



ХИМИКОТЕХНОЛОГИЧЕН И МЕТАЛУРГИЧЕН УНИВЕРСИТЕТ

ФАКУЛТЕТ ПО ХИМИЧНО И СИСТЕМНО ИНЖЕНЕРСТВО

КАТЕДРА „ИНЖЕНЕРНА ХИМИЯ”

маг. инж. Диян Владимиров Точев

**ЗНАЧЕНИЕТО НА ТРАНС - РЕЗВЕРАТРОЛА ПРИ
ТЕХНОЛОГИЯТА НА РОЗОВИ ВИНА ОТ МАВРУД**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертация

за придобиване на образователната и научна степен „доктор” по научна специалност
5.10. Химични технологии (Процеси и апарати в химичната и биохимичната технология)

Научен ръководител: проф. д-р инж. Иван Пенчев

Научно жури:

1. доц. д-р инж. Стилян Чаушев – председател, рецензент
2. проф. д-р инж. Румяна Статева - рецензент
3. проф. д-р инж. Иван Пенчев - становище
4. проф. д-р инж. Михаил Ангелов - становище
5. доц. д-р инж. Драгомир Добруджалиев - становище

София, 2016

Дисертационният труд е написан на 111 страници, съдържа 38 фигури и 22 таблици.
Цитирани са 215 източника.

Представеният дисертационен труд е обсъден и приет за защита на заседание на разширен научен съвет на научното звено на катедра „Инженерна химия”, състояло се на 29.02.2016 г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на 04 юли 2016 г. от 14:00. часа в зала 424, сграда „А” на ХТМУ.

Материалите са на разположение на интересуващите се на интернет страницата на ХТМУ и в отдел „Научни дейности”, стая 406, етаж 4, сграда „А” на ХТМУ.

ВЪВЕДЕНИЕ

Веществото, известно като резвератрол е от групата компоненти наречени фитоалексини, които се произвеждат в растенията по време на рязка промяна в околната среда като например неблагоприятни метеорологични условия, голяма разлика между дневни и нощни температури, нападение от вируси и плесени. Резвератролът (3,5,4-трихидроксистилбен) е естествено срещащ се полифенол, под клас стилбени от с два изомера: транс- и цис-резвератрол, които са открити във виното съответно като агликон и свързаният глюкозид пицеид.

Съдържанието на транс-резвератрол във вината определя тяхната по-висока или по-ниска антиоксидантна способност. Във връзка с това важен фактор за съдържанието на резвератрола е сорта грозде, от който зависи способността на лозата да произвежда по-голямо или по-малко количество ензим – стилбен оксидаза. Този ензим е отговорен за производството на резвератрол, като имунна защита на растението против *botrytis cinerea* (сиво гниене), както и UV-лъчи, озон, вируси, бактерии, гъби. Следователно резвератролът може да се разглежда като собствен антибиотик на растението. Това обобщава защо сортовете от Мавруд и Пино Ноар, които са издръжливи на сиво гниене съдържат високи количества резвератрол в сравнение с другите сортове.

Доказано е също така, че когато разликата между дневната и нощната температура е по-голяма в периода на зреене на гроздето, лозата произвежда по-големи количества транс-резвератрол като защитно действие. Ето защо вината, произведени в Чили, имат високи количества транс-резвератрол в сравнение с вината от Австралия, където разликите между дневните и нощните температури са незначителни. Следвайки тази логика би трябвало червените вина от Южен Тирол и района на Троян – България да имат по-високи количества транс-резвератрол.

Освен това съдържанието на транс-резвератрол зависи от различните трансформации на цис и транс формите на този стилбен, свързани с обработката на вината с различни бистрители, антиоксиданти и филтриране преди бутилирането им. Избистрянето и филтрирането водят до понижаване на концентрацията на резвератрол.

След като гроздето е смачкано и преди започването на алкохолната ферментация, се провеждат няколко кондензационни реакции включващи антоцианини, катехини и процианидини и завършват с формирането на нови полимерни пигменти. Следователно крайният състав на фенолните съединения във виното зависи от полифенолите, съдържащи се в гроздето, параметрите на екстракция, методите за производство на виното, както и от химичните реакции на автоензимно окисление и окислителните процеси, протичащи по време на отлежаване на виното.

По време на своето производство от грозде до вино, последното влиза в повече контакт с кислорода. В следствие на това виното поглъща малко или много кислород от контакта си с въздуха. Именно тези количества погулнат кислород стоят в основата на окислително-редукционните процеси, а последните влияят върху цвета, аромата и понякога и на вкуса на виното, и не рядко върху стабилността на виното.

С цел да се предпази гроздовата мъст от автоензимно окисление и готовото вино от окисление на фенолните съставки се използват определени технологични практики.

Резвератрола като част от групата на полифенолите, трябва да бъде предпазен от окисление, но в същото време като вещество със силна антиоксидантна способност той може да влияе върху окислението. Някои автори предполагат, че техниките на винификация имат голямо влияние върху нивата на резвератрол. Избистрянето и филтруването водят до понижаване на нивата на

резвератрол. Концентрацията на транс-резвератролът показва видими колебания, които зависят от температурата. Друга причина за промяната в стойността на съдържанието на транс-резвератрола е възможността за синтез на резвератрол по време на преработването. Паралелно на казаното от по горе, за предпазване от окисление на гроздовата мъст и вино през различните етапи на винопроизводство се използват вещества с антиоксидантен характер като проантоцианидини, аскорбинова киселина, полизахариди и т.н които са разрешени енологични добавки.

Както посочихме, съдържанието на транс-резвератрол зависи от сорта грозде. Установено е, че резвератролът се синтезира в ципата, но не в месестата част на зърната от грозда на *Vitis vinifera*. Следователно не е изненадващо, че червените вина имат по-високи нива на транс-резвератрол отколкото белите вина.

Резвератролът е силен антиоксидант в природата и е ефикасен инхибитор на липидното окисление като неутрализира свободните окислителни радикали. Изглежда, че резвератролът изменя зависимите процеси на свободните радикали като ги потиска или отклонява електроните от биологичния път, водещ до окислително фосфорилиране.

Доказано е, че резвератрола има многобройни биологични действия, като антиоксидантен ефект и понижаване на сърдечно-съдовите заболявания. Антиоксидантните му свойства са отговорни за намаляване на рака и сърдечно-съдовите заболявания като инфаркт, инсулт и емболия.

Установява се чрез клинични изследвания кардио-протективен и хемо-протективен ефект след въздействие на транс-резвератрол от червени вина.

Казаното дотук, показва важното значение за изследване на концентрацията на резвератрол във виното и неговото влияние върху качеството на виното и окислителните процеси при различните етапи на винификация.

ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на дисертационната работа е изследване количеството на транс - резвератрола в български и други вина, изследване на методи за повишаване на концентрацията му във вината, определяне на значението във връзка запазването на транс - резвератрола във вината и гроздовата мъст и влиянието на транс - резвератрола върху окислението на вината и гроздовата мъст.

За осъществяване на поставената цел се разработиха следните задачи:

- 1** Изследване съдържанието на транс-резвератрол в български розови и червени вина от различни сортове, региони и реколти.
- 2** Изследване етапите на производство на вина от Мавруд и други сортове
- 3** Изследване на факторите, от които зависи количеството на транс-резвератрола във вината.
- 4** Изучаване влиянието на съдържанието на резвератрола върху консервирането, окислението и органолептичните качества на вината
- 5** Разработване на вина с определена технология увеличаваща концентрацията на транс - резвератрола
- 6** Разработване на метод и модел за изследване на влиянието на транс- резвератрола върху окислителните процеси на виното и гроздовата мъст

1. Съдържание на транс-резвератрол във вината

Вината произведени от грозде на сорта Пино Ноар и Мавруд, показват най-високото ниво на транс-резвератрол.

Съдържанието на транс-резвератрол във вината е различно при отделните реколти и зависи от сорта и разликите между дневните и нощните температури. При по-голяма разлика лозата произвежда по-значителни количества транс-резвератрол, като защита срещу вируси, бактерии, гъбички и UV – лъчи.

Сорта грозде, климата, почвата, употребата на селскостопанска техника, състоянието на гроздето и процесите при винопроизводството са най-важните фактори, отговорни за фенолното съдържание на червените вина.

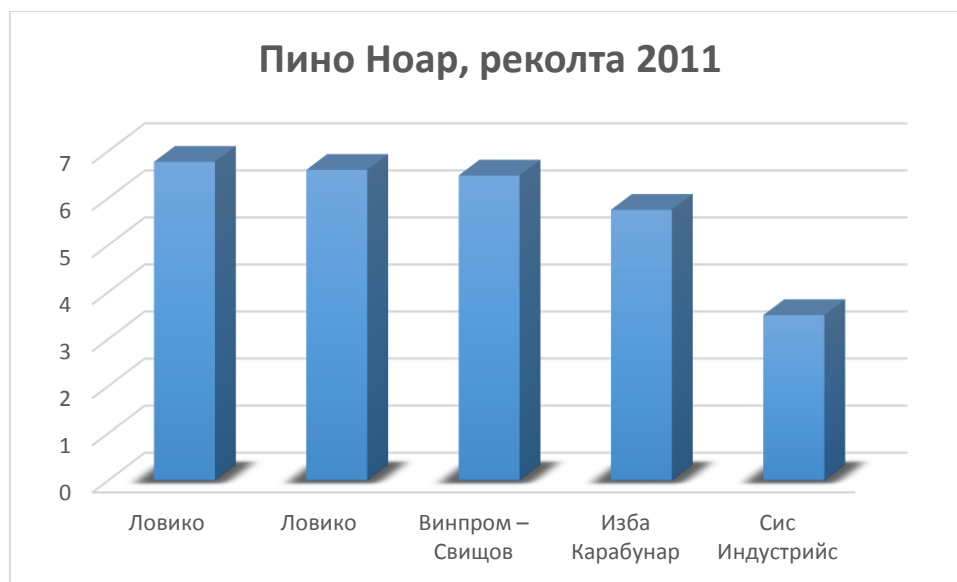
Гроздето съдържа голямо количество различни фенолни съставки в ципата, пулпа и семката. През ферментацията и отлежаването съставките на виното претърпяват структурни трансформации чрез оксидационни и кондензационни реакции, които имат въздействащо влияние върху цвета и вкуса на виното.

Червеното вино съдържа средно 10 пъти повече резвератрол от бялото вино, а розовото вино е със осреднени стойности между двата вида. За формирането на резвератрола в червеното вино от решаващо значение са мацерацията и ферментацията. Средно се съдържат 5-6 mg/l. вино, но не всяко червено вино има еднакво количество резвератрол. При розовите вина всеки етап е важен. Някои вина съдържат 15 и повече mg. Най-много резвератрол съдържа виното от Пино Ноар. Маврудът и Мерлото също съдържат значителни количества. Освен от сорта, количеството зависи и от обкръжаващата среда. При променлив климат се натрупва повече резвератрол, защото лозата има по-голяма нужда от защита срещу въздействията на околната среда. Пикът на концентрация в лозата настъпва след промяната на цвета на плода. Червеното грозде съдържа повече резвератрол от бялото Или: във вината от Бургундия има повече резвератрол от тези от Австралия. Както вече отбелязахме, много високо съдържание на резвератрол имат вината от Чили – поради големите температурни амплитуди между дневна и нощна температура. Това често се отбелязва дори на етикета на бутилките.

