

# АНТИОКСИДАНТНИ СВОЙСТВА НА БЪЛГАРСКИ БЕЛИ И ЧЕРВЕНИ ВИНА

Теодора Вълкова, Биляна Колева, Николай Стоянов, Стефчо Кемилев, Мария Дилчева

## Резюме

Изследвани са 10 марки български бели и червени вина. Определено е съдържанието на общи фенолни съединения във вината. Изследвани са антиоксидантните им свойства по два различни метода - антирадикалова активност спрямо свободен радикал DPPH<sup>•</sup> и редуционна способност. Установена е висока степен на корелация между съдържанието на общи феноли и антиоксидантните свойства на проучваните вина.

## Увод

Напоследък в хранителната промишленост и превантивната медицина има значителен интерес към "натуралните антиоксиданти" от растителен произход. Растителните тъкани са главните биологични системи, синтезиращи  $\alpha$ -токоферол, аскорбинова киселина, каротеноиди, както и голямо разнообразие от фенолни съединения[9]. Фенолните съединения са между най-широко разпространените вторични растителни продукти и са открити в много растения, използвани като храни и хранителни подправки[7]. Изследванията, доказващи свойствата на флавоноидите да действат като "уловители" на свободни радикали, както и свойството им да свързват в комплекси металите, катализиращи окислителните процеси, позволяват те да бъдат наречени естествени растителни антиоксиданти[13, 14]. Последните проучвания показват, че много полифеноли от растителен произход са по-ефективни *in vitro* антиоксиданти, отколкото витамините Е и С и могат да имат значителен принос към предпазване от нежеланото *in vivo* окисление на липиди и протеини[13].

Ценен източник на антиоксиданти е гроздето и продуктите, получени от него – сокове, екстракти и вина. Червеното вино е значителен естествен източник на полифеноли и допринася за приемането на повече от 1 г на ден при умерена консумация[8], поради което то често е обект на изследвания.

Сред голямото разнообразие от фенолни съединения е доказано, че +/--катехин, +/--епикатехин, транс-ресвератрол и кверцетин, изолирани от червено вино, са по-ефективни отколкото  $\alpha$ -токоферол по отношение на *in vitro* инхибиране на окислението на липопротеините с ниска плътност (LDL) в човешката кръв[4]. Установено е, че екстрактът от грозде инхибира окислението на LDL с 22-60%, а гроздовият сок – с 68-75%[5]. Високата антиоксидантна активност на вината, особено на червените, е доказана от много автори[10, 11, 15]. Установено е, че тя се дължи основно на съдържащите се в тях катехини, антоциани, галова киселина и ресвератрол[3, 6].

## Материали и методи

Определена е антиоксидантната активност на четири бели и шест червени български марки вина.

Съдържанието на общи фенолни съединения в екстрактите е определено чрез използването на реактив Folin – Ciocalteu по колориметричен метод [1].

Съдържанието на екстрактни вещества е определено по пряк тегловен метод[1].

В проведената експериментална работа антиоксидантната активност се определя като антирадикалова активност върху стабилна форма на синтетичен продукт DPPH<sup>•</sup> (2,2-дифенил-1-пикрилхидразил; Fluka, Швейцария)[15]. Прясно приготвен етанолен разтвор на DPPH<sup>•</sup> се смесва в различни тегловни съотношения с изследваните проби, изчислени на основа процентното съдържание на сухо вещество в съответното вино. Абсорбцията се измерва при 515nm на спектрофотометър "ANTHELIE". Антирадикаловата активност на изпитваните проби се изразява в % инхибиране на свободния радикал и се изчислява по формулата:

Инхибиране, % =  $[(A_B - A_A)/A_B] \cdot 100$ , където

$A_B$  – средна стойност от абсорбциите на контролната проба;

$A_A$  - средна стойност от абсорбциите на работната проба.

