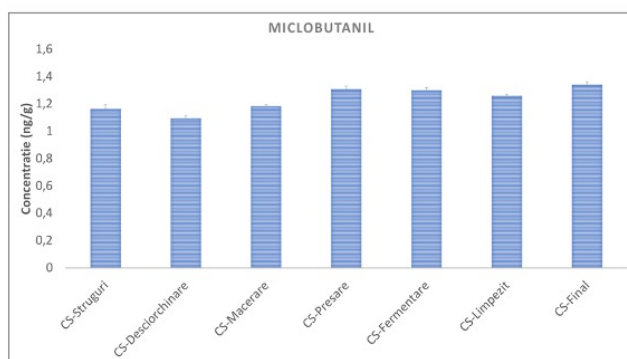
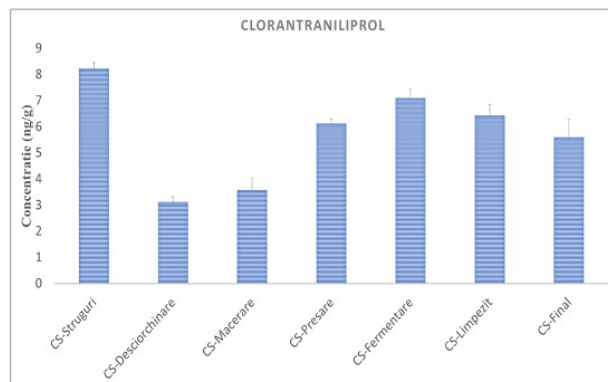
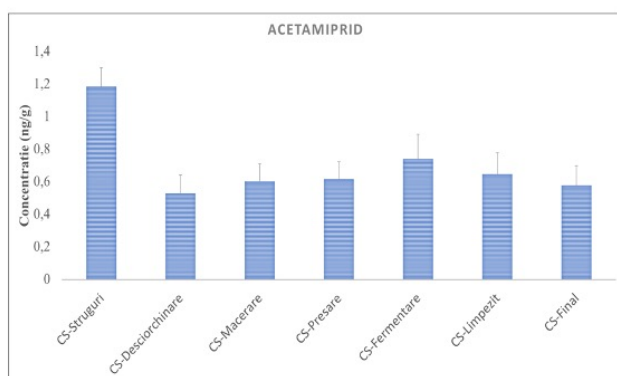


Fig 2. Concentrațiile reziduurilor de pesticide identificate in etapele vinificatiei la soiul Cabernet Sauvignon

S-a calculat cantitatea reziduala de pesticide (ng/g) prezenta in etapele vinificatiei, cu scopul de a se cunoaste evolutia si pierderile de reziduuri pe parcursul intregului proces oenologic. Cantitatea gasita in struguri a fost considerata 100% in fiecare caz si a reprezentat punctul de plecare pentru a studia dispararea pesticidelor. In figurile 3 si 4 sunt prezentate rezultatele obtinute in urma cercetarilor.

Reziduurile de pesticide de pe struguri pot fi transferate in timpul vinificatiei in must si ulterior in vin. Aceasta inseamna un risc toxicologic pentru consumatori, in ciuda faptului ca procesele de vinificație (zdrobirea, presarea, fermentarea, filtrarea și stabilizarea) pot reduce considerabil reziduurile de pesticide din vinuri. Fiecare produs fitosanitar folosit are un mod de acțiune diferit, ceea ce poate explica diferentele care au fost observate in timpul analizei. In productia de vin rosu, etapa de macerare-fermentare are loc în contact cu pielitele strugurilor, ducand la cantitati mai mari de reziduuri în vin. Aceste tipuri de reziduuri pot fi adsorbite in stare solida în timpul fermentatiei sau filtrarii.

Odata desciorchinati strugurii, pesticidul care ramane in cea mai mare proportie in must este oxitiapiprolin (70.9%) si cel care ramane in cea mai mica proportie este clorantraniliprol (13.8%) (Figura 3). In timpul etapei de macerare-fermentare, concentratia de iprovalicarb a ramas situata in jurul a 80%, in timp ce clorantraniliprol si miclobutil scad mai mult, între 50 și 60%. Deoarece majoritatea pesticidelor sunt mai solubile în alcool etilic decat in apa, s-ar putea astepta la o reducere mai mica a reziduurilor in vinificarea cu macerare decat fara, atunci cand se utilizeaza separarea prin prefermentare. Cu toate acestea, este adevarat ca macerarea poate duce la o cantitate mai mare de materie in suspensie, care ar putea adsorbi pesticidele reziduale si ar putea compensa efectul alcoolului etilic (Farris și colab., 1992).

In urma acestui studiu putem afirma ca realizarea corecta a proceselor de vinificatie (macerare, presare, tragere de pe drojdie, limpezire și filtrare) influențează în mod decisiv scaderea reziduurilor de pesticide. Aceasta depinde în mare masura de concentratia initiala a reziduurilor de pesticide din strugurii recoltati, de caracteristicile fizico-chimice ale fiecarui pesticid si de procedeul de vinificatie. La struguri, LMR-urile pentru reziduurile de pesticide variaza adesea intre 0,01 mg/kg si 5 mg/kg, in funcție de pesticid, dar in unele cazuri sunt permise limite mai mari. Prin urmare, este foarte putin probabil ca dupa o elaborare corespunzatoare sa existe niveluri de reziduuri daunatoare sanatatii care ar putea depasi limitele maxime legiferate. Vinurile studiate au prezentat valori sub limitele maxime reziduale si sunt sigure pentru a fi consumate.

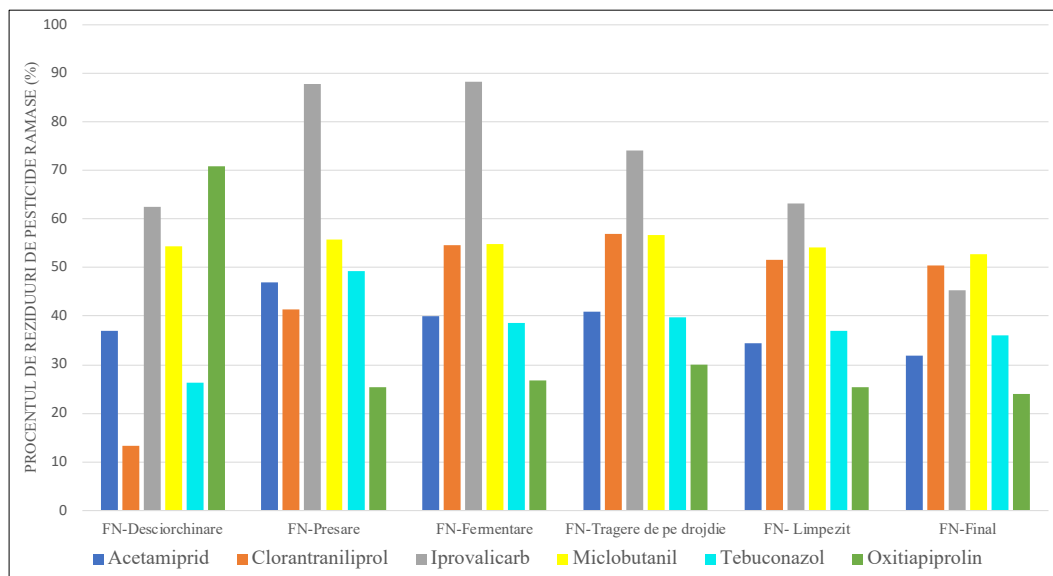


Fig 3. Procentul de reziduuri de pesticide ramase după principalele etape ale vinificatiei pentru vinul de Feteasca neagra