Изследванията върху 200 червени вина от района на Калифорния с HPLC са показали наличие на транс-резвератрол средно за Пино Ноар 2 - 5 mg/l, за Мерло 2 mg/l и за Каберне Совиньон 1,9 mg/l. Ниските количества на транс-резвератрол в калифорнийските вина от сорта Пино Ноар могат да се обяснят със сравнително незначителните температурни разлики между нощните и дневните температури в периода на зреене на гроздето в района на Калифорния. Това не създава условия на лозите в този район за активиране на имунната система и производство на големи количества от този антиоксидант и растенията произвеждат по-ниски количества. При същите условия се произвежда гроздето и вината в Австралия – малки разлики между дневните и нощните температури в периода на зреене на гроздето. Това обуславя и по-ниските количества на транс-резвератрол в австралийските вина, подобно на калифорнийските в сравнение с европейските и чилийските вина.

Съдържание на транс-резвератрол в българските вина (реколта 2011 г.)

Използвани са резултати от направените изследвания за съдържанието на транс-резвератрол, проведени през 2011г. Получените резултати показват, че при българските червени вина транс-резвератролът е в по-високо количество при вината Пино Ноар, Мавруд и Мерло. При розовите вина стойностите на транс-резвератрол са най-високи за сорта Мавруд. Получените резултати са представени в таблици 1.1,1.2,1.3,1.4,1.5,1.6 и фигури 1.1, 1.2 и 1.3.

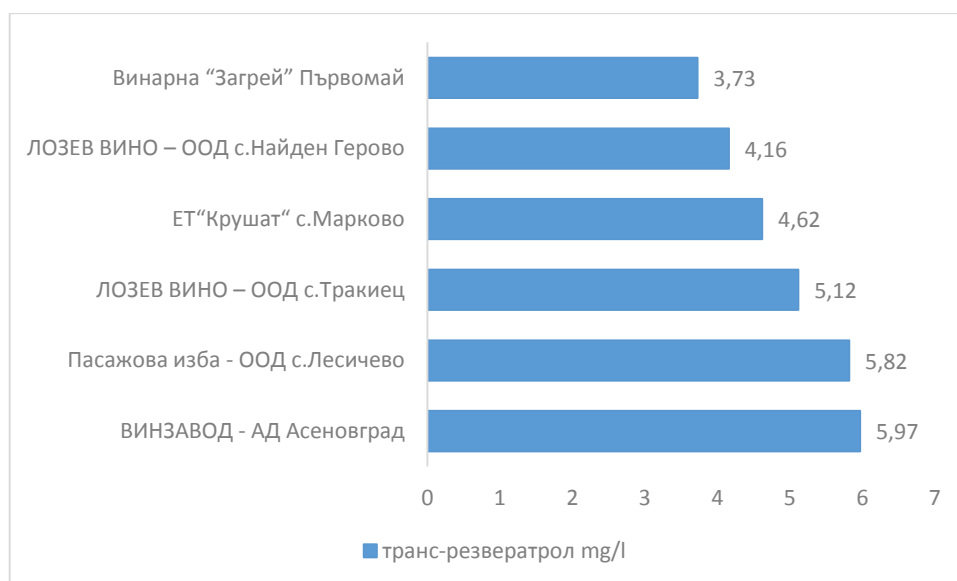


Фиг 1.1. Стойности на резвератрол при Пино Ноар

Резултатите от Фиг.1 и таблица 1 показват, че вината от сорта Пино Ноар реколта 2011 година съдържат най-високи количества транс-резвератрол при сравнение с вината от другите сортове. Това може да се отбележи като сортова особеност.

Таблица 1.1. Стойности на транс-резвератрол при червени вина от Пино Ноар

№	Производител	Сорт	Реколта	Trans – resveratrol mg/l
1.	Ловико – Лозари АД Сухиндол	Пино Ноар	2011	6.77
2.	Ловико – Лозари АД Сухиндол (след обработка)	Пино Ноар	2011	6.60
3.	Винпром – Свищов	Пино Ноар	2011	6.48
4.	Изба Карабунар	Пино Ноар	2011	5.75
5.	Сис Индустрийс - Карнобат	Пино Ноар	2011	3.51



Фиг 1.2. Стойности на транс-резвератрол при Мавруд

Таблица 1.2. Стойности на транс-резвератрол при червени вина от Мавруд

№	Производител	Сорт	Реколта	Trans – resveratrol mg/l
1.	ВИНЗАВОД - АД Асеновград	Мавруд	2011	5.97
2.	Пасажова изба - ООД с.Лесичево	Мавруд	2011	5.82
3.	ЛОЗЕВ ВИНО – ООД с.Тракиец	Мавруд	2011	5.12
4.	ЕТ"Крушат" с.Марково	Мавруд	2011	4.62
5.	ЛОЗЕВ ВИНО – ООД с.Найден Герово	Мавруд	2011	4.16
6.	Винарна "Загрей" Първомай	Мавруд	2011	3.73

Червените вина от сорта Широка мелнишка лоза се нареждат след Мавруд, Пино Ноар и Мерло по съдържание на транс-резвератрол.

Таблица 1.3. Стойности на транс-резвератрол при червени вина от Мелник

№	Производител	Сорт	Реколта	Trans – resveratrol mg/l
1.	Винпром – Сандански	Мелник	2011	4.12
2.	Винпром – Сандански	Мелник след обработка	2011	3.80

Високото количество на транс-резвератрол при винато Мерло от Свищов и Мерло от Панагюрище 8 и 5 mg/l (Таблица 4) може да се обясни не като сортова особеност, а във връзка с големите температурни амплитуди по време на зреенето на гроздето в района на Свищов и Панагюрище (Фиг.2).

Освен това съдържанието на транс-резвератрол зависи от различните трансформации на цис и транс формите на този стилбент във връзка с обработката на вината с различни бистрители, антиоксиданти и филтриране преди бутилирането им. Избистрянето и филтрирането водят до понижаване на нивата на резвератрол Това се установява и от получените резултати в таблици 1, 2 и 3 след обработка на млади вина Пино Ноар, Мелник и Мерло с бентонит, студ, филтриране и бутилиране като намалението на транс-резвератрола е от 0,17 до 0,72 mg/l.

Таблица 1.4. Стойности на транс-резвератрол при червени вина от Мерло

№	Производител	Сорт	Реколта	Транс-резвератрол mg/l
1.	Винпром - Свищов	Мерло	2011	8.07
2.	Винпром – Свищов	Мерло след обработка	2011	7.24
3.	ВИ Румелия - Панагюрище	Мерло	2011	5.05
4.	Сис Индустрийс Карнобат	Мерло	2011	2.93

В сравнение с другите червени вина, тези от сорта Каберне Совиньон (Табл.5) съдържат най-ниски количества транс-резвератрол и това е независимо от географския район на производство на гроздето или разликата между нощните и дневните температури. Тези количества са между 0.97 и 1.55 mg/l. Това може да се обясни като сортова особеност.

Таблица 1.5. Стойности на транс-резвератрол при червени вина от Каберне Совиньон

№	Производител	Сорт	Реколта	Транс-резвератрол mg/l
1.	ВК ЛЕВЕНТ - Русе	Каберне Совиньон	2011	1.55
2.	ВИ Румелия Панагюрище	Каберне Совиньон	2011	1.10
3.	Домейн Бойар с.Кортен	Каберне Совиньон	2011	1.02
4.	Сис Индустрийс - Карнобат	Каберне Совиньон	2011	0.97

Производството на розови вина в България през 2011 г. не заема важно значение от пазара за вино, както се забелязва след това. Малко са на брой произведените сортови розета.



Фиг 1.3. Стойности на транс-резвератрол при розови вина

При розовите вина стойностите са много по ниски от тези на червените вина което се дължи на по бедния фенолен състав. Розето от Мавруд се отличава с по високи концентрации на транс-резвератрол.

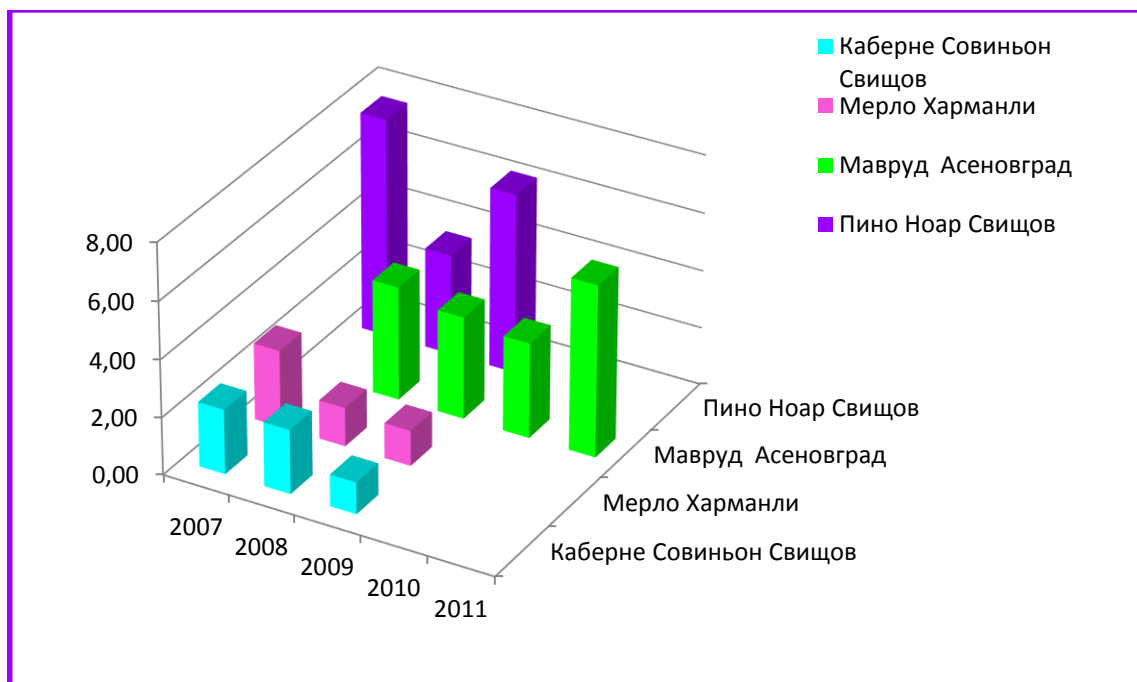
Таблица 1.6. Стойности на транс-резвератрол при розови вина

№	Производител	Сорт	Реколта	Транс-резвератрол mg/l
1.	ЛОЗЕВ ВИНО – ООД с.Тракиец	Мавруд	2011	0,59
2.	Тера Тангра Харманли	Мавруд	2011	0,89

3.	ЛОЗЕВ ВИНО – ООД с.Найден Герово	Мавруд	2011	0,29
4.	Винарна “Загрей” Първомай	Мавруд	2011	0,5
5.	ЛОЗЕВ ВИНО – ООД с. Сива Река	Сира	2011	0,3
6.	Сис Индустрийс - Карнобат	Мерло	2011	0,23
7.	Сис Индустрийс - Карнобат	Каберне Совиньон	2011	0,13

2. Статистически изследвания за съдържанието на транс-резвератрол в червени вина от различни сортове и региони на България и света

Използвани са получените резултати от нашите изследвания за съдържанието на транс-резвератрол проведени през 2011 и 2012 година с червени вина от различни сортове и региони от реколта 2011, 2010, 2009, 2008, 2007, 2006, 1992, 1991 и 1990 година. За сравнение използвахме статистическите резултати получени от изследователи определили количеството на транс-резвератрола в различни страни по света. Резултатите са представени в таблици 2.1, 2.2, 2.3 и 2.4, както и фигури 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6.



