Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (3), 69-79 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Антибактериална активност на български вина срещу подбрани патогени и опортюнистични патогени

Мирослава Качаниова[1,2]*, Маргарита Терентиева[3], Ева Иванишова[1], Атила Кантор[1], Рафал Кордиака[2], Татяна Йончева[4]

[1]Факултет по биотехнологии и хранителни науки, Словашки аграрен университет, Нитра, Словакия
[2]Факултет по биология и земеделие, Университет на Жешов, Жешов, Полша
[3]Факултет по ветеринарна медицина, Латвийски аграрен университет, Йелгава, Латвия
[4]Институт по лозарство и винарство, Плевен, България
**E-mail: miroslava.kacaniova@gmail.com*

Antibacterial activity of Bulgarian wines against selected pathogens and opportunistic pathogens

Miroslava Kačániová[1,2]*, Margarita Terentjeva[3], Eva Ivanišová[1], Attila Kántor[1], Rafal Kordiaka[2], Tatyana Yoncheva[4]

[1]Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovakia
[2]Faculty of Biology and Agriculture, University of Rzeszow, Rzeszow, Poland
[3]Faculty of Veterinary Medicine, Latvia University of Agriculture, Jelgava, Latvia
[4]Institute of Viticulture and Enology, Pleven, Bulgaria

РЕЗЮМЕ

Целта на настоящето проучване е да се направи оценка на антимикробния ефект на бели и червени вина от България, произведени от грозде от сортове *Vitis vinifera* L. За изследването са подбрани общо осем различни български вина. Чрез прилагане на дисково-дифузионния метод е определена тяхната антибактериалната активност срещу Грам-положителните бактерии: *Bacillus cereus* CCM 2010, *Clostridium perfringens* CCM 4435, *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Staphylococcus aureus* subs. *aureus* CCM 4223, *Streptococcus pneumoniae* CCM 4501 и Грам-отрицателните бактерии: *Escherichia coli* CCM 3988, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1959,

SUMMARY

The aim of this study was to assess antimicrobial effect of selected white and red wines from Bulgaria made from *Vitis vinifera* L. grapes. Altogether, eight different white and red wines produced in Bulgaria were selected for the study. The antibacterial activity of wine against Gram-positive bacteria: *Bacillus cereus* CCM 2010, *Clostridium perfringens* CCM 4435, *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Staphylococcus aureus* subs. *aureus* CCM 4223, *Streptococcus pneumoniae* CCM 4501 and Gram-negative bacteria: *Escherichia coli* CCM 3988, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1959, *Salmonella enterica* subs. *enterica* CCM 3807, *Serratia rubidaea* CCM 4684, *Salmonella enterica* subs. *enterica* CCM 3807, *Serratia rubidaea* CCM 4684, *Yersinia enterocolitica* CCM 5671. Получени са добри резултати за антибактериалната активност на вината срещу Грам-положителните бактерии. Най-добра антимикробна активност е установена спрямо *Yersinia enterocolitica* от Грам-отрицателните бактерии. Антибактериалната активност на проучваните вина разкрива техния потенциал да инхибират растежа на някои бактериални щамове, включително патогени и опортюнистични патогени.

Ключови думи: Грам-положителни бактерии, Грам-отрицателни бактерии, българско вино, дисково-дифузионен метод, *Yersinia enterocolitica*

Yersinia enterocolitica CCM 5671 bacteria stains were studied using the disc diffusion method. Good results on antibacterial activity of wine were found against Gram-positive bacteria. The best antimicrobial activity was identified against *Yersinia enterocolitica* from Gram-negative bacteria. The antibacterial activity of selected wines indicates that the wines possess the potential to inhibit the growth of certain bacterial strains, including pathogens and opportunistic pathogens.

Key words: Gram-positive, Gram-negative bacteria, Bulgarian wine, disc diffusion method, *Yersinia enterocolitica*

УВОД

Умерената консумация на вино има благоприятен ефект върху човешкото здраве, като антиоксидантният ефект е сред най-важните (Daglia et al., 2007). Антиоксидантното действие зависи от съдържанието на феноли, което се повлиява от различните агротехниките на отглеждане, приложените енологичните практики и процесът на стареене на виното (Yilmaz and Toledo, 2004). Освен фенолите, общата полифенолна концентрация, от значение е и съдържанието на отделните феноли (Satué-Garcia et al., 1999; Sun et al., 2009).