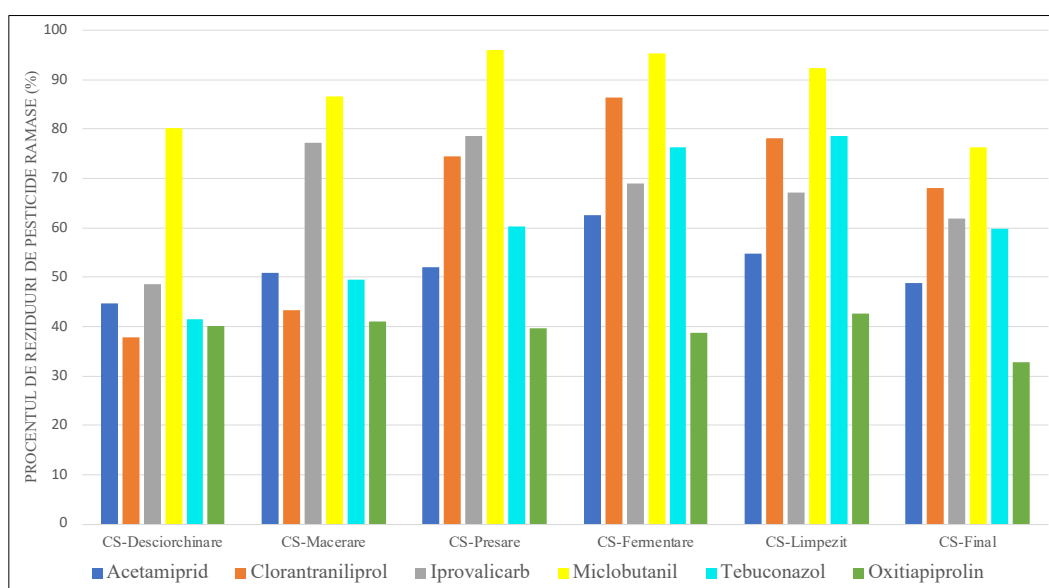


Fig 4. Procentul de reziduuri de pesticide ramase după principalele etape ale vinificatiei pentru vinul de Cabernet Sauvignon

Activitatea 2.2 - Metode de identificare si cuantificare a impactului si a riscurilor asupra sanatatii umane

În ceea ce privește măsurarea utilizării pesticidelor, s-a raportat lipsa unor indicatori de mediu larg recunoscuti la dispozitia producatorilor si in special a autoritatilor de reglementare pentru a se indrepta catre rute tehnice mai durabile; proiectarea si evaluarea politicilor publice care favorizeaza acesti indicatori. Nu pare să existe niciun indicator care sa ia in considerare cu succes toti parametrii care trebuie luati în considerare la evaluarea impactului asupra mediului al utilizarii pesticidelor: dozele utilizate, vitezele relative de degradare a produselor considerate, dispersia relativa a acestora in aer, apa, sol și, în final, toxicitatile relative si combinate ale acestora („efecte de cocktail” legate de interactiuni între diferitele ingrediente active care inca nu sunt bine intelese) in relatie cu diferite specii vii (Bockstaller și colab., 1997). Indicatorul de Frecventa a Tratatamentului (IFT) pentru produsele fitosanitare este definit ca numarul de doze de referinta aplicate pe o parcela cultivata in timpul unui sezon de vegetatie (Pingault și colab., 2009).

$$\text{IFT} = (\text{doza aplicata/doza de referinta}) \times (\text{suprafata tratata/suprafata totala}).$$

IFT nu se refera la numarul de tratamente efectuate, ci mai precis la numarul de doze de referinta aplicate pe o parcela. Spre deosebire de numarul simplu de tratamente fitosanitare, acest indice are avantajul de a tine cont atat de dozele efectiv aplicate, cat si de suprafata efectiv tratata. Prin urmare, deoarece acest indice corespunde unui raport exprimat in unitati, dozele de diferite produse pot fi adunate si grupate in categorii: „IFT fungicide”, „IFT erbicide”, etc. Aceasta este o distinctie utila pentru a înțelege importanta relativa și diferitele utilizari ale acestor pesticide pentru diferite culturi si in diferite regiuni.

Expunerea pe termen lung s-a calculat pentru estimarea riscurilor pentru sanatatea consumatorilor rezultate din reziduurile de pe struguri si din vinul final. Expunerea la pesticide s-a calculat dupa cum urmeaza (Tabel 1):

a) pentru struguri:

$\text{EDI} = (C \times R) / \text{BW}$ (1), unde C - concentratia unui pesticid în struguri (ng/zi/persoana); R - rata de consum zilnic de struguri pentru consumatori (0,024 kg/persoana/zi)(Institutul National de Statistica,https://insse.ro/cms/sites/default/files/field/publicatii/disponibilitatile_de_consum_ale_populatiei_anul_2018.pdf); BW - greutatea corporala medie a populatiei evaluate, 70 kg.

b) pentru vinuri:

Aportul zilnic estimat (EDI, $\mu\text{g}/\text{kg}$ gc/zi) de pesticide provenit din consumul de vin depinde de concentratia (C) acestora in vin, rata de consum zilnic de vin (150 ml/persoana/zi si greutatea corporala a consumatorilor (70 kg/per persoana). Formula de calcul este urmatoarea:

$\text{EDI} = (C \times R) / \text{BW}$ (1), unde C - concentratia unui pesticid în vin, ng/g; R - rata de consum zilnic de vin pentru consumatorii adulti de vin, L/zi; BW - greutatea corporala medie a populatiei evaluate, kg.

Riscul pentru sanatate datorat consumului de vin a fost evaluat pe baza coeficientului de pericol tinta (THQ), care a fost calculat ca raportul dintre EDI si o doza de referinta orala: $\text{THQ} = \text{EDI} / \text{RfD}$ (2), unde RfD - doza de referinta orala pentru fiecare pesticid, mg / kg / zi.

Dacă THQ este mai mic decât 1, înseamnă că aportul unui pesticid din vin nu are efecte evidente asupra sănătății omului. Dacă THQ este egal sau mai mare decât valoarea 1, atunci există un risc și un pericol pentru sănătatea omului. Valorile totale de THQ ale pesticidelor evaluate din vinuri sunt definite drept indice de pericol sau hazard (HI) utilizat pentru evaluarea riscurilor globale a sănătății.

Reziduurile de pesticide au fost asociate cu mai multe probleme de sănătate din cauza toxicității lor subacute și cronice, iar astfel controlul și reglementarea utilizării pesticidelor în producția vinurilor și monitorizarea nivelurilor acestora în etapele vinificației reprezintă o mare preocupare în siguranța sănătății consumatorilor și în comerțul internațional.