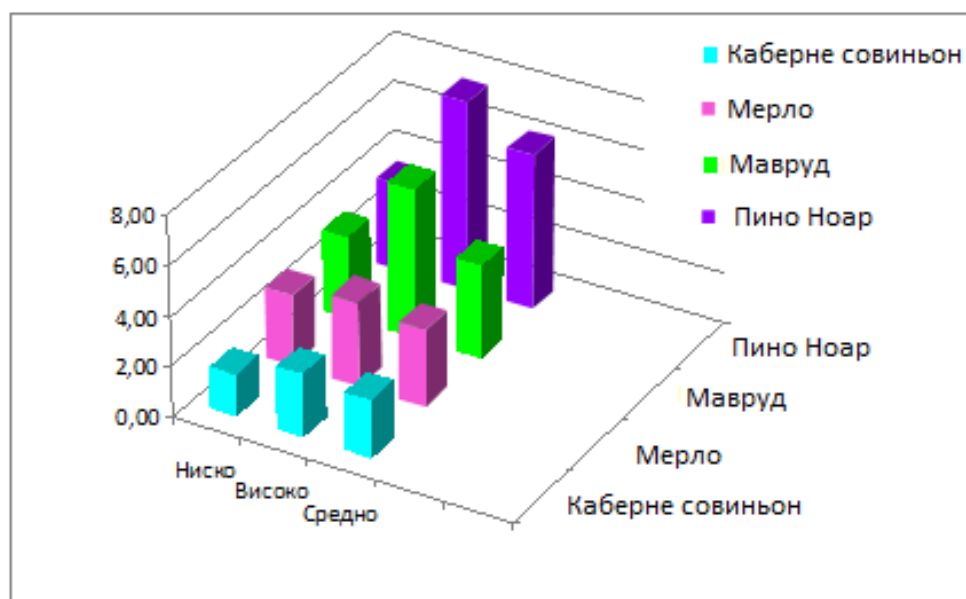
Фигура 2.1. Транс-резвератрол във вината mg/l

Данните от таблица 2.1 и фиг.2.1 показват, че най-високо количество транс - резвератрол се съдържа във вината от сорта Пино Ноар от 6.24 до 7.61 mg/l, Мавруд от 3.31 до

5.97 mg/l, следва Мерло от 1.23 до 2.67 mg/l и Каберне Совиньон от 1.11 до 2.26 mg/l. Вината Старо червено от Оряховица, които са микс от Мерло и Каберне Совиньон имат ниско съдържание на транс-резвератрол от 1,65 до 2,50 mg/l.

Таблица 2.1

№	Производител	Сорт / година	Съдържание на транс-резвератрол, mg/l
1.	„Тера Тангра”- Харманли	Мерло – 2006г.	3,09 mg/l
2.		Мерло – 2007г.	3,37 mg/l
3.		Мерло – 2008г.	2,83 mg/l
4.	„ Кастра Рубра”- Харманли	Мерло – 2007г.	2,67 mg/l
5.		Мерло – 2008г.	1,35 mg/l
6.		Мерло – 2009г.	1,23 mg/l
7.	„Изба Стамболово” - Хасково	Мерло– 1990г.	2,15 mg/l
8.		Мерло – 1991г.	2,08 mg/l
9.		Мерло – 1992г.	1,89 mg/l
10.	„Винзавод Асеновград”	Мавруд – 2008г.	3,94 mg/l
11.		Мавруд – 2009г.	3,55 mg/l
12.		Мавруд – 2010г.	3,31 mg/l
13.		Мавруд – 2011г.	5,97 mg/l
14.	„Винарна Рупци”- Видин	Каберне Совиньон 2008г.	2,30 mg/l
15.		Каберне Совиньон 2009г.	2,23 mg/l
16.		Каберне Совиньон 2010г.	3,18 mg/l
17.	„Винпром Свищов”	Каберне Совиньон 2007г.	2,26 mg/l
18.		Каберне Совиньон 2008г.	2,24 mg/l
19.		Каберне Совиньон 2009г.	1,11 mg/l
20.		Пино Ноар - 2007г.	7,61 mg/l
21.		Пино Ноар - 2008г.	3,49 mg/l
22.		Пино Ноар - 2009г.	6,24 mg/l
23.	„Ловико Лозари”- Сухиндол	Гъмза- 2007г.	2,37 mg/l
24.		Гъмза - 2008г.	2,06 mg/l
25.		Гъмза - 2009г.	1,28 mg/l
26.	„Свети Врач” - Сандански	Мелник - 2009г.	5,39 mg/l
27.		Мелник - 2010г.	3,81 mg/l
28.	„Оряховица”-Домейн Менада	Оряховица – 1990г.	2,31 mg/l
29.		Оряховица – 1991г.	1,65 mg/l
30.		Оряховица – 1992г.	2,50 mg/l



Фигура 2.2. Съдържание на транс-резвератрол (mg/l) в български червени вина от различни сортове и реколти (ниско, средно и високо ниво).

Вината произведени от сортовете Пино Ноар и Мавруд съдържат най-високи количества транс-резвератрол, следват вината от сортовете Мерло и Каберне Совиньон. Описаната тенденция е представена в таблица 2.2 и Фиг.2.2 с високи, ниски и средни стойности на транс- резвератрола. Резултатите са от изследвания на три – четири последователни реколти.

Таблица 2.2. Средно ниво на транс-резвератрол при вина от сорта Пино Ноар, Мавруд, Мерло и Каберне Совиньон от различни географски райони на България

Вина/ Район	Транс-резвератрол (mg/l) ^A			
	Ниско	Високо	Средно	Брой на пробите ^B
Pinot Noir Свишов	3,49	7,61	6,24 ± 1,37	3
Mavrud Асеновград	3,31	5,97	3,75 ± 0,76	4
Merlot Tera Tangra Хасково	2,83	3,37	3,09 ± 0,18	3
Merlot Castra Rubra Харманли	1,23	2,67	1,35 ± 0,48	3
Merlot Стамболово	1,89	2,15	2,08 ± 0,09	3

Cabernet Sauvignon Рупци-Видин	2,29	3,18	2,30 ± 0,32	3
Cabernet Sauvignon Оряховица	1,65	2,5	2,31 ± 0,28	3
Gamza Lovico Сухиндол	1,28	2,37	2,06 ± 0,36	3

^A. Средните стойности са изчислени на базата на нивата на транс-резвератрол, дадени от цитираните препратки. Данните са представени като средна стойност ± стандартно отклонение. Student's t-тест. Вариантите са с незначителни разлики ($p \leq 0.05$) според Student's t – test базирани на всички налични проби.

^B Броят на пробите, включени във всяка средната стойност.

Таблица 2.3. Средно ниво на транс-резвератрол при вина от сорта Пино Ноар, Мавруд, Мерло и Каберне Совиньон от различни географски райони на света

Вина	Транс-резвератрол (mg/l) ^A			Брой на пробите ^B
Страна	Ниско	Високо	Средно	
<i>Pinot Noir</i>				
Бразилия	1.1	4.2	2.9 ± 1.6	3
Република Чехия	1.3	10.5	3.4 ± 3.0	10
Франция	3.8	7.4	5.4 ± 1.2	8
Унгария	2.8	3.7	3.2 ± 0.5	4
Италия	3.2	6.0	4.8 ± 1.4	3
Япония	0.4	2.3	1.3 ± 1.3	2
САЩ	0.2	5.8	2.3 ± 2.3	10
България	3.4	7.6	6.2 ± 1.3	3
Турция	1.2	1.6	1.4 ± 0.5	3
<i>Mavrud</i>				
България	3.3	5.9	3.7 ± 0.7	4

Merlot

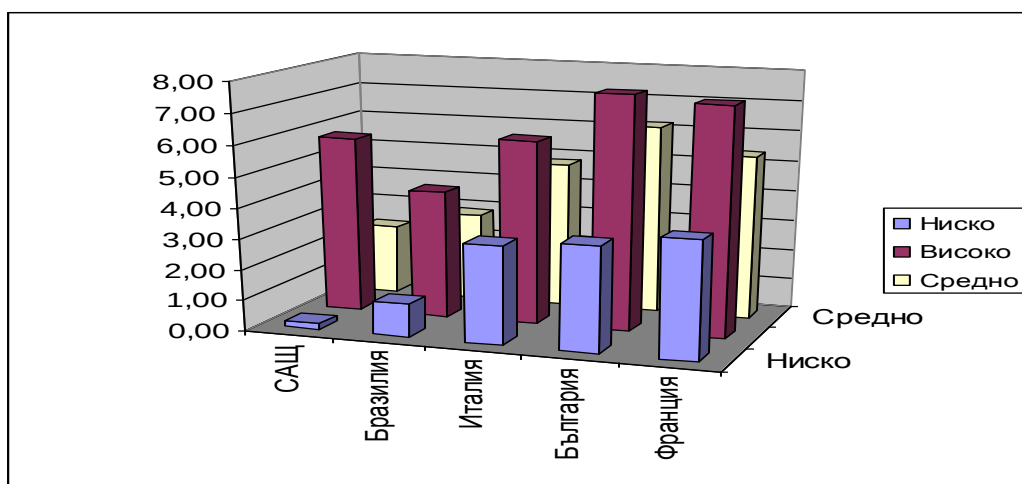
Бразилия	3.1	5.1	4.0 ± 1.0	3
Турция	1.0	1.2	1.1 ± 0.1	3
България	2.8	3.4	3.0 ± 0.2	3
Унгария	1.3	4.3	3.9 ± 4.0	10
Италия	0.5	6.0	3.4 ± 2.3	4
Япония	0.6	2.1	1.5 ± 0.6	5
Испания	1.0	7.7	4.0 ± 2.9	4
САЩ	0.4	2.7	1.5 ± 1.0	4