Известно е, че вината имат не само антиоксидантно, но и антимикробно действие. Точният механизъм на антимикробния ефект все още не е напълно изяснен, но виното съдържа няколко съединения, за които се знае, че имат такава способност. Органичните киселини, особено ябълчената и винената киселина, имат антимикробно въздействие, особено при ниското pH на виното (Hsiao and Siebert, 1999; Ricke, 2003).

Антибактериалните свойства на виното срещу хранителни патогени са проучени в редица изследвания

INTRODUCTION

Moderate wine consumption has beneficial effects on human health with the antioxidant activity to be among the most important (Daglia et al., 2007). The antioxidant activity depends on the content of phenols, which are affected by growth cultivation techniques, oenological techniques and ageing process of wine (Yilmaz and Toledo, 2004).

Besides the phenols, the total polyphenol concentration and the content of individual phenols are important (Satué-Garcia et al., 1999; Sun et al., 2009).

Wines are known to exhibit not only antioxidant but the antioxidant activity as well. The exact mechanism of the antimicrobial effect of wine is still not fully understood, but wine contains several compounds known to have antimicrobial activity. Organic acids of wine, especially malic and tartaric acid, possess the antimicrobial effect, especially at the low pH found in wine (Hsiao and Siebert, 1999; Ricke, 2003).

The antibacterial properties of wine against the food-borne pathogens were demonstrated in several studies (Weisse

(Weisse et al., 1995; Sugita-Konishi et al., 2001; Correia et al., 2003; Moretro and Daeschel, 2004; Fernandes et al., 2007; Waite and Daeschel, 2007; Carneiro et al., 2008). Weisse et al. (1995) твърдят, че белите и червени вина намаляват концентрацията на агентите, предизвикващи стомашно неразположение, с 5-6 логаритмични цикли за 20 минути. По подобие, Sugita-Konishi et al. (2001) посочват антимикробното действие на вина срещу *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* O157:H7 и *Vibrio parahaemolyticus*. Moretro and Daeschel (2004) съобщават за такова действие на виното срещу *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* и *Staphylococcus aureus,* а Carneiro et al. (2008) и Fernandes et al. (2007) проучват антимикробното действие на виното срещу хранителни патогени като *Listeria* и *Campylobacter jejuni*. Антимикробните свойства на виното се дължат на различни компоненти от неговия състав и тези свойства се свързват по-скоро с червеното, отколкото с бялото вино, поради по-високото съдържание на фенолни съединения (Chanyalew and Wiriya, 2013).

Целта на настоящото изследване е да се установи антибактериалното действие на бели и червени български вина срещу грам-положителни и грам-отрицателни бактерии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проби

Изследването е проведено в Институт по лозарство и винарство – Плевен (ИЛВ) и Словашки аграрен университет (САУ) – Нитра, Словакия. Обект на проучването са български вина, реколта 2015, от сортовете Мискет врачански, Мискет кайлъшки, Памид, Гъмза, Рубин, Кайлъшки рубин и Трапезица, които са новоселекционирани или местни, характерни за България и Балканския полуостров, както и Каберне Совиньон – сорт, отглеждан

et al., 1995; Sugita-Konishi et al., 2001; Correia et al., 2003; Moretro and Daeschel, 2004; Fernandes et al., 2007; Waite and Daeschel, 2007; Carneiro et al., 2008). Weisse et al. (1995) reported that red and white wines reduced the concentration of agents of traveller’s diarrhoea by 5-6 log cycles in 20 min. Similarly, Sugita-Konishi et al. (2001) was found the antimicrobial activity of wines against *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Vibrio parahaemolyticus*. Moretro and Daeschel (2004) have shown that the antimicrobial activity of wine against *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*, but Carneiro et al. (2008) and Fernandes et al. (2007) studied the antimicrobial activity of wine against the food-borne pathogens as *Listeria* and *Campylobacter jejuni*. The antimicrobial properties of wine are attributed to different components of wines and evident antimicrobial properties were associated with red wine than with white wine, in fact because of high level of phenolic compounds in red than those in white wine (Chanyalew and Wiriya, 2013).

The present study was undertaken to explore the antibacterial activity of white and red Bulgarian wines against Gram-positive and Gram-negative bacteria.