Редукционната способност на водните екстракти е определена по метода на Oyaizu[12]. Към подходящо разреден разтвор на вино (по сухо вещество) се прибавят натриево-фосфатен буфер (pH 6,6) и  $K_3[Fe(CN)_6]$ . Пробата се инкубира при 50°C за 20 минути. Следва прибавяне на трихлороцетна киселина и центрофугиране ( $3000^{-1}$ , 10 минути). Супернатантата се смесва с дест. вода и  $FeCl_3$ . Абсорбцията на така разработената проба се измерва при 700nm на спектрофотометър "ANTHELIE".

Статистическата обработка на данните (определяне на стандартното отклонение) е направена с програмен продукт Sigma Plot 8.0. За установяване на зависимостта между общите фенолни съединения и антиоксидантната активност е използван корелационният анализ, при предварително направена проверка за нормално разпределение на случайните величини, моделиращи величините съдържание на ОФС, антирадикалова активност и редукционна способност.

## **Резултати и обсъждане**

### *1.1 Съдържание на общи фенолни съединения във вина*

Фенолните съединения във вината допринасят съществено за сензорните им характеристики - цвят, аромат, вкус, адстрингентност на виното. В резултат на взаимодействието им с протеини, полизахариди или други фенолни съединения те играят важна роля при стареене и физикохимичната стабилност на вината[4]. Фенолните съединения са от значение и за хранителната хигиена, което се обуславя от техния антимикуробен ефект. Наред с това те са определящи и по отношение антиоксидантните свойства на вината.

Определено е съдържанието на общи фенолни съединения в бели (Мускат - Сливен, Шардоне - Шумен, Ризлинг - Търговище и Димят - Славянци) и червени вина (Каберне Совиньон – Бургас, Каберне Совиньон – Елхово, Каберне Совиньон – Септември, Мерло – Любимец и Мавруд - Перушица). Вината са от реколти 2000, 2001 и 2002 година. Данните за съдържанието на сухи вещества и общи фенолни съединения са представени на таблица 1.

Табл. 1

## Обща характеристика на изследваните вина

вина	сухо вещество, g/dm <sup>3</sup>	общи фенолни съединения, g/dm <sup>3</sup>
Мускат, Сливен, 2002	15,52	0,309
Шардоне, Шумен, 2002	21,52	0,378
Ризлинг, Търговище, 2002	24,16	0,481
Димят, Славянци, 2002	15,44	0,348
Каб. Совиньон, Бургас, 2002	25,68	3,287
Каб. Совиньон, Елхово, 2002	23,92	2,487
Мерло, Любимец, 2001	24,84	3,520
Мавруд, Перушица, 2000	26,80	4,176
Мерло, Любимец, 2002	24,88	3,421
Каб. Совиньон, Септември, 2002	25,40	3,053

Червените вина се отличават с висока концентрация на фенолни съединения – от 2,487 до 4,176 g/dm<sup>3</sup>, докато при белите вина тя варира от 0,309 до 0,481 g/dm<sup>3</sup>. Разликата в общото фенолно съдържание на вината е повлияна от редица първични фактори като типа вино, време за мацерация, съдържание на етанол, вид на дрождите, температура на ферментация, сортова специфика на гроздето [6, 10].

#### 1.2 Определяне на антиоксидантна активност

Високото процентно съдържание на фенолни съединения в червените вина предполага висока антиоксидантна активност. Ето защо е определено и доказано антиоксидантното им действие чрез DPPH теста и метода на Oyaizu [12] за определяне на редуционната способност на изследваните проби.

##### 1.2.1 Определяне на антирадикалова активност спрямо DPPH

В литературата се срещат данни [3, 6, 10], че вината (особено червените) показват силен инхибиращ ефект спрямо DPPH. Ето защо беше определена радикал-улавящата способност на изследваните вина. Резултатите от проведените анализи за определяне на антирадикаловата активност на 0,05%-ен разтвор (по св) на вино (съотношение сухи вещества : DPPH = 2,5:1) са представени на фигура 1.