Tabel 1. Aportul zilnic estimat (EDI, $\mu\text{g}/\text{kg gc}/\text{zi}$) de pesticide provenit din consumul de struguri

Pesticide	Feteasca neagra	Cabernet Sauvignon
Acetamiprid	0,0014	0,0004
Clorantraniliprol	0,0064	0,0028
Iprovalicarb	0,0002	0,0002
Miclobutanil	0,0004	0,0004
Tebuconazol	0,0014	0,0007
Oxitiapiprolin	0,0022	0,0012

Activitatea 2.3 - Analizarea compusilor aromatici și activității antioxidante

Au fost efectuate diferite tratamente fitosanitare în perioada de vegetație a soiurilor de Fetească neagră și Cabernet Sauvignon în 2020. Vinurile au fost imbuteliate și după 6 luni au fost realizate analize asupra calității vinurilor pentru a vedea dacă tratamentele fitosanitare au influențat parametrii fizico-chimici, compuşii volatili și activitatea antioxidantă.

Aciditatea reală a vinului, numită și pH , are o influență importantă asupra gustului, dar și asupra unor fenomene ce se petrec în vin. Gustul acru al vinului este dat nu numai de aciditatea totală (care este suma acizilor titrabili), ci și de taria acestor acizi. Deci aciditatea unui vin este imprimată și de natura acizilor ale căror molecule au un gust propriu, ce-i particularizează, și prin prezența ionilor de H^+ eliberați prin disocierea acestor acizi. Dintre principalii acizi organici ai vinului, cel mai puternic ionizat este acidul tartric, iar cel mai slab acidul acetic. Valorile normale ale pH -ului se situează între 2,8–3,8. Valorile mai mari, peste 3,8, indică o aciditate ionică slabă, care fragilizează vinurile expunându-le la casarea oxidativă și atacul microorganismelor patogene (Țârdea, 2007). pH -ul vinurilor de Fetească neagră și Cabernet Sauvignon au fost de 3,63 și respectiv 3,58.

Din punct de vedere calitativ, taria alcoolică are un rol important în conservarea vinurilor, drept urmare, vinurile care prezintă o concentrație alcoolică mai scăzută devin mai sensibile la atacurile microbiene. De asemenea, vinurile roșii cu taria alcoolică mai mare își păstrează timp mai îndelungat culoarea decât cele slab alcoolice. Gradul alcoolic depinde de bogăția musturilor în zahăruri, care la rândul ei depinde de soi, starea de maturitate a strugurilor în momentul recoltării, starea de sănătate a acestora și de condițiile meteorologice ale anului (Cotea și colab., 2009). Vinul de Fetească neagră a înregistrat o taria alcoolică de 13,52 % v/v, pe când vinul de Cabernet Sauvignon a avut o taria de 12,16 % v/v (tabel 2).

Anul crizei Covid-19, scade consumul de vin volumul cu 3%, productia de vin usor sub medie pentru al doilea an consecutiv, consumul mondial de vin fiind estimat la 234 mhl (OIV, 2021).

Aciditatea totala ca parametru are un rol fundamental in inhibarea si dezvoltarea bolilor vinului, conservarea vinului, influentarea valorii pH-ului, parametru ce dirijeaza numeroase aspecte ale chimiei vinului si atacul posibililor constituinti ai vinului de catre bacterii. Din punct de vedere senzorial, aciditatea evidentiaza asprimea taninilor la degustare si influenteaza nuanta si stabilitatea culorii vinului. Aciditatea le imprimă o nuanta de prospetime, insa atunci cand este prea ridicata ele prezinta o duritate excesiva, care este mai usor perceptibila la vinurile rosii seci. Valorile sunt situate in intervalul 4,03 g/L acid tartric si 5,44 g/L acid tartric pentru Feteasca neagra si Cabernet Sauvignon.

Aciditatea volatila a vinurilor este data de acizii monocarboxilici saturati cu catena scurta care se gasesc fie în stare libera, fie sub forma de saruri. Aciditatea volatila are valori scazute atat pentru Feteasca neagra 0,35 g/L acid acetic cat si pentru Cabernet Sauvignon 0,25 g/L acid acetic.

In ce priveste continutul de zaharuri reducatoare, acesta claseaza ambele vinuri ca fiind seci si valorile SO₂ liber si SO₂ total nu prezinta diferente semnificative, acesti parametri incadrându-se in limitele prevazute de Legea Vici si Vinului 244/2002.

Tabel 2. Principalele caracteristici de compoziție ale vinurilor obtinute din soiul Fetească neagră si Cabernet Sauvignon

Parametrii fizico-chimici	Control	Feteasca neagra	Cabernet Sauvignon
pH	3.60±0.04	3.63±0.02	3.58±0.03
Aciditate totala (g/L acid tartric)	4.63±0.02	4.04±0.1	5.44±0.2
Aciditatea volatila (g/L acid acetic)	0.47±0.1	0.35±0.1	0.25±0.1
Densitatea relativa la 20 °C	0.9916±0.001	0.992±0.002	0.9912±0.001
Concentratia alcoolica (% vol)	12.84±0.5	13.5±0.3	12.16±0.2
Zaharuri reducatoare (g/L)	2.14±0.3	2.16±0.01	2.13±0.01
Extractul sec total (g/L)	25.3±1.8	24.8±0.4	26.1±0.5
Extract nereducator (g/L)	23.5±1.3	22.64±0.3	23.97±0.2

Aroma unui vin este una dintre cele mai importante caracteristici in definirea calitatii acestuia. Produsele fitosanitare utilizate pentru controlul bolilor ar trebui să fie complet inactiv impotriva microflorei fermentative si calitatii vinului.

Pentru cercetarile efectuate asupra aromei vinului rosu este esentiala capacitatea de a separa, identifica si cuantifica compușii responsabili de caracteristicile senzoriale percepute.

Aroma vinului poate varia in functie de zona geografica si terroir, practici viticole, procesele de vinificatie, tipul de maturare si îmbutelierea. Mai mult, alti factori care au impact asupra compusilor aromatici pot interactiona cu proteinele, oxigenul, polifenolii, polizaharidele,

modificand astfel caracteristicile senzoriale ale vinurilor. O gestionare corecta si controlata a diferitelor metode sau conditii de vinificatie poate ajuta la imbunatatirea calitatii vinului prin indepartarea completa a compusilor nedoriti de aroma, a reziduurilor de pesticide sau metale grele, a contaminarii sau oxidarii microbiene etc.

Alcoolii sunt cantitativ grupul cu cea mai mare concentrație de compusi volatili în vinurile rosii. Cei mai multi dintre acesti compusi sunt produsi de levuri in timpul fermentatiei (Etiévant, 1991) si conchide faptul ca tratamentele fitosanitare nu influenteaza asupra compozitiei lor. In vinurile de Fetească neagră si Cabernet Sauvignon dintre alcoolii majoritari, 2-metil-1-butanolul prezinta cea mai mare concentrație.