MATERIAL AND METHODS

Samples

The study was carried out at the Institute of Viticulture and Enology (IVE) - Pleven, Bulgaria and the Slovak University of Agriculture (SUA) – Nitra, Slovakia. The study was focused on wines of vintage 2015, made from the wine varieties Misket Vrachanski, Pamid, Gamza, Misket Kaylashki, Rubin, Kaylashki Rubin and Trapezitsa which are newly-selected or local typical in Bulgaria and on the Balkan Peninsula and Cabernet Sauvignon – a variety grown in във всички лозарски райони по света.

Мискет врачански е бял, винен, средно зреещ сорт. Гроздето се характеризира с добро захарно съдържание. Вината имат златисто-жълт цвят, приятен и траен мискетов аромат и хармоничен вкус (Radulov et al., 1992).

Мискет кайлъшки е бял, винен, късно зреещ сорт, който се характеризира с добро захарно съдържание. Сортът е получен от кръстоска между Мискет хамбургски и Вилар блан. Гроздето е с добро съдържание на захари и титруеми киселини. Вината имат златисто-жълт цвят, приятен и траен мискетов аромат, свеж и хармоничен вкус (Ivanov et al., 2010).

Памид е червен, винен, средно зреещ сорт. Гроздето се отличава с добро захаронатрупване и ниска титруема киселинност. Вината са с по-светъл цвят, тип розе, със слаба киселинност, нисък екстракт и не са подходящи за отлежаване (Radulov et al., 1992; Simeonov et al., 2009; Nakov et al., 2013).

Гъмза е червен, винен, късно зреещ сорт. Гроздето има добра захарност. Вината са с рубинено червен цвят, плодов аромат, хармоничен, мек вкус с приятна свежест и са подходящи за стареене (Radulov et al., 1992; Nakov et al., 2013).

Трапезица е червен, винен, ранен до средно зреещ сорт, получен от кръстосване на Дунавска Гъмза и Марсилско рано. Гроздето е с добра захарност. Вината имат рубинено червен цвят, плодов аромат и хармоничен, мек вкус с приятна свежест (Ivanov et al., 2012).

Рубин е червен, винен, средно зреещ сорт, получен от кръстосване на Небиоло и Сира. Гроздето се характеризира с висока захарност и ниска титруема киселинност. Вината са с тъмен цвят, с висок екстракт и са подходящи за отлежаване (Radulov et al., 1992; Simeonov et al., 2009).

all viticultural regions in the world.

Misket Vrachanski is white grape wine middle-ripening variety. Grapes are characterized by good sugar accumulation. The wines have a gold-yellowish colour, fine and lasting muscat aroma and harmonious taste (Radulov et al., 1992).

Misket Kaylashki is white late-ripening variety, obtained by crossing of Misket Hamburgski x Vilar blanc. Grapes are characterized by high sugar accumulation and titratable acidity. The wines have a gold-yellowish colour, fine and lasting muscat aroma and fresh, harmonious taste (Ivanov et al., 2010).

Pamid is red middle-ripening variety. Grapes are distinguished by high sugar accumulation and low titratable acidity. The wines are light red and rose with poor acidity and low extract and therefore are not suitable for aging (Radulov et al., 1992; Simeonov et al., 2009; Nakov et al., 2013).

Gamza is red late-ripening variety. The grapes have good sugar accumulation. The wines have bright ruby red color, fruity aroma and harmonious soft, resinous flavor with pleasant freshness. They are suitable for aging (Radulov et al., 1992; Nakov et al., 2013).

Trapezitsa – red, early to middle-ripening variety, obtained by crossing of Dunavska Gamza x Marsilsko ranno. The grapes have good sugar accumulation. The wines have ruby red colour, fruity aroma, and harmonious soft flavor with pleasant freshness (Ivanov et al., 2012).

Rubin is red middle-ripening variety, obtained by crossing of Nebiolo x Shiraz. Grapes are distinguished by high sugar accumulation and low titratable acidity. The wines are dark coloured, with high extract, suitable for aging (Radulov et al., 1992; Simeonov et al., 2009).

Кайлъшки рубин е червен, винен, средно зреещ сорт, получен от кръстосване на (Памид и Хибрид VI 2/15) и (Гаме ноар и *Vitis amurensis*). Има добро захаронатрупване. Виното е с рубинено червен цвят, с високо съдържание на антоциани, приятен плодов аромат, плътен, хармоничен вкус и е подходящо за стареене (Ivanov et al., 2012).