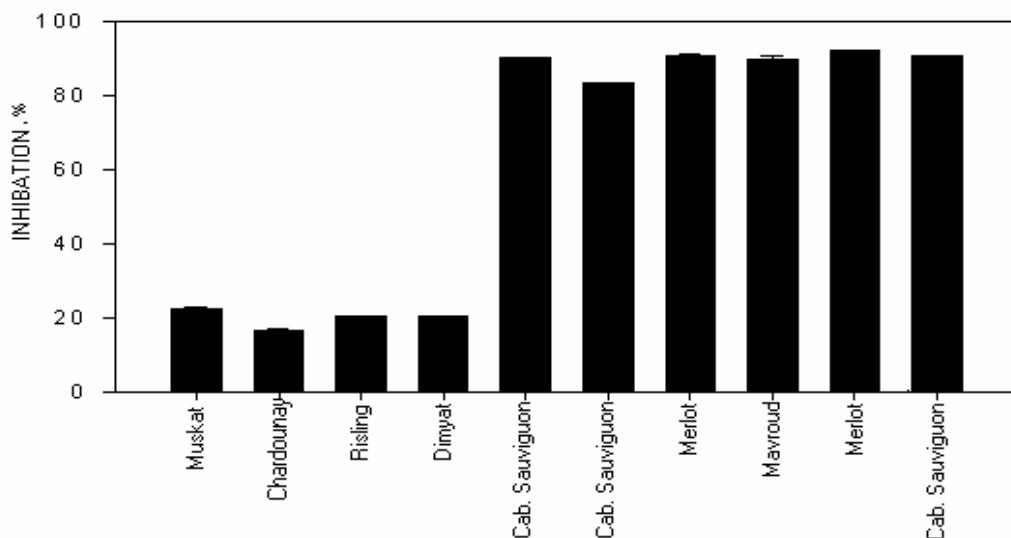


Fig. 1 Activité antiradicalaire du vin dans une solution de 5% (selon les substances seches) mesurée le 30-eme min

Значително по-висока антирадикалова активност, варираща в границите 83,12 - 92,13% показват червените вина, срещу 16,60 - 22,53% за белите вина. Аналогични данни за антирадикалова активност (определена по DPPH-метода) на италиански и корейски червени и бели вина са представени съответно от Ghizelli et al.[6] и Lee&Koh[10]. По-високата антиоксидантна активност на червените вина вероятно се дължи на значително по-високото съдържание на фенолни съединения в тях, както и на различната степен на полимеризация на процианидините при белите и червените вина и различното процентно участие на отделните катехини като вътрешни и крайни единици в молекулата на полимерните фенолни съединения.

В литературата се срещат данни, че антиоксидантите от растителен произход могат да показват антиоксидантна активност при определена концентрация и прооксидантна в по-ниски концентрации. Ето защо интерес представляваше да се проследи действието на вината, показали висока радикал-улавяща активност (червени вина) и при по-ниски концентрации – 0,02 и 0,01% (съответно съотношение сухи вещества : DPPH= 1: 1 и 0,5 : 1). Резултатите са представени на фигури 2 и 3.

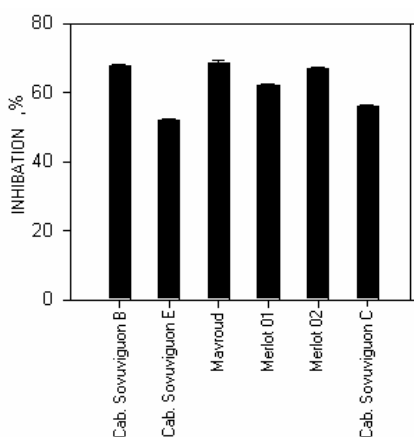


Fig. 2 Activité antiradicale du vin dans une solution de 0,02% mesurée la 30-eme min

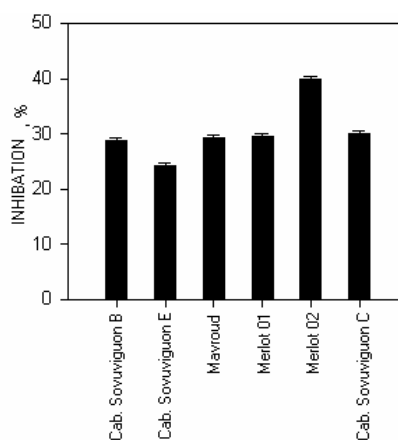


Fig.3 Activité antiradicale du vin dans une solution de 0,01% mesurée la 30-eme min

Антиоксидантната активност на изследваните вина варира в граници 51,90 – 68,51%. Най-висок радикал-улавящ ефект показва червено вино Мерло, Любимец, реколта 2001 и 2002г., както и Каберне Совиньон, Бургас, 2001г. Най-нисък инхибиращ показва Каберне Совиньон, Елхово, 2002г.