Mai multe studii au observat la vinurile albe o scadere a 2-metil-1-propanolului și 3-metil-1-propanolului atunci cand s-au utilizat fosetil-A, mancozeb și iprovalicarb. Rezultatele privind scăderea concentrației de alcool în prezenta unor pesticide pot fi atribuite unei asimilatii mai scazute a precursorului de aminoacizi de catre drojdii sau modificarilor in biosinteza aminoacizilor. González-Álvarez si colab. (2012) nu au raportat diferente semnificative ale nivelului de alcool intre proba martor si vinurile tratate cu clorpirifos, ciazofamida, famoxadona, fenarimol, mancozeb, mandipropamid, metalaxyl, penconazol, valifenalat și vinclazolol.

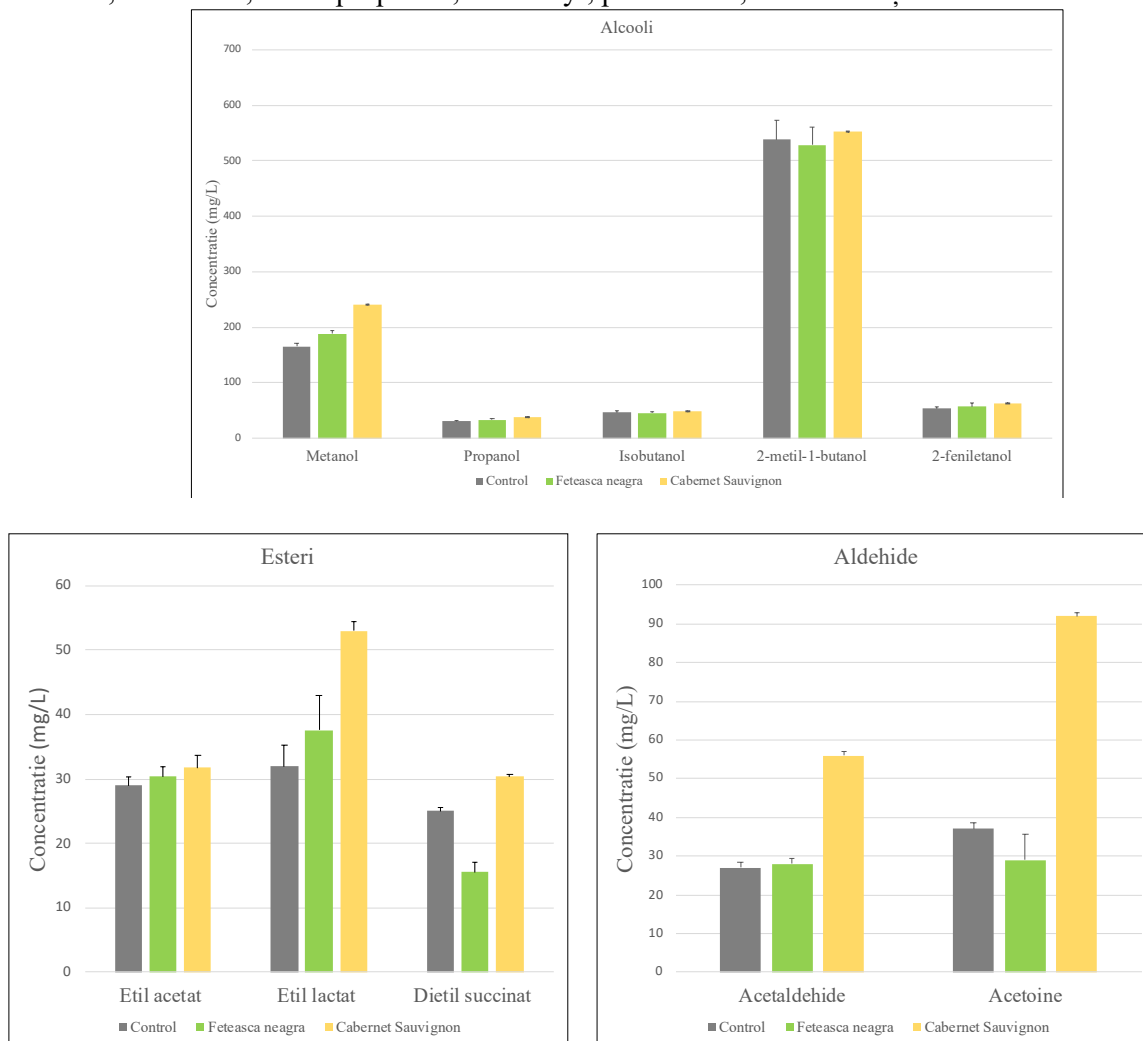


Fig 6. Concentratia compusilor volatili identificati in vinurile rosii

Esterii sunt produși de levuri în timpul fermentației alcoolice și sunt considerați importanți pentru proprietățile senzoriale ale vinurilor, contribuind cu arome pozitive, în special cu note fructate (Ebeler, 2001). Conținutul lor depinde de mai mulți factori, cum ar fi tipul de levură, temperatura de fermentare, aerisire și conținutul de zahăruri.

Noguerol-Pato și colab. (2011) nu au raportat variații semnificative, cauzate de tratamentele cu tebuconazol, ale nivelului de acetat de izopentil și al majorității esterilor etilici găsiți în vinurile Mencía. După cum se observă în studiul nostru tratamentele aplicate nu au influențat concentrațiile de esteri (Figura 6).

Acetoina sau acetil-metil-carbinolul se formează în timpul fermentației alcoolice și face parte din grupa hidroxicetonelor. Aceasta rezultă prin condensarea a două molecule de acetaldehidă, reacția fiind catalizată de enzimele din grupa carboligazelor. Acetoina se transformă ușor în diacetil, un compus foarte volatil, cu gust și miros de acid acetic.

În ultimele decenii, interesul pentru antioxidanți naturali din dieta s-a dezvoltat în rândul consumatorilor și în comunitatea științifică. Antioxidanții naturali joacă un rol foarte important în reducerea concentrației de radicali liberi, care sunt nocivi și intermediari foarte reactivi produși în mod constant datorită numeroaselor reacții biologice. Antioxidanții previn procesul de oxidare, datorită capacității lor de a captura, de-activa sau repara daunele provocate de radicalii liberi, care sunt implicate în dezvoltarea multor boli.

Evaluarea puterii antioxidante a vinului se bazează pe studiul cineticii unei reacții prin care rezultă un radical liber și modul său de inhibare atunci când se adaugă un compus antioxidant cărui vrem să-i evaluăm puterea antioxidantă.

Metodele de evaluare a activității antioxidante se axează fie pe determinarea cantitativă a antioxidantilor individuali fie pe cuantificarea activității antioxidante totale a unui anumit produs. Există o mare varietate de metode prin care se poate determina activitatea antioxidantă. Metodele de determinare a capacității antioxidante și a compusilor fenolici se determină prin analize spectrofotometrice. Spectrometria UV-VIS este una dintre cele mai vechi tehnici spectroscopice aplicată în chimia organică pentru determinările de structură. Tehnica aleasă se bazează pe capacitatea de neutralizare a radicalului anion ABTS* (acid 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonic)) de către antioxidanți (Re și colab., 1999). ABTS este oxidat de către radicalii peroxil sau alți oxidanți la radicalul sau cationic ABTS, intens colorat (734 nm). Capacitatea antioxidantă este exprimată ca potențialul compusilor testați de a decolora radicalul ABTS prin reacție directă cu acesta. Prezența antioxidantilor reduce cationul radical stabilizator, într-o măsură și într-un interval de timp care depinde de concentrația antioxidantă și de durata reacției. Aceasta reducere se manifestă prin gradul de decolorare și este măsurată ca procent de inhibare a cationului radical ABTS*. Ca și standard se utilizează antioxidantul trolox (acid 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic).