Каберне Совиньон е червен, винен, средно зреещ сорт с добро съотношение между захари и титруеми киселини, с високо съдържание на багрилна материя. Вината имат тъмночервен рубинен цвят, аромат на горски плодове, екстрактивен, плътен вкус с приятна киселинност. Те са подходящи за стареене в бутилки или в дъбови бъчви (Radulov et al., 1992).

Проучваните сортове са отглеждани в експерименталната база на ИЛВ - Плевен (Централна Северна България). При достигане на технологична зрялост, гроздето е обрано и преработено в опитната винарска изба, в условията на микровинифициране. Приложени са класическите методи за производство на бели и червени сухи вина (Yankov, 1992). Алкохолната ферментация е проведена с чиста куртура лиофилизирани дрожди *Saccharomyces cerevisiae* в количество 20 g/hl, при температура 18°C за белите вина и 25°C за червените вина. След приключване на процеса, вината са отдекантирани и досулфитирани до 30 mg/dm³ свободен SO_2.

Антибактериален анализ

Микроорганизми

В изследването са включени десет щама микроорганизми, от които пет грам-положителни бактерии: *Bacillus cereus* CCM 2010, *Clostridium perfringens* CCM 4435, *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Staphylococcus aureus* subs. *aureus* CCM 4223, *Streptococcus pneumoniae* CCM 4501 и пет грам-отрицателни бактерии: *Escherichia coli* CCM 3988, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1959, *Salmonella enterica* subs. *enterica* CCM 3807, *Serratia rubidaea* CCM 4684, *Yersinia enterocolitica* CCM 5671. Проучваните щамове бактерии са

Kaylashki Rubin – red, middle-ripening variety, obtained by crossing of (Pamid x Hybrid VI 2/15) x (Gamay Noir x Vitis amurensis). It has good sugar accumulation. Wine is ruby-red in colour with a high content of anthocyanins, pleasant fruity flavour, full, harmonious taste, suitable for aging (Ivanov et al., 2011).

Cabernet Sauvignon is red middle-ripening variety with high sugar accumulation, relatively high titratable acidity and high content of coloring substance. The wines have a dark ruby color, aroma of berries, extractive, full-bodied taste with medium level of acidity. They are suitable for aging in bottles or in oak barrels (Radulov et al., 1992).

The varieties were grown at the Experimental base of IVE - Pleven (Central Northern Bulgaria). Upon reaching technological maturity, the grapes were picked up and processed at the Experimental winery under the conditions of micro-vinification. The classical methods for producing of red and white dry wines were applied (Yankov, 1992). The alcoholic fermentation was induced by pure culture - lyophilized wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* in the amount of 20 g/hl at 18°C for white and 25°C for red wines. After the completion of the process, the wines were decanted and further sulfated to 30 mg/dm^3 of free SO_2.

Antibacterial assay

Microorganisms

Ten strains of microorganisms were tested in this study, including five Gram-positive bacteria: *Bacillus cereus* CCM 2010, *Clostridium perfringens* CCM 4435, *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Staphylococcus aureus* subs. *aureus* CCM 4223, *Streptococcus pneumoniae* CCM 4501 and Gram-negative bacteria: *Escherichia coli* CCM 3988, *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1959, *Salmonella enterica* subs. *enterica* CCM 3807, *Serratia rubidaea* CCM 4684, *Yersinia enterocolitica* CCM 5671. All tested strains were collected част от чешката колекция от микроорганизми (Бърно, Република Чехия). Бактериалните суспензии са култивирани в Мюлер-Хинтонов бульон (MHB, Oxoid, Basingstoke, Великобритания) при температура 37°С.

Дисково дифузионен метод

За установяване на антимикробното действие на белите и червени вина е използван агарен дисково дифузионен метод. Суспензия на тестваният микроорганизъм (0.1 ml от 10^5 cfu/ml) е засята върху Мюлер-Хинтонов агар (MHA, Oxoid, Basingstoke, Великобритания). Дискове от филтърна хартия (6 mm в диаметър) са импрегнирани с 15 µl от виното и поставени върху инокулираните агари. Агарите са съхранявани при температура 4°С за 2 ч, а по-късно са инкубирани при 37°С в продължение на 24 ч, а за *Clostridium* - анаеробно при 37°С за 24 ч. Диаметрите на зоните на инхибиране са измерени в милиметри. Всички тестове са проведени трикратно.