От фигура 3 се отчита запазване на тенденцията за близки антиоксидантни свойства на червените вина, изменящи се от 24,38% за Каберне Совиньон, Елхово, 2002г. до 39,96% за Мерло, Любимец, 2002г.

В настоящата работа интерес представляваше да се съпостави антиоксидантната активност на червени и бели вина при относително еднаква концентрация на фенолни съединения. Ето защо е определена антирадикаловата активност на 1%-ен разтвор (по св) на бяло вино (тегловно съотношение сухи вещества : DPPH = 51 : 1) и на 0,1%-ен разтвор (по св) на червени вина (тегловно съотношение сухи вещества : DPPH = 5 : 1). От резултатите, представени на фигура 4 се забелязва, че въпреки десет пъти по-ниската си концентрация, червените вина показват по-висока антирадикалова активност, варираща в граници 92,18 – 96,60%, срещу 79,48 – 83,73% за белите вина. По-високият антиоксидантен ефект на червените вина при относително близко фенолно съдържание на белите и червени вина, вероятно се дължи на синергичното действие на антоцианите, придаващи червеният цвят на виното[5]. Екстракцията на полимерни фенолни съединения с по-висока степен на галоилиране от семките на гроздето при производството на червени вина е друга вероятна причина за по-високата антиоксидантна активност на тази група вина.

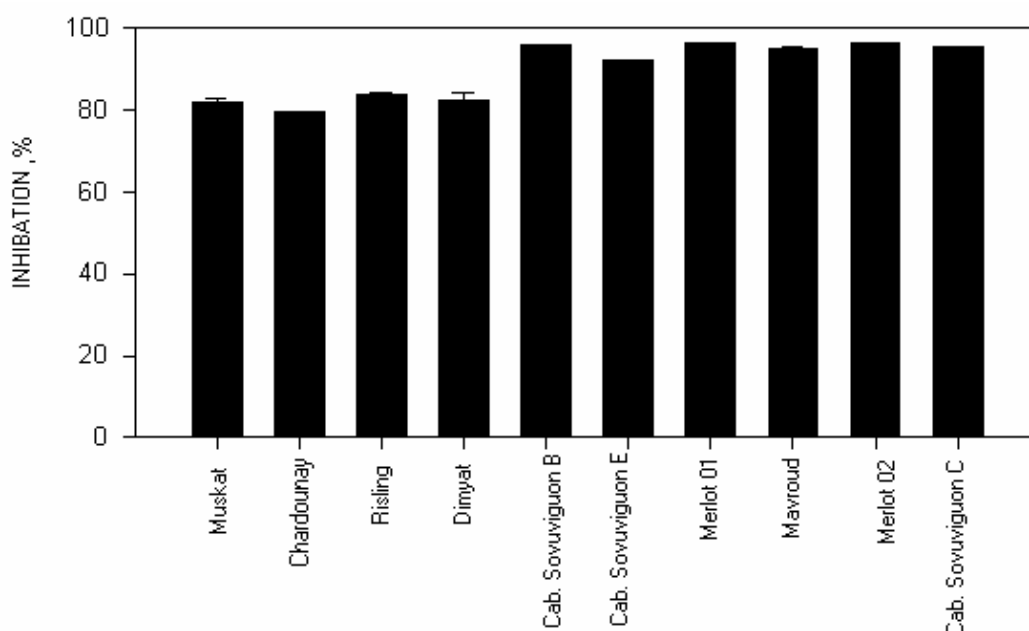


Fig. 4 Activeté antiradicale de solution à 1% de vin blanc ( selon s.s.) et de solution à 0,1% de vin rouge ( selon s.s.) mesurée la 30-eme min

### 2.2.1 Редукционна способност на вина

Според някои автори[3] антиоксидантния ефект е следствие от редукционната способност. Ето защо е определена редукционната сила на вината (фиг. 5).