Soluția (ABTS* și persulfatul de potasiu) a fost menținută la întuneric la temperatura camerei timp de 16 ore, acesta fiind timpul necesar de a obține o absorbantă stabilă la 734 nm. Proba a fost preparată din 980 μL de ABTS* și 20 μL de vin diluat în raport de 1:50. S-a așteptat 7 minute și s-a măsurat absorbanta la lungimea de undă 734 nm. Rezultatele s-au exprimat în mM Trolox utilizând curba de calibrare a acestei substanțe. Curba de calibrare s-a realizat cu concentrația Troloxului cuprinsă între 0–30 μM. Activitatea antioxidantă totală a vinurilor finale de Feteasca neagră și Cabernet Sauvignon au fost de 13.5 mM Trolox și 14.2 mM Trolox.

Etapa de execuție nr. 3/2022

Etapa 3 - Îmbunătățirea protocoalelor pentru determinarea pesticidelor din etapele principale ale proceselor de vinificație. Diseminarea rezultatelor pe scară largă prin comunicări naționale și internaționale

Obiectivul principal al etapei a treia a proiectului este îmbunătățirea practicilor oenologice, propunerea de metode privind reducerea conținutului de pesticide în timpul procesului de vinificație, precum și diseminarea rezultatelor obținute prin publicarea în jurnale și participarea la conferințe naționale și internaționale. **Obiectivele etapei au fost realizate în totalitate** prin îndeplinirea completă a tuturor activităților, în acord cu planul de realizare al proiectului.

Etapa a treia a proiectului a constat în îmbunătățirea practicilor oenologice. Activitatea 'A.3.1. - Modificări ale proceselor de vinificație și îmbunătățirea practicilor oenologice' a coincis acestui obiectiv și a contribui cu recomandări pentru dezvoltarea durabilă a procesului de vinificație. O altă activitate a vizat diseminarea prin publicații internaționale și naționale (corespunde activității A.3.2 din planul proiectului). Diseminarea prin publicații internaționale, naționale și participarea la conferințe a fost realizată utilizând rezultatele obținute în toate activitățile precedente ale proiectului (A.3.3. publicarea rezultatelor cercetării în reviste indexate internațional). Ultima activitate a etapei a III-a a constat în managementul proiectului (A.3.4.).

Activitățile desfășurate în cadrul etapei a treia a proiectului au condus la realizarea integrală a obiectivelor etapei, fapt dovedit și de **îndeplinirea următorilor indicatori cuantificabili:**

- ✓ 1 articol publicat într-o revistă ISI cu factor de impact, Q1, zona roșie:
Dumitriu (Gabur), G.D., Gabur, I., Cucolea, E.I., Costache, T., Rambu, D., Cotea, V. V., Teodosiu, C. 2022 - Investigating six common pesticides residues and dietary risk assessment of Romanian wine varieties, *Foods*, 11(15), 2225, doi.org/10.3390/foods11152225, **Impact factor: 5.561**
- ✓ 1 articol trimis spre publicare în revistă ISI cu factor de impact;
- ✓ 1 poster prezentat la o conferință în Statele Unite ale Americii:
Dumitriu (Gabur), G.D., Teodosiu, C., Cotea, V.V. 2022 - Monitoring of Pesticide Residues in Red Wine Genotypes, *Plant and Animal Genome XXIX Conference*, 8-12 January, San Diego, USA
- ✓ Recomandări privind îmbunătățirea procesului de vinificație;
- ✓ Propunerea de metode privind reducerea conținutului de pesticide din timpul procesului de vinificație;
- ✓ Recomandări privind dezvoltarea durabilă a procesului de vinificație;
- ✓ Reactualizare și mentenanța site-ului web al proiectului disponibil la adresa: <http://safewine.icpm.tuiasi.ro/>;

În continuare sunt prezentate rezultate experimentale preliminare pe fiecare activitate în parte conform planului proiectului.

Activitatea 3.1 - Modificări ale proceselor de vinificație și îmbunătățirea practicilor oenologice. Recomandări pentru dezvoltarea durabilă a procesului de vinificație

Reziduurile de pesticide din struguri și din vinuri pot reprezenta o preocupare majoră pentru sănătatea umană. Este imperios să se identifice procesele care sunt capabile să diminueze sau să elimine reziduurile de pesticide din toate produsele horticoale utilizate în alimentația umană.

Anumite procese, cum ar fi spălarea, decojirea sau etapele vinificației au fost raportate în literatura de specialitate ca fiind metode bune pentru a diminua conținutul de reziduuri de pesticide. În mod obișnuit, strugurii sunt supuși unor tratamente fitosanitare în vița de vie, recoltați și apoi transportați către procesul de vinificație.

Îndepărtarea proactivă a reziduurilor de pesticide din struguri și vinuri se poate face prin utilizarea tehnicilor de decontaminare, clasificate ca metode fizice, fizico-chimice și oenologice.

Metode fizice

Metodele fizice de eliminare a reziduurilor de pesticide din struguri și vinuri sunt utilizate la scară redusă în industria vinicolă. Majoritatea acestor tehnici nu sunt fezabile din punct de vedere economic pentru majoritatea vinificatorilor de dimensiuni mici și medii, chiar dacă, în prezent, tehnologiile moderne oenologice vizează siguranța băuturilor și o producție durabilă.

❖ Metoda câmpului electric pulsativ (PEF) - tehnologie non-termică emergentă care induce o degradare mai mică a caracteristicilor compoziționale și senzoriale decât prelucrarea termică clasică. Această metodă utilizează un câmp electric sub forma unor impulsuri scurte sau de înaltă tensiune. Vinul este plasat în câmpul electric, între doi electrozi, pentru o perioadă scurtă, în mod regulat la scară de microsecunde. În urma cercetărilor, rezultatele au arătat că metoda PEF poate scădea conținutul de fungicide, iar principalii factori de influență au fost intensitatea câmpului electric și nivelul de energie utilizat.

❖ Ultrasunetele - tehnică recentă utilizată pentru eliminarea pesticidelor din fructe și legume. Într-un studiu recent, s-a investigat procesul de spălare cu ultrasunete pentru a elimina pesticidele din struguri. Rezultatele au arătat rate de scădere a reziduurilor între 72,1% și 100% pe struguri în comparație cu spălarea cu apă normală.

❖ Microfiltrarea - o altă tehnologie emergentă foarte promițătoare utilizată pentru produsele din struguri. Doulia și colab. (2016) au investigat microfiltrarea în procesul de eliminare a pesticidelor dintr-un vin grecesc, utilizând șase membrane cu aceeași dimensiune a porilor de 0,45 μm. Rezultatele privind eficiența eliminării pesticidelor au fost următoarele pentru vinul alb: acetat de celuloză > nitrat de celuloză > polietersulfonă > nailon > celuloză > poliamidă, iar pentru vinul roșu: acetat de celuloză > nitrat de celuloză > celuloză > polietersulfonă > poliamidă > nailon. Un alt aspect constatat de autori a fost acela că, cu cât hidrofobicitatea mai mare și hidrofilicitatea mai mică a pesticidului sunt mai mari, cu atât eficiența microfiltrării este mai mare pentru vinuri.