Статистически анализи

За всяко вино и патогенни организми са изчислени средните стойности и стандартните отклонения.

from the Czech Collection of microorganisms (Brno, Czech Republic). The bacterial suspensions were cultured in the Muller Hinton broth (MHB, Oxoid, Basingstoke, United Kingdom) at 37°C.

Disc diffusion method

The agar disc diffusion method was used for the determination of antimicrobial activities of the white and red wines. A suspension of the tested microorganism (0.1 ml of 10^5 cfu/ml) was spread on Mueller Hinton Agar (MHA, Oxoid, Basingstoke, United Kingdom). Filter paper discs (6 mm in diameter) were impregnated with 15 µl of the wine and placed on the inoculated agars. Agars were kept at 4°C for 2 h, and later were incubated at 37°C for 24 h and for *Clostridium* anaerobically at 37°C for 24 h. The diameters of the inhibition zones were measured in millimeters. All the tests were performed in triplicate.

Statistical analyses

For each wine and pathogenic microorganisms the mean values and the standard deviation were calculated.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При виното Мискет врачански е установено най-добро антибактериално действие срещу *B. cereus* (3.33±0.58 mm), *E. faecalis* (3.33±0.58 mm), *S. aureus* (3.33±1.53 mm) и по-слабо срещу *C. perfringens* (2.67±0.58 mm) и *S. pneumoniae* (2.33±1.53 mm). Най-добро антибактериално действие на Мискет кайлъшки е наблюдавано срещу *B. cereus* and *S. aureus,* но не са открити разлики в ефекта върху *C. perfringens, E. faecalis* и *S. pneumoniae*. Най-доброто антибактериално действие на вино Памид е срещу *B. cereus*, а най-слабото срещу *S. pneumoniae*. Виното Гъмза показва най-силен антибактериален ефект върху *B. cereus*, *C. perfringens*, *E. faecalis* и *S. pneumoniae* (5.33±0.58 mm). Пробата от Трапезица е с най-добър антибактериален ефект

RESULTS AND DISCUSSION

The best antibacterial activity of Misket Vrachanski wine was found against *B. cereus* (3.33±0.58 mm), *E. faecalis* (3.33±0.58 mm) and *S. aureus* (3.33±1.53 mm) but lower against *C. perfringens* (2.67±0.58 mm) and *S. pneumoniae* (2.33±1.53). The best antibacterial acitivity of Misket Kaylashiki was found agains *B. cereus* and *S. aureus* but were no differences in activity against the *C. perfringens, E. faecalis* and *S. pneumoniae*. The best antibacterial activity of Pamid wine was against *B. cereus* and the lowest against *S. pneumoniae*. Gamza wine showed the best antimicrobial activity against *B. cereus*, *C. perfringens*, *E. faecalis* and *S. pneumoniae* (5.33±0.58 mm). Trapezitsa wine showed the best antimicrobial activity against *C. perfringens* (7.67±1.15

срещу *C. perfringens* (7.67±1.15 mm), а най-слаб срещу *E. faecalis* (2.00±1.00 mm). Виното Кайлъшки рубин има най-добър антибактериален ефект срещу *C. perfringens* и *S. pneumoniae* (7.33±0.58 mm). Виното Рубин е с най-добро антибактериално действие срещу *E. faecalis* и *S. pneumoniae* (7.00±1.00 mm). Виното Каберне Совиньон показа най-добро антибактериално действие срещу *E. faecalis* (7.67±0.58 mm). Антибактериалното въздействие на вината срещу грам-положителните патогени е показано в Таблица 1.

mm) and the lowest agains *E. faecalis* (2.00±1.00 mm). Kaylashki Rubin wine showed the best antimicrobial activity against *C. perfringens* and *S. pneumoniae* (7.33±0.58 mm). Rubin wine showed the best antimicrobial activity against *E. faecalis* and *S. pneumoniae* (7.00±1.00 mm). Cabernet Sauvignon showed the best antibacterial activity against *E. faecalis* (7.67±0.58). The antibacterial activity of the wines against the Gram-positive pathogens is shown in Table 1.