Cabernet Sauvignon

Австралия	0.2	1.5	0.9 ± 0.6	4
България	1.6	2.5	2.3 ± 0.2	3
Бразилия	1.3	2.3	1.8 ± 0.5	4
Турция	1.4	2.2	1.7 ± 0.2	
Гърция	-	-	1.0	1
Унгария	1.2	9.3	2.9 ± 2.5	9
Италия	1.3	7.2	4.0 ± 3.1	4
Япония	-	-	0.9	1
Испания	0.7	1.9	1.2 ± 0.4	8
САЩ	н.и.	2.2	0.5 ± 0.6	11

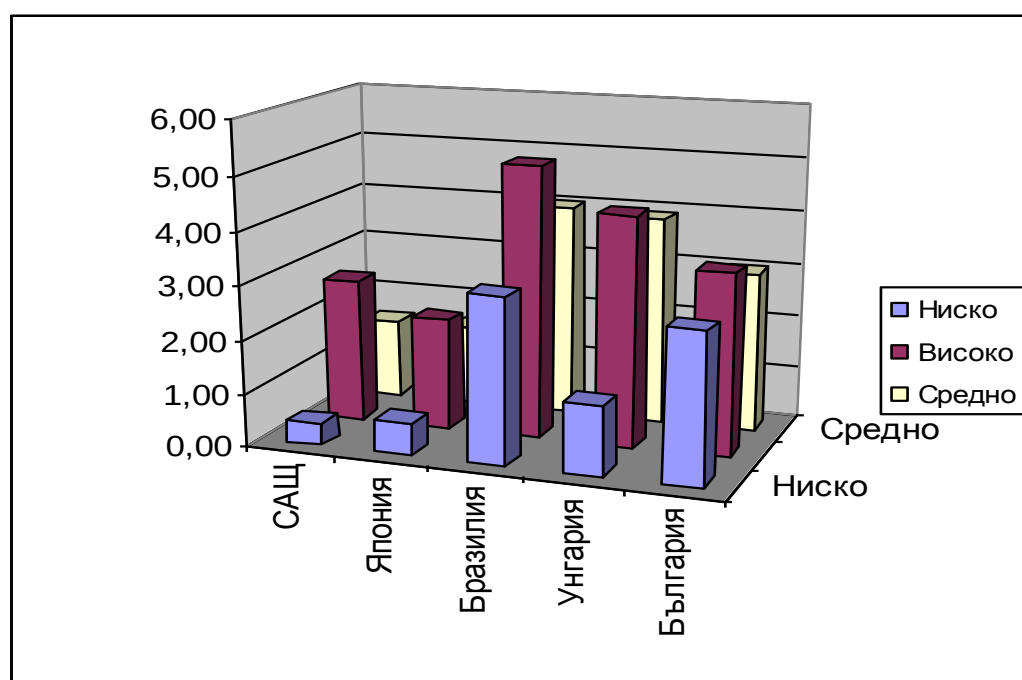
^A.Средните стойности са изчислени на базата на нивата на транс-резвератрол, дадени от цитираните препратки. Данните са представени като средна стойност $\pm$ стандартно отклонение. Student's t-тест. Вариантите са с незначителни разлики ($p \leq 0.05$) според Student's t – test базирани на всички налични проби.

^B Броят на пробите, включени във всяка средната стойност.



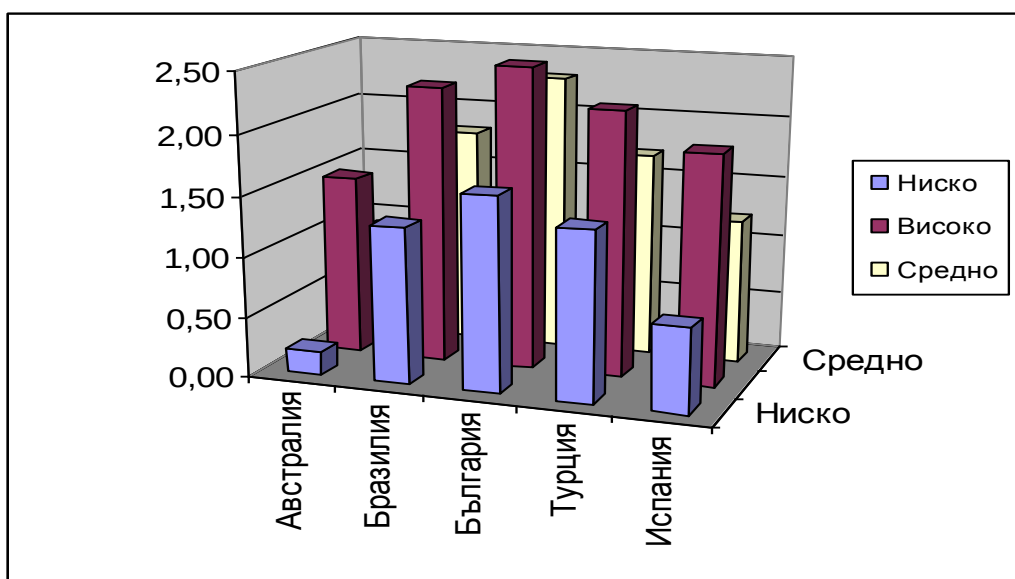
Фиг.2.3 Средно, ниско и високо ниво на транс-резвератрол (mg/l) при вина от сорта Пино Ноар

Резултатите от Таблица 2.3 и Фиг.2.3 показват, че при вината Пино Ноар най-високо е средното ниво на транс-резвератрола в българските и френските вина. Следват вината от Италия, Бразилия, САЩ, Чехия, Унгария и Япония. Това зависи преди всичко от сорта, географската ширина и климата.



Фиг. 2.4. Средно, ниско и високо ниво на транс-резвератрол (mg/l) при вина от сорта Мерло

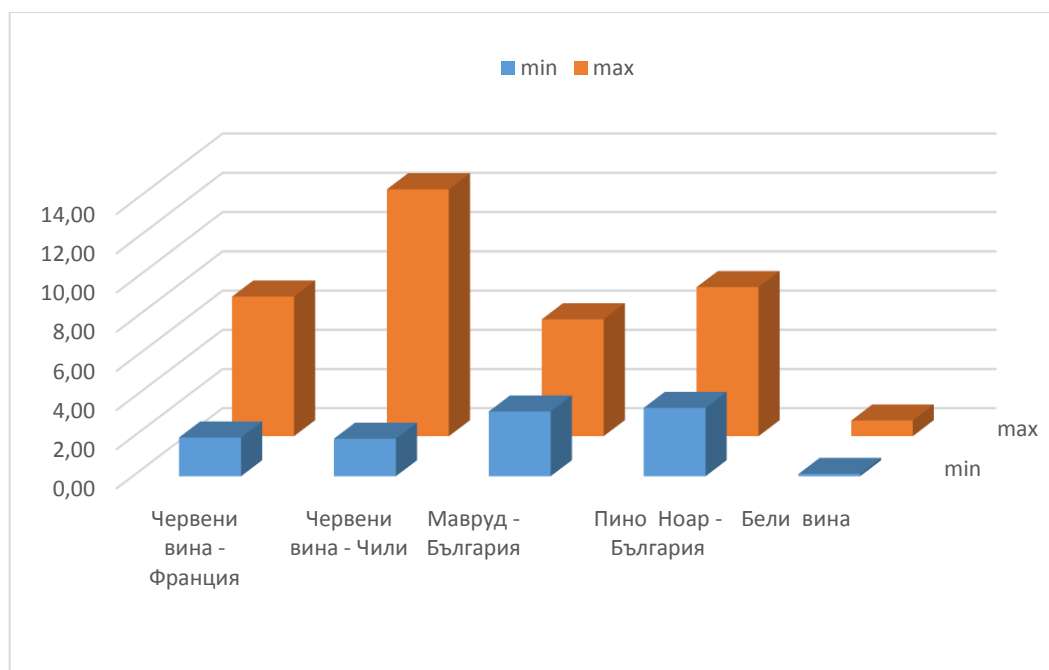
При вината от сорта Мерло данните от Таблица 2.3 и Фиг 2.4 показват най-високо средно ниво за транс-резвератрол при вината от Бразилия, Унгария и България. Следват вината от Италия, Япония и САЩ.



Фигура 2.5. Средно, ниско и високо ниво на транс-резвератрол (mg/l) при вина от сорта Каберне Совиньон

Резултатите от Фиг.2.5 показват, че при вината Каберне Совиньон най-високо е средното ниво на транс-резвератрола във вината от България, Италия, Унгария и Бразилия. Следват вината от Турция и Испания. Най-ниски са средните нива за транс-резвератрола при вината от Япония и САЩ (0,9 mg/l и 0,5 mg/l). Това зависи преди всичко от сорта, географската ширина и климата.

Резултатите от изследванията на Фиг 2.6 и Таблица 2.4 много ясно представят разликите в съдържанието на транс-резвератрола при червените вина на Чили, България, Франция, Калифорния (USA) и Турция.



Фигура 2.6. Сравнение на различни вина по отношение на trans-resveratrol mg/l

Червените вина от Чили имат най-високи количества транс-резвератрол. Това се дължи на по-големите стойности в разликите между дневните и нощните температури в Чили, която се намира на по-висока надморска височина от България и Франция. Българските червени вина не отстъпват по отношение на транс-резвератрол на френските, което може да се обясни с почти еднаквата географска ширина и надморска височина на двете страни. Вината в Турция съдържат средно по-ниски количества транс-резвератрол от 1 до 2 mg/l, понеже страната е разположена географски по на юг и разликите между дневните и нощните температури е значително по-малка.

Таблица 2.4 Съдържание на транс - резвератрол във вината.

Вина	Общо resveratrol (mg / l)
Червени вина - Франция	1.98 - 7.13
Червени вина - Чили	1.92 - 12.59
Мавруд - България	3.31 – 5.97
Пино Ноар - България	3.49 – 7.61
Червени вина - Калифорния	1.90 – 5.00
Червени вина – Турция	0.39 – 2.90
Розови вина	0.12 - 0.80

Изследванията показват, че червените вина от сортовете Пино Ноар и Мавруд съдържат най-много от този ценен стилбен полифенол - резвератрол, следват ги Мерло и Каберне Совиньон. Въпреки малкото на брой открити изследвания на транс – резвератрол при розови вина, съдържанието на транс-резвератрол е от 0.12 до 0.80 mg/l.