Metode fizico-chimice

❖ Adsorbția chimică - această metodă este descrisă ca fiind ecologică, cu o producție redusă de deșeuri. Diferite tipuri de adsorbanti, cum ar fi argila, cărbunele activ, biochar și nanoparticule au fost utilizate pentru adsorbția pesticidelor din struguri și vinuri. Îndepărtarea eficientă a reziduurilor de pesticide depinde de concentrațiile de pesticide, de agenții de limpezire a vinului, de tipul de compuși și de dozaj.

❖ Tratarea cu ozon (O₃) - este utilizat în sectorul agroalimentar și al băuturilor, în special pentru a controla degradarea post-recoltare și pentru a prelungi durata de depozitare a fructelor și legumelor. S-a demonstrat că tratamentele cu ozon post-recoltare îmbunătățesc resveratrolul și alți compuși fenolici și reduc reziduurile de pesticide. Eliminarea pesticidelor este influențată de diferite condiții de aplicare (pH, temperatură și umiditate), conținutul de materie organică, concentrația de ozon, rata de producție și forma de aplicare (apoasă și gazoasă). În 2018, Karaca și colab. a studiat eliminarea pesticidelor din struguri prin expunerea fructelor în aer îmbogățit cu ozon. Atmosfera gazoasă bogată în ozon a condus la o eliminare de 2,8 ori mai mare a fungicidului azoxistrobin decât proba de control.

❖ Cărbunele activat (CA) - utilizat în general în vinificație pentru a elimina compușii fenolici, pigmenții și aromele nedorite. Cărbunele activ prezintă efecte pozitive mari asupra reducerii pesticidelor, datorită capacității sale ridicate de adsorbție, suprafeței mari și porozității ridicate. Sen și colab. (2017) au studiat influențele cărbunelui activat cu doze mici, medii, mari asupra eliminării vinclozolinului, penconazolului, endosulfanului, imazalilului, nuarimolului și tetradifon. Cantitatea de imazalil a scăzut în vinul alb cu doze medii și mari de cărbune activat, dar doza mică de cărbune activat a eliminat 92,96% din imazalil.

❖ Biochar - în ultimii ani, un nou adsorbant bogat în carbon (38-80%), biochar, a atras o atenție remarcabilă, fiind produs prin conversie termică într-un mediu fără oxygen. Biochar poate fi utilizat pentru eliminarea diferiților compuși toxici, cum ar fi pesticidele, metalele grele, antibioticele și coloranții.

Tehnici oenologice

Procesele de vinificație au potențialul de a elimina, degrada sau diminua conținutul de pesticide din struguri. Acest lucru se realizează în principal prin intermediul etapelor vinificației, cum ar fi presarea, filtrarea, adsorbția sau prin procesele microbiene care au loc în timpul etapei de fermentare.

În primele etape ale vinificației, în procesul de presare și macerare, reziduurile de pesticide de pe struguri sunt diminuate în mod considerabil. Astfel, o cantitate de compuși toxici rămâne în tescovină și în drojdie, iar o cantitate mică migrează în must. În etapa următoare, în fermentația alcoolică și malolactică, drojdiile distrug o parte din reziduurile de pesticide. O altă etapă importantă în care are loc reducerea reziduurilor de pesticide este etapa de clarificare. Pan și colab. (2018) au constatat că întregul proces de vinificație poate reduce reziduurile de zoxamidă din vinurile roșii și albe. Procesul de desciorchinare are o influență importantă asupra scăderii zoxamidei, deoarece un conținut ridicat al acestui pesticid a fost reținut de pielița strugurilor. Prin urmare, etapele vinificației contribuie semnificativ la reducerea conținutului de pesticide din vin.

Organizația Internațională a Viei și Vinului (OIV, 2004) a definit sustenabilitatea ca fiind un set de strategii globale pentru prelucrarea strugurilor și sistemele de producție prin aplicarea conceptelor de sustenabilitate și planificare structurală, cu scopul de a produce vinuri de calitate întrucât criteriile de sustenabilitate să păstreze sănătatea consumatorului, mediul, patrimoniul istoric și cultural (OIV, 2004).

Piața mondială a vinurilor a suferit mari transformări în ultimii treizeci de ani. Aceste transformări au avut loc datorită creșterii numărului de producători de vinuri într-o perspectivă globală, a creșterii piețelor de vinuri și a modificării comportamentului consumatorilor de vinuri la nivel mondial (Fiore și colab., 2017). Bonn și colab. (2016) evidențiază numărul tot mai mare de consumatori interesați să consume produse durabile. Această tendință este justificată de creșterea preocupării față de aspectele sustenabile. Astfel, se constată o creștere a consumului de vinuri produse prin procese de sustenabilitate în unele țări, precum Germania, Marea Britanie, Elveția, Noua Zeelandă, Japonia și Statele Unite.

Principalele practici de mediu identificate în industria vitivinicolă: reducerea pesticidelor, fungicidelor și erbicidelor, reutilizarea apei, gestionarea solului și tratarea deșeurilor solide. Pe lângă practicile de mediu, cramele trebuie să aibă angajamentul de a realiza în mod corespunzător gestionarea solului, de a conserva peisajul, de a asigura sănătatea și siguranța lucrătorilor și de a minimiza impactul producției în comunitate.

Punerea în aplicare a practicilor sustenabile în industria vinului trebuie să îndeplinească anumite criterii de bază care sunt direct legate de performanța economică a companiei, de conservarea biodiversității și de incluziunea socială.

❖ Reducerea utilizării pesticidelor

Viticultura tradițională este un sistem agricol care utilizează o gamă largă de pesticide. Utilizarea în exces a pesticidelor în podgorii poate duce la formarea unei rezistențe sistemice la dăunători, afectând în mod direct fauna și flora. Cercetările asupra reducerii pesticidelor din industria viticolă s-au îndreptat în mod specific către următoarele procese: presare, limpezire și filtrare (Doulia și colab., 2016). În Brazilia, unele industrii viticole înlocuiesc pesticidele și fungicidele cu o tehnică cunoscută sub numele de control termic al dăunătorilor.

❖ Gestionarea solului

În podgorii, solul intervine în mod direct în calitatea și cantitatea strugurilor produși. Gestionarea solului corespunde implementării diferitelor activități, care au ca scop prevenirea degradării caracteristicilor sale naturale, permițând exploatarea acestuia pe baza unor proceduri durabile. Ramos și colab. (2015) susțin că eroziunea constituie una dintre cele mai mari amenințări la adresa producției viticole.

❖ Practici de reutilizare a apei și de reducere a consumului de apă

Există o lacună în literatura de specialitate care indică necesitatea unor investigații care să ofere strategii de optimizare a resurselor de apă în cadrul lanțului de producere a vinului.

❖ Surse alternative de energie

Procesele de vinificație absorb o cantitate mare de energie, de aceea se caută alternative cu scopul de a reduce cantitatea totală consumată. Printre acestea, utilizarea sticlelor produse din sticlă reciclată duce la reducerea cheltuielilor de energie în momentul îmbutelierii vinului.