Таблица 1. Антимикробно действие на виното срещу грам-положителни бактерии (в mm)
Table 1. Antimicrobial activity of wine against Gram-positive bacteria (in mm)

Проби Samples	BC	CP	EF	SA	SP
Misket vrachanski	3.33±0.58	2.67±0.58	3.33±0.58	3.33±1.53	2.33±1.53
Misket kaylashki	5.00±1.00	2.33±0.58	2.33±0.58	2.67±0.58	2.33±0.58
Pamid	6.67±0.58	2.67±1.15	2.67±0.58	3.00±1.00	2.33±0.58
Gamza	5.33±0.58	5.33±0.58	2.00±1.00	5.33±0.58	5.33±0.58
Trapezitsa	7.33±0.58	7.67±1.15	2.00±1.00	3.00±0.71	5.67±0.58
Kaylashki rubin	4.67±0.58	7.33±0.58	5.00±1.00	5.67±0.58	7.33±0.58
Rubin	4.33±1.15	5.00±1.00	7.00±1.00	5.33±0.58	7.00±1.00
Cabernet Sauvignon	5.00±0.00	7.00±1.00	7.67±0.58	5.33±0.58	6.67±0.58

BC-*Bacillus cereus* CCM 2010, CP-*Clostridium perfringens* CCM 4435, EF-*Enterococcus faecalis* CCM 4224,SA-*Staphylococcus aureus* subs. *aureus* CCM 4223, SP-*Streptococcus pneumoniae* CCM 4501

Най-добра антибактериална дейност срещу грам-отрицателните *E. coli* (5.00±1.00 mm) е открита при Каберне Совиньон. Най-силен антибактериален ефект срещу *P. aeruginosa* (6.67±1.52 mm) и *S. enteriditis* (5.33±0.58 mm) се наблюдава при Гъмза. Най-силна антибактериална активност срещу *S. rubidaea* (5.33±1.53 mm) е установена при виното Кайлъшки рубин. Най-доброто антибактериално действие срещу *Y. enterocolitica* е открито при Каберне Совиньон с най-голяма зона на потискане от 10±1.00 mm сред всички изпитвани щамове. Антибактериалното действие на вината срещу грам-отрицателните патогени са показани в Таблица 2.

The best antibacterial activity against Gram-negative *E. coli* (5.00±1.00 mm) was found in Cabernet Sauvignon wine. The strongest antibacterial activity against *P. aeruginosa* (6.67±1.52 mm) and *S. enteriditis* (5.33±0.58 mm) was found in Gamza wine. The strongest antibacterial activity against *Se. rubidea* (5.33±1.53 mm) was found in Kaylashki Rubin wine. The best antibacterial activity against *Y. enterocolitica* was found in Cabernet Sauvignon wine with the widest inhibition zone of 10±1.00 mm among all strains tested. The antibacterial activity of the wines against the Gram-negative pathogens is shown in Table 2.

Таблица 2. Антимикробно действие на виното срещу грам-отрицателни бактерии (в mm)

Table 2. Antimicrobial activity of wine against Gram-negative bacteria (in mm)

Проби Samples	**EC**	**PA**	**SE**	**SeR**	**YE**
Misket vrachanski	2.67±0.58	2.33±0.58	2.00±1.00	3.33±0.58	1.66±0.58
Misket kaylashki	2.67±0.58	3.00±1.00	1.67±0.58	2.33±0.58	3.00±1.00
Pamid	2.00±1.00	1.67±0.58	4.00±1.00	2.67±0.58	4.00±1.00
Gamza	2.00±1.00	6.67±1.52	5.33±0.58	5.00±1.00	5.00±1.00
Trapezitsa	1.67±0.58	5.33±1.53	1.67±0.58	1.33±0.58	2.00±0.00
Kaylashki rubin	1.33±0.58	5.33±0.58	2.00±1.00	5.33±1.53	6.67±1.53
Rubin	1.66±1.15	3.00±1.00	2.00±1.00	3.00±1.00	9.67±0.58
Cabernet Sauvignon	5.00±1.00	2.33±0.58	2.33±0.58	5.00±2.00	10.00±1.00

EC-*Escherichia coli* CCM 3988, PA-*Pseudomonas aeruginosa* CCM 1959, SE-*Salmonella enterica* subs. *enterica* CCM 3807, SeR-*Serratiarubidaea* CCM 4684, YE-*Yersinia enterocolitica* CCM 5671