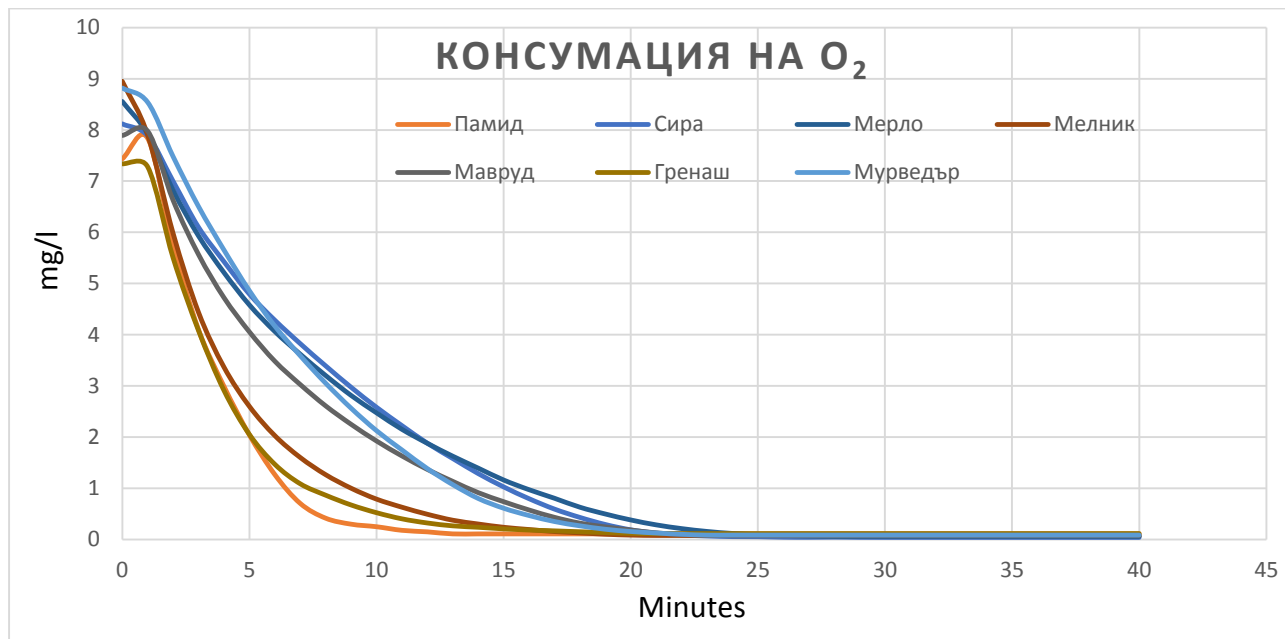
3. Влияние на резвератрола върху консумацията на кислород от гроздовата мъст

Консумацията на кислород от гроздовата мъст при различни сортове

Използван е метода на окисление на гроздова мъст за получаване на розови вина от различни сортове. Резултатите за осреднени стойности за даден сорт от различни реколти и тероари.

От фигура 3.1 се вижда различното време на консумация на разтворения кислород в мъстта. Скоростта на окисление за сорта Памид е най-голяма, при този сорт автоензимното окисление се извършва за 13 мин. до насищане на мъстта с кислород. При Гренаш и Мелник това става за 21 мин. Следват Мурведър за 23 мин. и Мавруд за 24 мин. Най-бавно

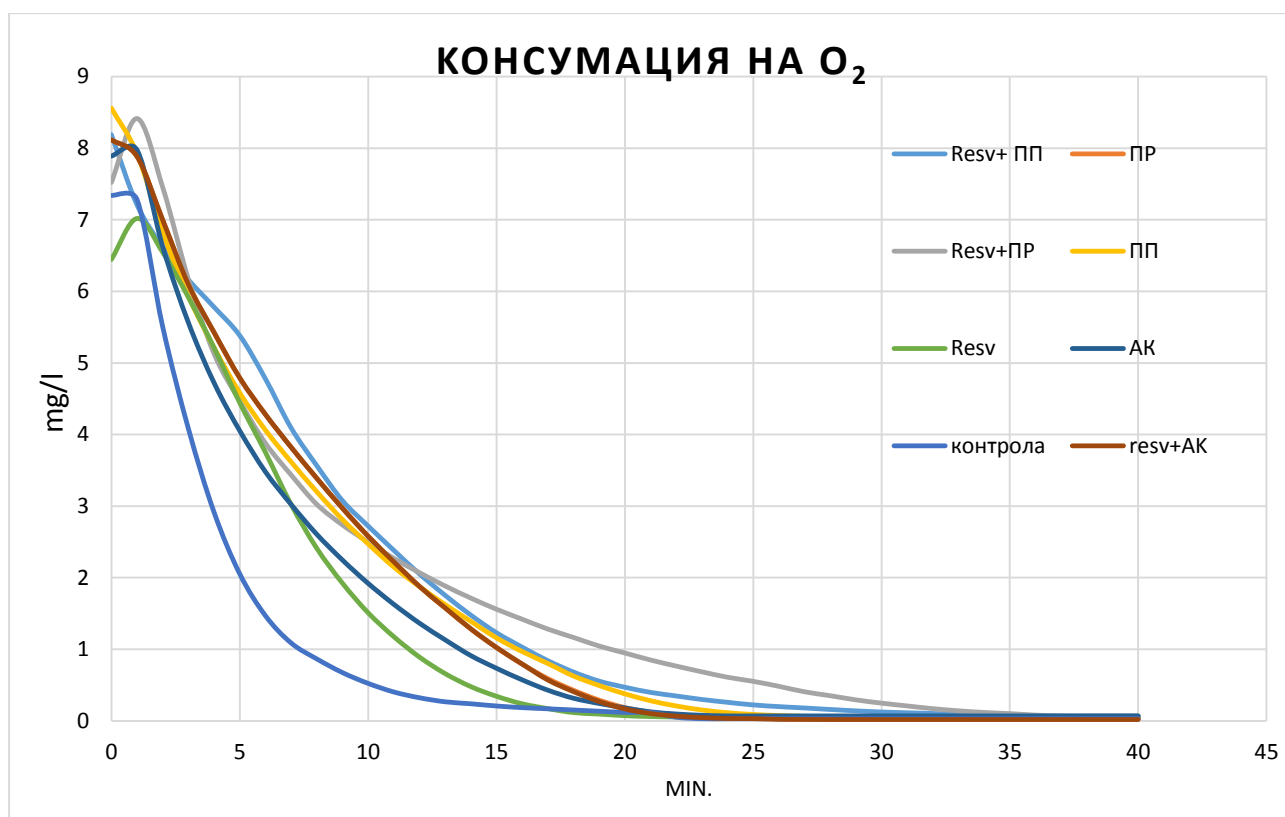
консумиращите мъсти са на Мерло за 28 мин. и Сира за 30 мин. Тези разлики са сортова особеност и зависят от количеството на ензима (ПФО) полифенол оксидаза.



Фигура 3.1 Консумация на разтворен кислород от мъст на различни сортове

Изменение на консумацията на кислород на гроздовата мъст с добавяне на различни вещества

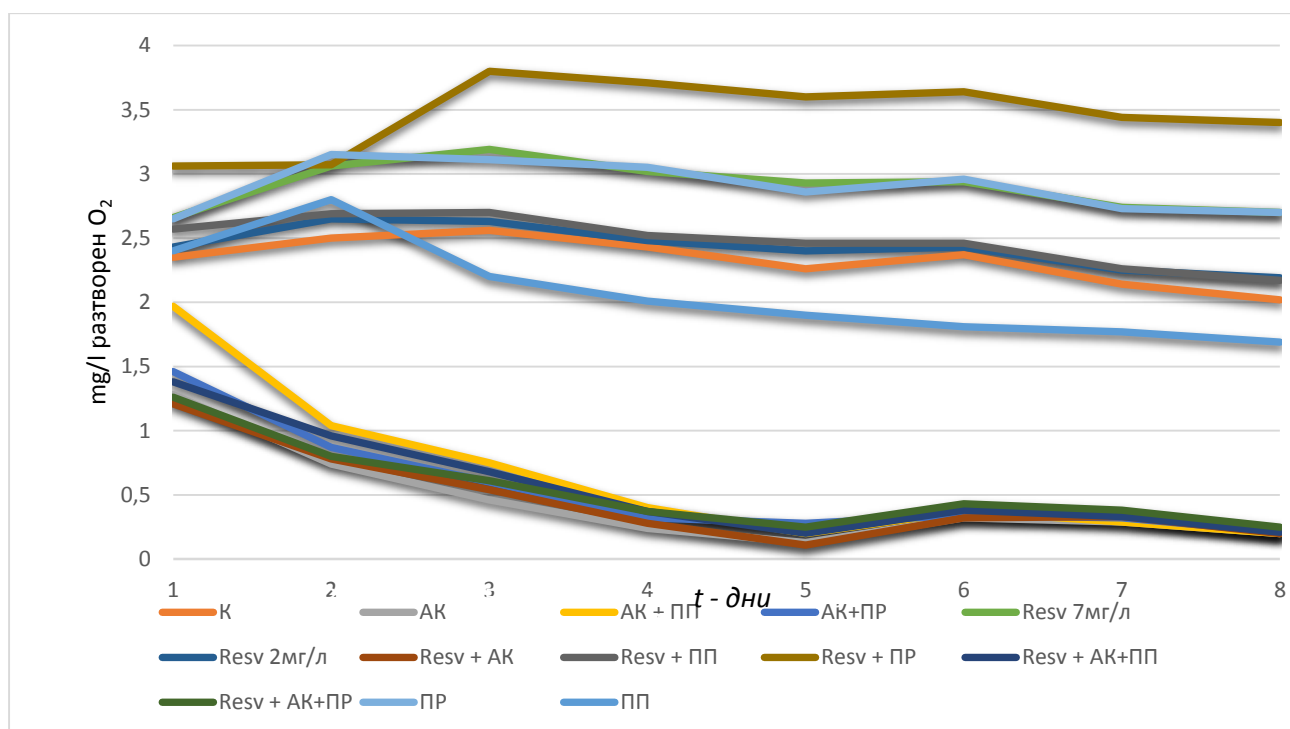
Представените резултати са среднени стойности от поредни реколти за сорта Мавруд като за другите сортове или купажи съотношенията се повтарят. На графика 3.2 се показва влиянието върху консумацията на кислород при добавяне на различни вещества. Контолата т.е. Мавруда консумира за 24 мин. количеството разтворен кислород, при добавяне на аскорбинова киселина (АК) времето нараства с една минута 25 мин. При добавяне на полизахариди с проантоцианидини (ПП) времето на консумация нараства до 28 мин. а при до добавяне на проантоцианидини (ПР) нарастването е до 30 мин. АК, ПП и ПР са чести винарски практики за предпазване на мъстта от окисление, на базата на тези вещества са разработени голям брой енологични добавки. Срещу тези модели мъст са съпоставени модели с добавено количество транс – резвератрол (Resv), като за модела с резвератрол консумацията на кислород се забавя до 35мин. При добавяне на (АК) и резвератрол консумацията е 28 мин. При добавяне на Resv + ПП консумацията на кислород се забавя до 36мин. А при модела Resv +ПР забавянето е най- съществено за 37 мин. От показаните резултати се вижда нагледно антиокислителното действие на резвератрола върху мъстта. Може да се заключи че резвератрол + проантоцианидини образува най – силната противоокислителна комбинация от представените модели, действаща еднакво за мъсти от различни сортове.