❖ Tratarea efluenților

Necesitatea de a prioritiza gestionarea durabilă a apelor reziduale provenite din procesele vinificației a fost recunoscută de companiile din segment și este discutată pe larg în literatura de specialitate. Sistemele de colectare a apelor reziduale sunt planificate și gestionate cu accent pe îmbunătățirea calității vieții oamenilor, precum și pe reducerea răspândirii bolilor.

❖ Tratarea deșeurilor solide

Ciorchinii, pielețele și semințele strugurilor, levurile și sedimentele, precum și filtrele sunt considerate deșeuri solide din industria vinului. Aceste reziduuri pot fi valorificate pentru producerea de compost cu valoare adăugată ridicată (Oliveira și Duarte, 2016).

❖ Enoturism

Enoturismul poate fi recunoscut ca un factor de sustenabilitate care permite continuarea dezvoltării economice și socio-ambientale a locurilor rurale. Enoturismul este o activitate care implică vizite la crame, degustare sau festivaluri care oferă vizitatorilor posibilitatea de a experimenta atributele regiunii în care vinurile sunt produse.

Activitatea 3.2 - Diseminarea rezultatelor prin comunicari naționale și internaționale

Promovarea proiectului „Identificarea pesticidelor din timpul procesului de vinificație și impacturile asupra mediului și sănătății umane” se realizează prin intermediul paginii web dezvoltate la adresa: <http://safewine.icpm.tuiasi.ro/>.

Pagina web prezintă aspecte referitoare la descrierea proiectului, obiectivele specifice, rezultatele obținute și membrii proiectului. Pagina web are drept scop asigurarea transparenței dar și actualizarea informațiilor privind derularea proiectului.

Activitățile efectuate în cadrul acestui proiect au condus la **îndeplinirea integrală a obiectivelor** propuse în cadrul *Safewine*:

- ✓ **1** capitol de **carte publicat (Open access)**;
- ✓ **3** articole publicate în reviste **ISI** cu factor de impact, **Q1, zona rosie**;
- ✓ **1** articol publicat în reviste **ISI Web of Science, Proceedings Paper**;
- ✓ **1** articol trimis spre publicare în revistă ISI cu factor de impact;
- ✓ **4** postere prezentate la **manifestări științifice naționale și internaționale** pentru diseminarea activităților și rezultatelor proiectului;
- ✓ Vinificația a 2 soiuri autohtone și cosmopolite de struguri;
- ✓ Recoltarea de probe din fiecare etapă tehnologică;
- ✓ Stabilirea metodelor de extracție și cuantificare a pesticidelor;
- ✓ Determinarea pesticidelor din fiecare etapa de vinificație;
- ✓ Analiza influenței pesticidelor asupra parametrilor de calitate a vinului;
- ✓ Stabilirea metodelor de cuantificare a impactului și riscurilor asupra mediului și sănătății umane;
- ✓ Propunerea unor metode de eliminare a pesticidelor din timpul vinificației;
- ✓ Recomandări privind dezvoltarea durabilă a procesului de vinificație;
- ✓ Reactualizare și mentenanța site-ului web al proiectului disponibil la adresa: <http://safewine.icpm.tuiasi.ro/>;

Indicatori de realizare: detaliere indicatori *Safewine* pentru cele trei etape (2020-2022)

Nr. crt.	Indicatori de realizat	Realizati in 2020	Realizati in 2021	Realizati in 2022	Total realizati	Total prevazuti
1.	Capitol de carte publicat Open access)	0	1	0	1	0
2.	Articole publicate in ISI Web of Science, Q1, zona rosie	0	2	1	3	2
3.	Articole publicate in ISI Web of Science, Proceedings Paper	0	1	0	1	0
4.	Articole trimise spre publicare	0	0	1		
5.	Comunicari stiintifice la conferinte nationale si internationale	1	2	1	4	4
TOTAL PUBLICATII		1	6	3	9	6

Activitatea 3.3 - Publicarea rezultatelor cercetării în reviste indexate internațional

Rezultatele obținute în urma cercetărilor au fost publicate **ca prim autor** într-un **capitol de carte** (Open Acces), în **3 articole ISI (Q1, zona rosie, suma factorilor de impact 13,042)**, în **1 articol ISI Proceedings** și lucrări prezentate la **4 conferințe naționale și internaționale**.

Capitol de carte publicat (Open access):

1. **Dumitriu (Gabur), G.D.**, Teodosiu, C., Cotea, V.V. 2021 - Management of Pesticides from Vineyard to Wines: Focus on Wine Safety and Pesticides Removal by Emerging Technologies, In Grapes and Wine, Edited by Antonio Morata, Iris Loira and Carmen González, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.98991

Articole publicate în reviste cotate ISI Web of Science, Q1, zona rosie:

1. **Dumitriu (Gabur), G.D.**, Teodosiu, C., Morosanu, I., Plavan, O., Gabur, I., Cotea, V. V. 2021 - Heavy metals assessment in the major stages of winemaking: Chemometric analysis and impacts on human health and environment. Journal of Food Composition and Analysis, 100, 103935, doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103935, **Impact factor: 4.556 (articol premiat)**
2. **Dumitriu (Gabur), G.D.**, Teodosiu, C., Gabur, I., Cotea, V.V., Peinado, R.A., López de Lerma, N. 2021 - Alternative winemaking techniques to improve the content of phenolic and aromatic compounds in wines. Agriculture (Switzerland), Open Access, 11(3), 2335, doi.org/10.3390/agriculture11030233, **Impact factor: 2.925 (articol premiat)**
3. **Dumitriu (Gabur), G.D.**, Gabur, I., Cucolea, E.I., Costache, T., Rambu, D., Cotea, V. V., Teodosiu, C. 2022 - Investigating six common pesticides residues and dietary risk assessment of Romanian wine varieties, Foods, 11(15), 2225, doi.org/10.3390/foods11152225, **Impact factor: 5.561**

Articole publicate în reviste cotate ISI Web of Science, Proceedings Paper:

4. **Dumitriu, G.D.**, Teodosiu, C., Gabur, I., Moraru, I., Cotea, V.V. 2021 - Physicochemical and Sensory Characteristics of Red Wines. E-Health and Bioengineering Conference (EHB), DOI: 10.1109/EHB52898.2021.9657623

Lucrări prezentate la conferințe naționale și internaționale:

1. **Georgiana-Diana Dumitriu (Gabur)**, Nieves Lopez de Lerma, Rafael A. Peinado, Valeriu V. Cotea, Carmen Teodosiu, 2020 - Alternative Winemaking Techniques with Improved Content of Phenolic and Aromatic Compounds. 14th Edition of the International Conference for Food Physicists, November 05-06, Iași, România
2. **Georgiana-Diana Dumitriu (Gabur)**, Carmen Teodosiu, Irina Morosanu, Oana Plavan, Iulian Gabur, Valeriu V. Cotea, 2021 - An assessment of heavy metals in commercial wines. 11th International Conference on Environmental Engineering and Management, 8-10 September 2021, Muttenz, Switzerland.
3. **Georgiana-Diana Dumitriu (Gabur)**, Carmen Teodosiu, Iulian Gabur, Ioan Moraru, Valeriu V. Cotea, 2021 - Physicochemical and Sensory Characteristics of Red Wines, The 9th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering - EHB 2021, 18-19 November 2021, Iasi - Web Conference – Romania