Повечето винени екстракти показват антибактериално действие както срещу грам-положителни, така и срещу грам-отрицателни патогени. При почти всички екстракти диаметърът на зоната на потискане на грам-положителните патогени се оказва по-широк от тази на грам-отрицателните, което показва, че грам-положителните бактерии са по-чувствителни от грам-отрицателните. Това може да се дължи на разликите в структурата на клетъчната стена на бактериите. По-простата структура на клетъчната стена на грам-положителните бактерии я прави по-лесна за проникване от страна на антимикробните съединения (Papadopoulou et al., 2005).

В исторически план, виното се счита за спомагащо храносмилането. Установено е, че употребата на алкохол се оказва защитна функция в случаи на огнища на *Salmonella Enteritidis* (Bellido-Blasco et al., 2002). Различни ин витро изследвания показват, че броят на *Enterobacteriaceae* по-рязко намалява при третиране с вино, отколкото с други алкохолни напитки (Weisseet al., 1995; Harding and Maidment 1996). Jayaprakasha et al. (2003) докладват, че всички екстракти

Most wine extracts exhibited some kind of antibacterial activity against both Gram-positive and Gram-negative pathogens. In almost all extracts, the diameter of the inhibition zone for Gram-positive pathogens were wider than for Gram-negative pathogens, indicating that the Gram-positive bacteria were more sensitive than the Gram-negative.

This observation can be attributed to differences in the structure of bacteria cell wall. The less complex structure of the cell wall in the Gram-positive bacteria makes it more permeable to the antimicrobial compounds (Papadopoulou et al., 2005).

Historically, wine has been believed to aid digestion. Recently, the consumption of alcohol has been reported to have a protective effect during the food-borne outbreaks of *Salmonella Enteritidis* (Bellido-Blasco et al., 2002). Various *in vitro* studies indicate that *Enterobacteriaceae* counts were rapidly reduced after treatment with wine than other alcoholic beverages (Weisseet al., 1995; Harding and Maidment 1996). Jayaprakasha et al. (2003) reported that all the grape seed extracts showed от гроздови семена са показали антибактериално действие срещу *Bacillus* spp., *S. aureus*, *E. coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. Rhodes et al. (2006), които са изследвали антибактериалното действие на *V. vinifera* сорт Рибиер установяват, че гроздовият сок не е активен срещу *Bacillus cereus*, *Salmonella Menston*, *E. coli* и *S. Aureus*, но Vaz et al. (2012) доказват силното инактивиращо действие срещу вегетативни клетки на *B. cereus.* Също така Friedman et al. (2007) изследвайки антибактерицидното действие на винени маринати върху *Bacillus cereus, S. enterica, E. coli O157:H7* и *L. monocytogenes,* наблюдават, че маринатите са високоефективни срещу грам-положителните и грам-отрицателните патогени. Антимикробният ефект на виното се отчита и в изследвания, извършени с чревните патогени *S. typhimurium, S. sonnei* и ентеротоксигенни *E. coli* (Sheth et al., 1988; Weisse et al., 1995; Bellido et al., 1996) и *C. jejuni* (Carneiro et al., 2007). Комерсиалните червени и бели вина също показват действие срещу орални стрептококи, причиняващи кариес и фарингит – *S. pyogenes* и *S. mutans* (Daglia et al., 2007).

Червените вина имат по-силен антимикробен ефект срещу *C. jejuni* LP1 в сравнение с белите вина. Това може да се дължи на някои компоненти, които се съдържат в по-голямо количество в червените вина, отколкото в белите, напр. фенолните съединения (Gañan et al., 2009).

antibacterial effect against *Bacillus* spp., *S. aureus*, *E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Rhodes et al. (2006), who investigated the antibacterial effect of *V. vinifera* variety Ribier, documented that grape juice was inactive against *Bacillus cereus*, *Salmonella Menston*, *E. coli* and *S. aureus* but Vaz et al. (2012) proved the strong inactivation effect against vegetative cells of *B. cereus*. Also Friedman et al. (2007) have evaluated the bactericidal activity of wine marinades against *Bacillus cereus, S. enterica, E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* and the wine marinades were highly effective against the Gram-positive and Gram-negative pathogens. Also the antimicrobial effect wine has been reported in studies carried out with intestinal pathogens: *S. typhimurium, S. sonnei* and enterotoxigenic *E. coli* (Sheth et al., 1988; Weisse et al., 1995; Bellido et al., 1996) and *C. jejuni* (Carneiro et al., 2007). The commercial red and white wines against displayed activity against oral streptococci responsible for caries development, pharyngitis causing *S. pyogenes* and *S. mutans* (Daglia et al., 2007).