Фиг. 3.2. Консумация на разтворен кислород от гроздова мъст с различни антиоксидантни вещества

Консумация на кислород при розови вина с добавени вещества

При експериментите на розови вина при добавяне на молекули от които по голямата част са познати винарски практики се установяват промени при консумацията на разтворения кислород (Фиг. 3.4), който зависи от метода на бутилиране, предварително разтворен във вината, вида тапа, количеството сулфити и т.н. След еднакви условия на бутилиране, разтворен кислород 3 mg/l и свободен SO_2 от 15 mg/l контролата консумира 1 mg/l разтворен кислород за период от 15 дни. (Таблица 3.1) При моделите с добавена аскорбинова киселина (АК) се установява бърза консумация на разтворен O_2 , още на 7 ден. При добавяне на транс - резвератрол (Resv) 2 mg/l се получава по бавна консумация 0,8 mg/l за 15 дни. Значителни антиокислителни свойства се наблюдават при моделите с (Resv) 7 mg/l и (PP), които консумират едва 0,3 mg/l O_2 за 15 дни. Най – силен антиокислителен комплекс се наблюдава при модел (Resv + PP) транс – резвератрол + проантоцианидини. При този модел разтвореният кислород дори се увеличава, признак на проникване на O_2 през тапите. Дори след една година (Таблица 3.1) се подчертава разлика в количеството разтворен кислород.



Фиг. 3.3. Конумация на разтворен кислород от розово вино при добавени вещества

Таблица 3.1 Стойности на разтворен кислород в mg/l

Мавруд			0 ден	1 ден	3 ден	5 ден	7 ден	9 ден	11 ден	13 ден	15 ден	1 година
MAV 01	контрола	К	3	2,35	2,5	2,56	2,43	2,26	2,37	2,14	2,02	0,099
MAV 02	аскорбинова киселина	АК	3	1,28	0,74	0,46	0,24	0,13	0,32	0,29	0,2	0,054
MAV 03	аскорбинова киселина + полизахар.и проант.	АК + ПП	3	1,97	1,04	0,75	0,4	0,2	0,37	0,29	0,2	0,047
MAV 04	аскорбинова киселина + проантосианидини	АК+ПР	3	1,46	0,87	0,6	0,32	0,28	0,34	0,32	0,21	0,09
MAV 05	resveratrol 7mg/l	Resv 7mg/l	3	2,66	3,06	3,19	3,02	2,93	2,94	2,74	2,7	0,32
MAV 06	resveratrol 2mg/l	Resv 2mg/l	3	2,43	2,65	2,63	2,48	2,4	2,43	2,25	2,19	0,16
MAV 07	resveratrol+аскорбинова киселина	Resv + АК	3	1,21	0,78	0,54	0,28	0,11	0,32	0,33	0,2	0,04
MAV 08	Resveratrol+полизах.+проантоц.	Resv + ПП	3	2,57	2,69	2,7	2,52	2,46	2,46	2,26	2,17	0,02
MAV 09	Resveratrol+проантоцианидини.	Resv + ПР	3	3,06	3,07	3,8	3,71	3,6	3,64	3,44	3,4	0,5
MAV 10	resveratrol+a.киселина+ полизах.+проантоц.	Resv + АК+ПП	3	1,38	0,96	0,68	0,37	0,202	0,38	0,33	0,21	0,16
MAV 11	resveratrol + а.киселина+ проантоц.	Resv + АК+ПР	3	1,26	0,8	0,61	0,37	0,25	0,43	0,38	0,25	0,15
MAV 12	проантоцианидини	ПР	3	2,65	3,15	3,11	3,05	2,86	2,96	2,73	2,7	0,38
MAV 13	полизахариди и проантоцианидини	ПП	3	2,4	2,8	2,2	2,01	1,9	1,81	1,77	1,69	0,1

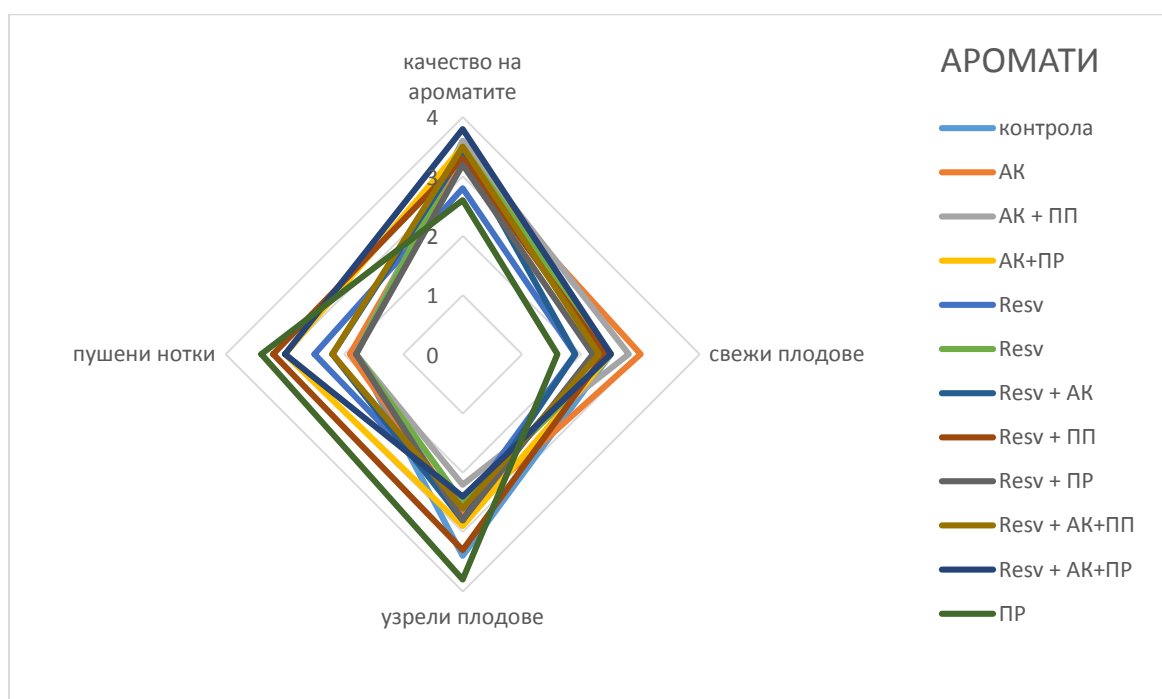
Резултати от дегустация на вината с добавени вещества

Аромат на розовото вино

Представени са най – важните критериите по които се оценяват вината, съобразени с предватирелно окисленото вино. Качеството на ароматите при различните модели не е по – високо от това на контролата. Забелязва се повече свежест при модела с (АК), което е логично имайки предвид киселинният профил и характерният мирис. Таниновият профил на моделите с (ПР) се подчертава с аромати на зрели плодове (3,8) и пушени (емпирични) нотки (3,4), въпреки че в някои случаи е признак на еволюция.

Таблица 3.2 Критерии за обоняние

ароматност	контрола	АК	АК + ПП	АК+ПР	Resv	Resv	Resv + АК	Resv + ПП	Resv + ПР	Resv + АК+ПП	Resv + АК+ПР	ПР
качество на ароматите	3,6	3,3	3,6	3,5	2,8	3,5	3,4	3,3	3,2	3,5	3,8	2,6
свежи плодове	2,5	3	2,8	2,5	1,9	2,5	1,9	2,4	2,2	2,3	2,5	1,6
узрели плодове	3,4	2,7	2,2	2,9	2,6	2,5	2,8	3,3	2,8	2,6	2,4	3,8
пушени нотки	1,8	1,9	1,8	3	2,5	1,8	2,2	3,2	1,8	2,2	3	3,4



Фиг. 3.4. Аромати при розови вина с добавени вещества

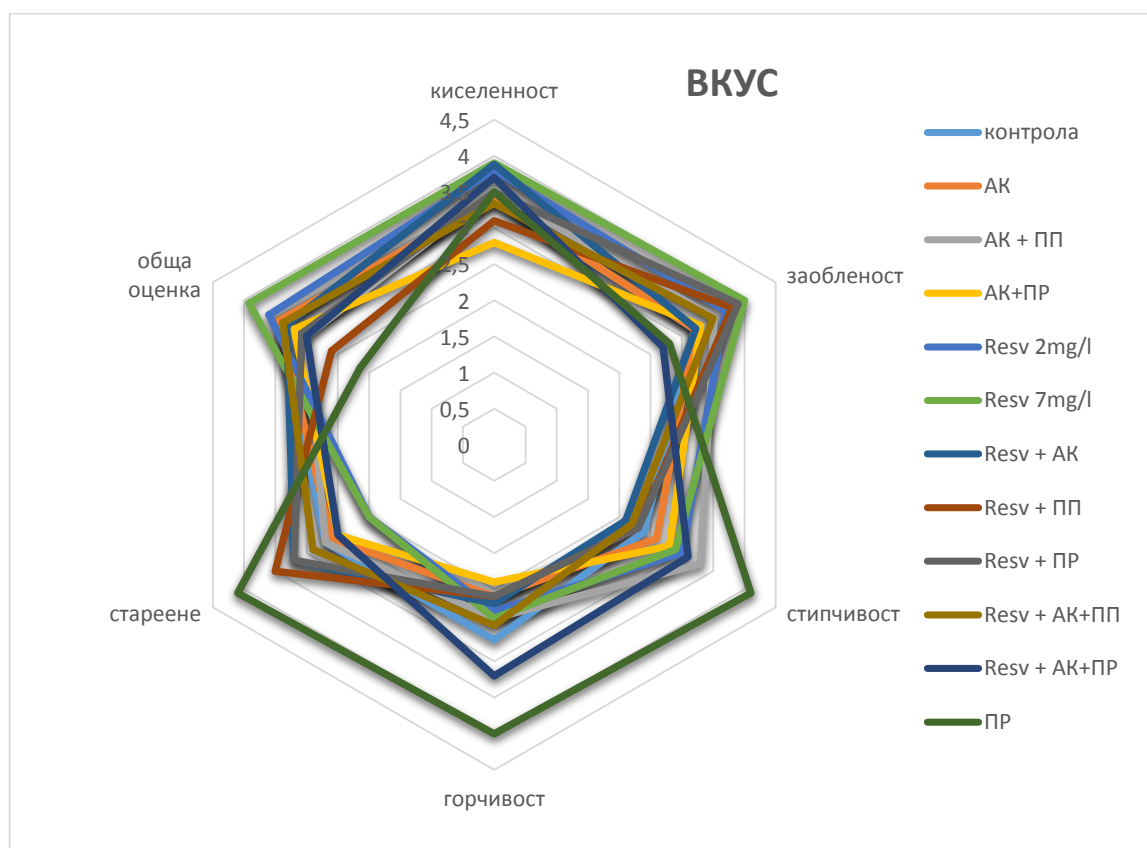
Вкус на розовото вино

Паралелно са представени най – важните критерии, по които се оценяват вината съобразени с предватирелно окисленото вино. Установява се, че при моделите с транс – резвератрол вината са най - заоблени и с най – висока обща оценка . Подчертаващо е и ниската оценка за еволюирало вино, което признак за липси на окислени нотки. Въпреки че

тази добавена молекула няма вкус и мирис допринася за качеството на виното.Обемността, плътния вкус със средна сруктура е характерен за Пино Ноар и Мавруд.