4. **Dumitriu (Gabur), G.D.**, Teodosiu, C., Cotea, V.V. 2022 - Monitoring of Pesticide Residues in Red Wine Genotypes, Plant and Animal Genome XXIX Conference, 8-12 January, San Diego, USA

Activitatea 3.4 - Managementul proiectului

În cadrul proiectului intitulat „*Identificarea pesticidelor din timpul procesului de vinificație și impacturile asupra mediului și sănătății umane*”, au fost prevăzute un număr de 3 activități de cercetare științifică **în prima etapă** (activitatea 1.1. Revizuirea preliminară a literaturii și metodologiile analitice relevante, activitatea 1.2. Vinificația din struguri locali și internaționali și analiza eficienței fiecărei etape, activitatea 1.3. Monitorizarea pesticidelor din vinuri și din sol (partea 1). În cea de a **doua etapă a proiectului** au fost prevăzute 3 activități și anume: activitatea 2.1. Monitorizarea și identificarea pesticidelor din vinuri și din sol (partea 2). Analize statistice de date, activitatea 2.2. Metode de identificare și cuantificare a impactului și a riscurilor asupra sănătății umane și activitatea 2.3. Analizarea compusilor aromatici și activității antioxidante. În cea de a **treia etapă**, ultima etapă a proiectului au fost stabilite 4 activități: activitatea 3.1 - Modificări ale proceselor de vinificație și îmbunătățirea practicilor oenologice. Recomandări pentru dezvoltarea durabilă a procesului de vinificație, activitatea 3.2 - Diseminarea rezultatelor prin comunicări naționale și internaționale, activitatea 3.3 - Publicarea rezultatelor cercetării în reviste indexate internațional și activitatea 3.4 - Managementul proiectului.

Toate activitățile au fost realizate complet, ceea ce a condus la realizarea obiectivelor și la depășirea indicatorilor de proiect.

Bibliografie:

1. Bockstaller, C., Girardin, P., Van der Werf, H. M. G. 1997. Use of agro-ecological indicators for the evaluation of farming systems. *Eur. J. Agron.* 7, 261–270.
2. Bonn, Mark A., Cronin, J. Joseph, Cho, Meehee, 2016. Do environmental sustainable practices of organic wine suppliers affect consumers' behavioral intentions? The moderating role of trust. *Cornell Hospital. Quart.* p. 1938965515576567.
3. Cotea, V.D., Zănoagă, C., Cotea, V.V. 2009. *Tratat de oenochimie*, vol I, Editura Academiei Române, București, ISBN 978-973-27-1761-5.
4. Doulia, D.S., Anagnos, E.K., Liapis, K.S., Klimentzos, D.A. 2016. Removal of pesticides from white and red wines by microfiltration. *J. Hazard. Mater.* 317, 135-146. doi:10.1016/j.jhazmat.2016.05.054
5. Flores, S.S. 2018. What is sustainability in the wine world? A cross-country analysis of wine sustainability frameworks. *J. Clean. Prod.* 172, 2301e2312
6. Fuentes Espinoza, A., Hubert, A., Raineau, Y., Franc, C., & Giraud-Heraud, E. 2018. Resistant grape varieties and market acceptance: An evaluation based on experimental economics. *OENO One*, 52(3). <https://doi.org/10.20870/oenone.2018.52.3.2316>
7. González-Álvarez, M., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Simal-Gándara, J. 2012. Impact of phytosanitary treatments with fungicides (cyazofamid, famoxadone, mandipropamid and valifenalate) on aroma compounds of Godello white wines. *Food Chem.* 131(3), 826-836. doi:10.1016/j.foodchem.2011.09.053
8. Gonzalez-Rodríguez, R. M., Noguero-Pato, R., Gonzalez-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., & Simal-Gandara, J. 2011. Application of new fungicides under good agricultural practices and their effects on the volatile profile of white wines. *Food Research International*, 44(1), 397–403. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.036>
9. Karaca, H. 2018. The effects of ozone-enriched storage atmosphere on pesticide residues and physicochemical properties of table grapes. *Ozone: Science & Engineering*. 41, 1-11. doi.org/10.1080/01919512.2018.1555449

10. Noguerol-Pato, R., González- Rodríguez, R.M., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Simal-Gándara, J. 2011. Influence of tebuconazole residues on the aroma composition of Mencía red wines. *Food Chem.* 124, 1525-1532. doi:10.1016/j.foodchem.2010.08.00
11. OIV, 2004. Resolution OIV/CST 1/2004. Definition of Sustainable Vitiviniculture, Paris.
12. Oliveira, M., Duarte, E., 2016. Integrated approach to winery waste: waste genera- tion and data consolidation. *Front. Environ. Sci. Eng.* 10 (1), 168e176.
13. Pan X, Dong F, Liu N, Cheng Y, Xu J, Liu X, Wu X, Chen Z, Zheng Y. 2018. The fate and enantioselective behavior of zoxamide during wine-making process. *Food Chem.* 248. doi:10.1016/j.foodchem.2017.12.052
14. Pingault, N., Pleyber, E., Champeaux, C., Guichard, L., Omon, B. 2009. Produits phytosanitaires et protection intégrée des cultures : l'indicateur de fréquence de traitement (IFT). *Notes et Études Socio-Économiques* 32, 61-94
15. Ramos, M.C., Benito, C., Martínez-Casasnovas, J.A., 2015. Simulating soil conserva- tion measures to control soil and nutrient losses in a small, vineyard domi- nated, basin. *Agric. Ecosyst. Environ.* 213, 194e208.
16. Re R., Pellegrini A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.
17. Santé. 2015. SANCO/11188/2013–rev. 2 of 14.9.2015 Guidance document on criteria for the inclusion of active substances into Annex IV of Regulation (EC) No 396/2005.
18. Schusterova, D., Hajslova, J., Kocourek, V., & Pulkrabova, J. 2021. Pesticide residues and their metabolites in grapes and wines from conventional and organic farming system. *Foods*, 10(2), 307. <https://doi.org/10.3390/foods10020307>
19. Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Tanveer, M., Sidh, GPS., Handa, N., Kohli, S.K., Yadav, P., Bali, A.S., Parihar, R.D., Dar, O.I., Singh, K., Jasrotia, S., Bakshi, P., Ramakrishnan, M., Kumar, S., Bhardwaj, R., Thukral, A. 2019. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences*, 1(11), 1446. doi:10.1007/ s42452-019-1485-1
20. Țârdea C. 2007. *Chimia și analiza vinului*, Editura Ion Ionescu de la Brad, Iași.
21. Thiollet-Scholtus, M., Muller, A., Abidon, C., Grignon, J., Keichinger, O., Koller, R., ... Wohlfahrt, J. 2021. Multidimensional assessment demonstrates sustainability of new low-input viticulture systems in north-eastern France. *European Journal of Agronomy*, 123, 126210. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126210>

Director proiect,
CS dr. Georgiana-Diana GABUR