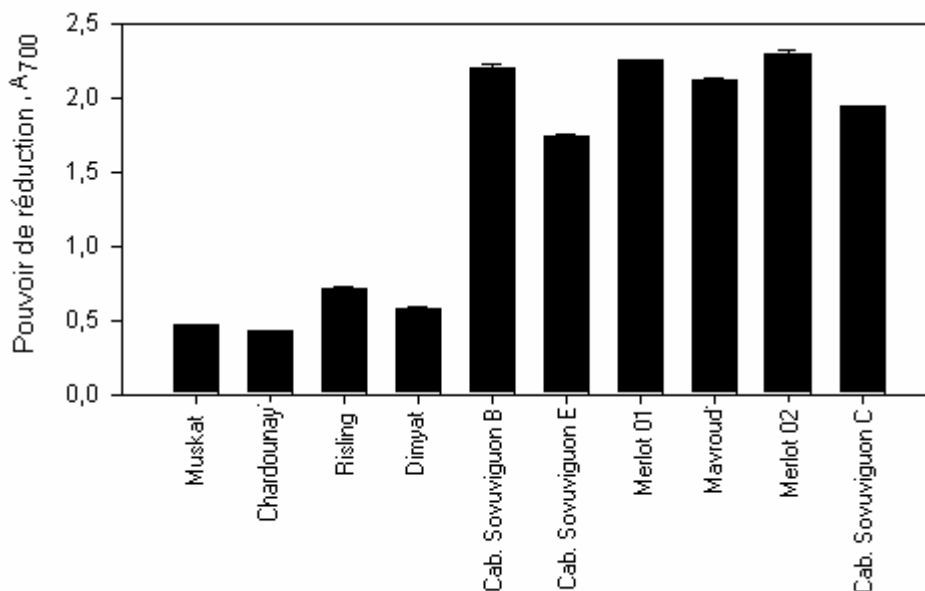
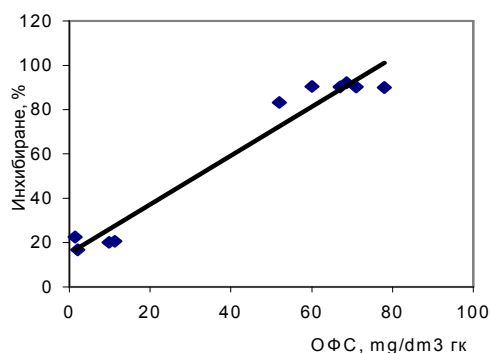


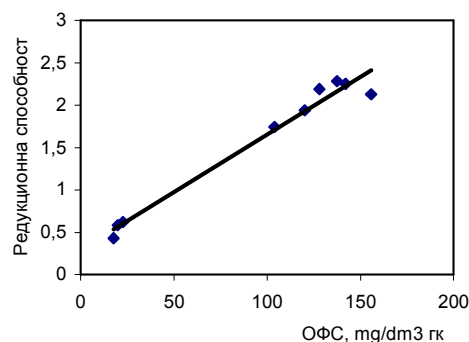
Fig. 5 Pouvoir de réduction de solution du vin à 0,1% ( selon s.s.)

С най-висока редуционна способност се отличават червените вина, като тя намалява в същия ред, както общите фенолни съединения: Мерло 02, Мерло 01, Каберне Совиньон-Бургас, Мавруд, Каберне Совиньон-Септември, Каберне Совиньон-Елхово. Данните за редуционната сила на вина се потвърждават от изследвания на Lee&Koh[10]. Редуционната способност на белите вина е значително по-ниска.