Таблица 3.3 Критерии за вкус

вкус	контрола	АК	АК + ПП	АК+ПР	Resv 2mg/l	Resv 7mg/l	Resv + АК	Resv + ПП	Resv + ПР	Resv + АК+ПП	Resv + АК+ПР	ПР
киселеност	3,4	3,4	3,52	2,8	3,8	3,9	3,88	3,1	3,5	3,34	3,7	3,5
заобленост	3,2	3,2	3,52	3,3	3,7	4	3,22	3,8	3,9	3,5	2,7	2,8
стипчивост	2,4	2,6	3,3	2,8	3	2,9	2,1	2,3	2,3	2,2	3,1	4,1
горчивост	2,7	2,1	2,4	1,9	2,3	2,4	2,2	2,1	2,1	2,5	3,2	4
стареене	2,7	2,6	2,7	2,5	2	2	3,2	3,5	3,2	2,9	2,5	4,1
обща оценка	3,42	3,44	3	3,2	3,6	3,92	3,32	2,6	3,08	3,38	3	2,14



Фиг.3.5 Вкусови показатели за розови вина с добавени вещества

4. Резултати от технологичните опити за запазване на количеството резвератрол

Резултати при розови вина

Резултатите по тази задача включват изследване изменението на концентрацията на транс – резвератрола при различните варианти експериментални вина показани в таблиците и графиките.

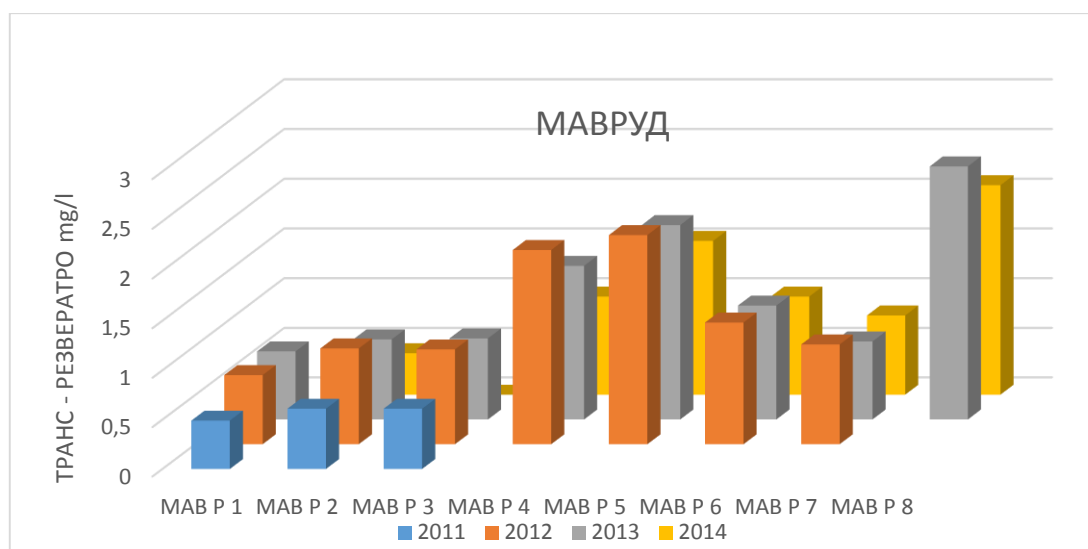
Отбелязват се разлики в стойностите на транс – резвератрол през различните реколти, но тенденциите са еднакви

Таблица 4.1 Концентрации на транс – резвератрола за проби розови вина от сорта Мавруд

реколта	<i>MAB P 1</i> mg/l	<i>MAB P 2</i> mg/l	<i>MAB P 3</i> mg/l	<i>MAB P 4</i> mg/l	<i>MAB P 5</i> mg/l	<i>MAB P 6</i> mg/l	<i>MAB P 7</i> mg/l	<i>MAB P 8</i> mg/l
2011	0,49	0,61	0,61	x	x	x	x	x
2012	0,7	0,97	0,96	1,96	2,11	1,23	1,01	x
2013	0,69	0,81	0,82	1,55	1,96	1,15	0,79	2,55
2014	x	0,42	x	0,99	1,55	0,99	0,8	2,11
технологични разлики	мацерация 2 часа	мацерация 3 часа	мацерация 4 часа	инерционна среда*	инер. среда + г.т.*	дрожди в-гл.*	флотация с N ₂	др.в-гл+ин.ср+г.т.*+фл.с N ₂

*г.т. – гроздов танин; в-гл. – в - глюкозидазна активност ; ин.ср – инерционна среда

Опитно установените резултати за сорта Мавруд от поредни години показват разлики от минимални до значителни в измереното количество транс резвератрол. Времето на престой на мъстта с люспите влияе на количеството резвератрол на крайния продукт като от 2 часа до 3 часа се увеличава, а при 4 часа стойностите е запазват. Забелязват се значителни разлики при еднакъв времепрестой с люспите между P2 и P4 при който се използва инерционна среда при ронкане и по време на мацерация с N₂ под формата на газ и CO₂ под формата на пелети «сух лед». Различават се също и вината ферментирани с различни дрожди: контролите (P2) са с енологични дрожди със слабо изразени ферментационни аромати срещу по високи стойности на вина с дрожди със силно изразена β – глюкозидазна активност (P6) и малко по високи от контролата за модели с флотация чрез N₂ (P7). Въпреки видимите разлики от количеството транс – резвератрол през различните години, равносилно се отбелязват най – високи стойности при моделите с комбинация от инерционна среда, гроздов танин и дрожди с β – глюкозидазна активност (P8). Въпреки измененията в количеството транс–резвератрол между отделните проби не се наблюдават съществени промяни на физико-химичните показатели.

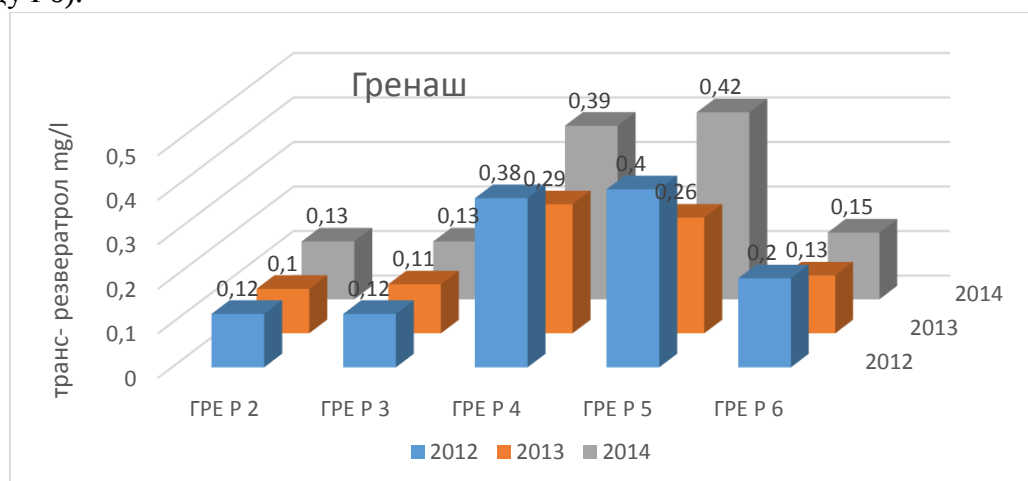


Фиг. 4.1 Количество на транс - резвератрол при розови вина от Мавруд

Таблица 4.2 Концентрации на транс – резвератрола за проби розови вина от сорта Гренаш

реколта	ГРЕ Р 2 mg/l	ГРЕ Р 3 mg/l	ГРЕ Р 4 mg/l	ГРЕ Р 5 mg/l	ГРЕ Р 6 mg/l
2012	0,12	0,12	0,38	0,4	0,2
2013	0,1	0,11	0,22	0,26	0,13
2014	0,13	0,13	0,39	0,42	0,15
технологични разлики	мацерация 3 часа	мацерация 4 часа	инерционна среда*	инер. среда + г.т.*	дрожди β- гл*

Изследвани са стойностите транс – резвератрол на модели от сорта Гренаш като ключов сорт с голям потенциал участващ при производството на розови вина в почти всички региони от Франция. Макар и по ниските получени стойности закономерно при (Р2 и Р3) няма разлика, а при инертиране на етапите ронкане и пресоване (Р4) повишаването е видимо. Отново имаме още по-високи стойности при използване при инерционна среда на гроздов танин (Р5). При Гренаша дрождите също са от значение за количеството транс – резвератрол (Р2 срещу Р6).



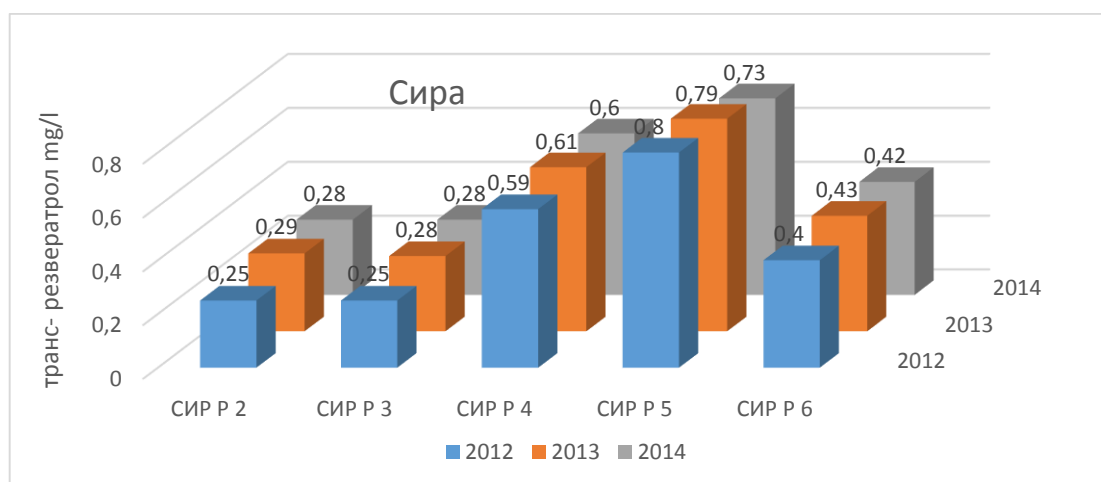
Фиг.4.2 Количество на транс - резвератрол при розови вина от Гренаш

Таблица 4.3 Концентрации на транс – резвератрола за проби розови вина от сорта Сира

реколта	СИР Р 2 mg/l	СИР Р 3 mg/l	СИР Р 4 mg/l	СИР Р 5 mg/l	СИР Р 6 mg/l
2012	0,25	0,25	0,59	0,8	0,4
2013	0,29	0,28	0,61	0,79	0,43
2014	0,28	0,28	0,6	0,73	0,42
технологични разлики	мацерация 3 часа	мацерация 4 часа	инерционна среда*	ин. ср + г.т.*	дрожди в- гл*

Данните получени при изследване на сортът Сира показват паралелни зависимости.

Количеството резвератрол при мацерация от 3 или 4 часа не се променя при готовите вина респективно Р 1 и Р2. Значително увеличение се наблюдава при условия на инерционна среда при ронкане и пресоване (Р4). Изборът на дрожди също влияе върху концентрацията на транс –резвератрол(Р2 срещу Р6). За розовите вина от значение е добавянето на определени молекули преди ферментация имайки предвид слабият фенолен състав на мъстта, модел(Р5) с добавен гроздов танин и инерционна среда показва отново по високи стойности.



Фиг. 4.3 Количество на транс - резвератрол при розови вина от Сира

Резултати при червени вина

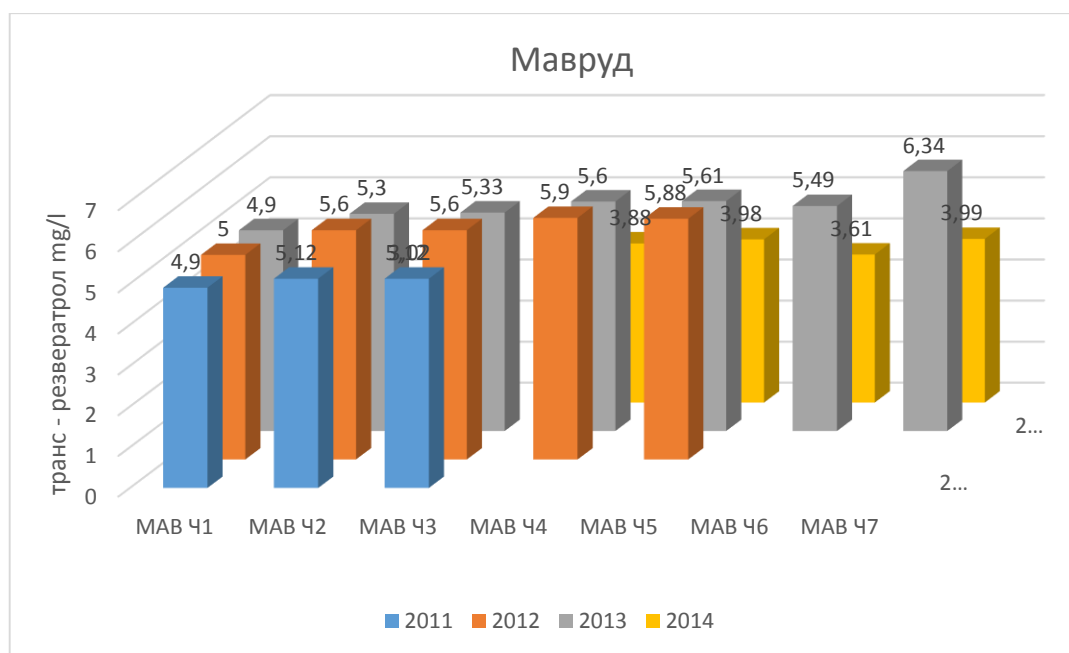
Таблица 4.4 Концентрации на транс – резвератрола за проби червени вина от Мавруд

реколта	МАВ Ч1 mg/l	МАВ Ч2 mg/l	МАВ Ч3 mg/l	МАВ Ч4 mg/l	МАВ Ч5 mg/l	МАВ Ч6 mg/l	МАВ Ч7 mg/l
2011	4,9	5,12	5,12	х	х	х	х
2012	5	5,6	5,6	5,9	5,88	х	х
2013	4,9	5,3	5,33	5,6	5,61	5,49	6,34
2014	х	3,02	х	3,88	3,98	3,61	3,99
технологични разлики	мацера ция24ч	мацера ция 48ч	престой с люспи 40дни	инер. ционна среда*	инер. среда + пр*	дрожди в- гл*	дрожди в- гл+ инер.среда

Концентрациите на транс – резвератрол при червените вина от Мавруд е в пъти по висока което зависи главно от престоя на мъстта и готовото вино с твърдите части (люспите).

Отново се наблюдават разлики между резултатите в различните години, но тенденциите са паралелни. Времето на мацерация променя количеството на транс – резвератрол в готовото вино, при 48 часа време престой резултатът се повишава (Ч1 и Ч2), в реванш при различен престой на виното след алкохолна ферментация не се наблюдават разлики (Ч1 и Ч3).

Видими разлики се подчертават при инертиране на процесите ронкане и мацерация (Ч2 и Ч4). Дрождите също оказват влияние (Ч2 и Ч5), но при комбинация от инерционна среда, подходящи дрожди и по дълга мацерация количеството на резвератрол се увеличава значително подобно на моделите при розови вина. Установява се че използваните техники влияят еднакво както при розови така и при червени вина.



Фиг. 4.4 Количество на транс-резвератрол при червени вина от Мавруд

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ОБОБЩЕНИ ИЗВОДИ

Получените резултати от проведените изследвания за влиянието на транс-резвератрол във висококачествени розови и червени вина, произведени по методите на биологичното земеделие позволяват да се направят следните изводи:

1. Транс-резвератролът влияе върху консумацията на кислород при мъст за розови вина, както и при самите розови вина като удължава времето за окисление.
2. Прилагането на определени технологични практики през етапи на винопроизводство за розови и червени вина повишават концентрацията на транс - резвератрол и съвпадат с винарските практики против автоензимно окисление на вината. Процесите като флотация с азот и създаване на инертна среда от газове N_2 и CO_2 увеличават количеството на резвератрол. Обработката на вината с бентонит, студ, филтриране и бутилиране незначително намалява количеството на транс-резвератрола
3. При експерименталните розови вина транс-резвератролът се движи от 0.27 до 3 mg/l. Причина за по-ниските количества е по-краткия престой на джибрите с мъстта по време на настройването и ферментацията по белия способ възприета при технологията на розовите вина.
4. Вината от сорта Пино Ноар и Мавруд съдържат най-високи количества транс-резвератрол в сравнение с вината от другите сортове. Това може да се отбележи като сортова особеност. Качеството на реколтата също влияе върху концентрацията на резвератрола.
5. При българските висококачествени розови червени вина от Мавруд където съдържанието на транс-резвератрол е по-високо в сравнение с повечето сортове, гарантира по-висока антиоксидантна способност, по големият потенциал за стареене, добра дегустационна оценка
6. Антиоксидантната способност на транс-резвератрола оказва пряко влияние върху качеството на виното, независимо от сорта .

ПРИНОСИ НА АВТОРА

А. Научни приноси

1. За първи път в България е изследвано количеството на транс-резвератрола в бели, розови и червени вина от различни региони и сортове.
2. За първи път е установено, че най-високо количество на транс-резвератрол се съдържа във розовите вина от сорта Мавруд, което е и сортова особеност.
3. За пръв път е установено, че технологичните етапите от производство на розови и червени вина от сорта Мавруд влияят върху количеството на транс резвератрола.
4. За пръв път е установено, че методите при винарските практики за предпазване на гроздовата мъст и вино от окисление спомагат за запазване и на по високи стойности на транс- резвератрол.
5. Установено е значението на транс - резвератрола върху качествата на вината.

Б. Научно-приложни приноси

1. Разработен е бърз метод за установяването на консумацията на кислород при вината и гроздовата мъст.
2. Разработен е метод за установяването на влиянието на транс–резвератрол върху окислителните процеси и дегустационната оценка на вината
3. Разработени са експериментални модели за сорта Мавруд при които ясно се отличават етапите и методите за запазване на количеството транс–резвератрол.
4. Разработените модели могат да се използват за други сортове.
5. В резултат на изследването е установено, че по отношение на съдържание на транс-резвератрол розовите вина заемат междинно място, което се обуславя от прилаганата технология.
6. В резултат на изследванията е установено, че процесите на флотация с N_2 и инертна среда от N_2 и CO_2 увеличават количеството на транс - резвератролс основни фактори за слабо намаление количеството на транс-резвератрола е обработката на вината с бентонит, студ и филтриране при бутилирането им.
7. Разработен е метод за директно определяне на транс-резвератрол във вината, чрез високо ефективна течна хроматография HPLC.
8. Изследвани са температурните разлики за всяко денонощие по време за зреене на гроздето в районите на Свищов, Сухиндол, Асеновград, Панагюрище и Сандански и са определени кривите на температурните разлики, чрез които е обяснено по-високото съдържание на транс-резвератрола в гроздето и вината от сортовете Пино Ноар, Мавруд, Мерло и Мелник.

9. Установено е, че българските червени вина от сортовете Пино Ноар и Мавруд превъзхождат по запасеност на транс-резвератрол френските от регионите на Бордо и Лангодок, австралийските, гръцките, испанските и турските червени вина.

НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ КЪМ ДИСЕРТАЦИОННАТА РАБОТА

1. ФЪРЦОВ, К., ТОЧЕВ, Д., АТАНАСОВ, А., ВИДЕНОВА, Р., СИМОВ, Н., МИХАЙЛОВА, Г., КОЗАРЕВА, Д. 2012. ФАКТОРИ ОПРЕДЕЛЯЩИ СЪДЪРЖАНИЕТО НА ТРАНС-РЕЗВЕРАТРОЛ ВЪВ ВИНАТА. ЛОЗАРСТВО И ВИНАРСТВО BG, № 2; 25-30
2. ТОЧЕВ, Д. ФЕНОЛЕН СЪСТАВ И ФИЗИКОХИМИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ НА РОЗОВИ ВИНА ОТ МАВРУД ПРИ ЕКОЗЕМЕДЕЛИЕ, XIII – НПК ФХТС СОФИЯ, ISSN 1314-8931; 27 - 36
3. TOCHEV D., PENTCHEV I., KARCHEVA M, ESCUDIER J.L.,BOISSEAU D., STABILISATION TATRTIC DU VIN PAR METHODE DE ELECTRODIALYSES , VOL LVIII - SW - UHT PLOVDIV 2012;15 -20
4. FARTZOV, K., ALYAKOV, M., ONISIFORU, D., PARGOV, M., VIDENOVA, R., TOCHEV, D. 2013. THE TRANS-RESVERATROL CONTENT IN RED WINE AND ITS PHYSIOLOGICAL EFFECTS. (AT PRINT) – LIMASOL – 4156 IRA PAPAGEORGIOU, N8. PANDELIDI STR., K. POLEMIDIA, CYPROS, Pages - 154
5. FARTZOV, K., TOCHEV, D., ATANASSOV, A., VIDENOVA, R., SIMOV, S., MIHAILOVA G. D. KOZAREVA . 2014. FACTORS THAT DETERMINE THE TRANS-RESVERATROL CONTENT IN WINES. JOURNAL OF WINE RESEARCH.(Под печат 2016)
6. RUSEVA A., GEORGIEVA L., TOCHEV D., KOSTURKOV I., BONEVA ZH., YORDANOVA ST., NIKOLOVSKA D. COLORECTAL CANCER RISK AND THE INFLUENCE OF RECREATIONAL PHYSICAL ACTIVITY ALBANIAN MEDICAL JOURNAL 4 – 2015;7-15