Проведените изследвания върху антиоксидантните свойства на вина потвърждават наличието на корелационна връзка между съдържанието на общи феноли и антирадикаловата активност и съдържанието на общи фенолни съединения и редуционната способност (съотв. фиг.6 и фиг.7). Доказателство за това са и високите стойности на корелационните коефициенти -  $r=0,98$  в първия случай и  $r=0,99$  във втория. С най-високо фенолно съдържание се характеризират червените вина. Логично на това те проявяват и най-висока антирадикалова активност. Дори при ниски концентрации (0,02%) те ефективно улавят свободния радикал, като действието им е съизмеримо, а при по-ниска концентрация (0,01%) и по-високо от това на вещества широко използвани като антиоксидантни добавки - ВНТ, Grindox 109 и Grindox 1021[2]. Червените вина също така се отличават и с висока редуционна способност. Въз основа на тези свойства вината могат да се оценят като ценен природен източник на антиоксиданти.



Фиг.6 Корелационна зависимост между ОФС и АРА на 0,05%-ен разтвор на вино



Фиг.7 Корелационна зависимост между ОФС и редуционна способност на 0,1%-ен разтвор на вино

*Изследователската работа по темата е осъществена с финансовата помощ на проект СС – МУ 1206 “Млади учени” на тема “Проучване върху свойствата на природни антиоксиданти и тяхното приложение за повишаване качеството на хранителните и козметичните продукти”, финансиран от МОН.*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов Т., Ст. Геров, Ат. Янков, Г. Бамбалов, Т. Тончев, Др. Начков, М. Маринов, Практикум по Винарска Технология, Хр. Г. Данов, 1979, Пловдив
2. Вълкова Т., Д. Балев, С. Бахчеванска, С. Драгоев, Н. Йончева, Антиоксидантна активност на добавки за хранителната промишленост, Хранително-вкусова промишленост, 2003, 6, 11-12

3. Burns et al., Relationship among antioxidant activity and phenolic content of red wines, J Agric Food Chem, in press
4. Frankel Edwin N., Andrew L. Waterhouse and Pirre L. Teissedre, Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low-density lipoproteins, J Agric Food Chem, 1995,43,890-894
5. Frankel et al., Grape juices inhibit the *in vitro* oxidation of human low density lipoproteins, J Agric Food Chem, 1998, 46, 834-838
6. Ghiselli et al., Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from Italian red wine, J Agric Food Chem, 1998, 46, 361-367
7. Hagerman E. Ann, Ken M. Riedl, G. Alexander Jones, Kara N. Sovik, Nicole T. Ritchard, Paul W. Hartzfeld and Thomas L. Riechel. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants, J Agric Food Chem, 1998, 46, 1887-1892
8. Ivanov Vadim, Anitra C. Carrand Balz Frei, Red wine antioxidants bind to human lipoproteins and protect them from metal ion-dependant and – independent oxidation, J Agric Food Chem, 2001, 49,4442-4449
9. Kanner Joseph, Edwin Frankel, Rina Granit, Bruce German and John E. Kinsella, Natural antioxidants in grapes and wines, J Agric Food Chem,1994,42,64-69
10. Lee H. J. and Koh K. H., Antioxidant and free radical scavenging activities of korean wine, Food Sci Biotechnol, 2001, 10, 5, 566-571
11. Meyer et al., Inhibition of human LDL oxidation in relation to phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*), J Agric Food Chem, 1990, 1638-1643
12. Oyaizu M., Studies of products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine, Jpn J Nutr, 44, 307-315
13. Rice-Evans Catherine A., Nicholas J. Miller, George Paganga, Antioxidants properties of phenolic compounds, Trends in Plant Science,1997, 2, 152-159
14. Sato et al., Flavones with antibacterial activities against cariogenic bacteria, J Ethnopharmacol, 1996, 54, 2-3, 171-176
15. Wang H., G. Cao, R. Prior, Total antioxidant capacity of fruits, J Agric Food Chem, 1996, 44, 701-705

Адрес за кореспонденция:

Николай Стоянов Стоянов, гл. ас. д-р  
УХТ – Пловдив, Катедра Технология на виното и пивото  
Бул. Марица 26  
E-mail: [nstoyanov@biavin.com](mailto:nstoyanov@biavin.com)

Теодора Вълкова – УХТ – Пловдив  
Биляна Колева – УХТ – Пловдив  
Стефчо Кемилев – доц. д-р, УХТ – Пловдив  
Мария Дилчева – ст. ас., УХТ - Пловдив