The red wines possess the higher microbicidal effect against *C. jejuni* LP1 than white wine. This could be related to the presence of some components which are more present in red wines than in white wines, for example, phenolic compounds (Gañan et al., 2009).

ИЗВОДИ

Проведеното изследване потвърждава антимикробните свойства на виното срещу грам-положителни и грам-отрицателни хранителни патогени. Проучването показва, че българските вина притежават по-добро антимикробно действие срещу грам-положителните бактерии. От грам-отрицателните бактерии *Yersinia enterocolitica* показва най-голяма чувствителност по отношение на антимикробното въздействие на Каберне

CONCLUSIONS

The antimicrobial properties of wine were confirmed against the Gram-positive and Gram-negative food-borne pathogens in previous studies. Also this study shows that the Bulgarian wines exhibited the antimicrobial activity with better results against Gram-positive bacteria. *Yersinia enterocolitica* was the most sensitive against the antimicrobial effect of Cabernet Sauvignon wine among Gram-

Совиньон, което е индикация за възможно приложение срещу патогенни микроорганизми. Най-силен антимикробен ефект срещу грам-положителни и грам-отрицателни бактерии е установен при вината Гъмза и Каберне Совиньон.

negative bacteria indicating the possible application against pathogenic micro organisms. The best antimicrobial effect against Gram-positive and Gram-negative bacteria was showed by Gamza and Cabernet Sauvignon wines.

БЛАГОДАРНОСТИ

Този труд бе подкрепен от Грантовата агенция на Република Словакия по Проект „ВЕГА" №1/0411/17.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Grant Agency of the Slovak Republic under the Project VEGA no. 1/0411/17.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Bellido, J. B., F. González, A. Arrendó, J. V. Galiano, L. Safont and et al.**, 1996. Brote de infección alimentaria por *Salmonella enteritidis*. Posible efecto protector de las bebidas alcohólicas. *Medical Clinica (Barc)*, 107, 641-644.
2. **Bellido-Blasco, J. B., A. Arnedo-Pena, E. Cordero-Cutillas, M. Canos-Cabedo, C. Herrero-Carot and L. Safont-Adsuara**, 2002. The protective effect of alcoholic beverages on the occurrence of a *Salmonella* food-borne outbreak. *Epidemiology*, 13, 228-300.
3. **Carneiro, A., J. A. Couto, C. Mena, J. Queiroz and T. Hogg**, 2007. Activity of wine against *Campylobacter jejuni. Food Control*, 19, 800-805.
4. **Carneiro, A., J. A. Couto, C. Mena, J. Queiroz and T. Hogg**, 2008. Activity of wine against *Campylobacter jejuni. Food Control*, 19, 800-805.
5. **Chanyalew, Y. and L. Wiriya**, 2013. Antimicrobial activity of three wines against *Campylobacter jejuni* and the effect of low temperature on their survival ability. *African Journal of Microbiological Research*, 7 (29), 3836-3841.
6. **Correia, A., A. Gomes, B. Oliveira, G. Gonçalves, M. Miranda and O. Almeida**, 2003. The protective effect of alcoholic beverages in foodborne outbreaks of *Salmonella enteritidis* PT1 in northern Portugal. *Eurosurveillance*, 7 (13).
7. http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2195.
8. **Daglia, M., A. Papetti, P. Grisoli, C. Aceti, C. Dacarro and G. Gazzani**, 2007. Antibacterial activity of red and white wine against oral *Streptococci*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5038-5042.
9. **Fernandes, J., F. Gomes, J. A. Couto and T. Hogg, 2007**. The antimicrobial effect of wine on *Listeria innocua* in a model stomach system. *Food Control*, 18, 1477-1483.
10. **Friedman, M., P. R. Henika, C. E. Levin and R. E. Mandrell**, 2006. Antimicrobial wine formulations active against the foodborne pathogens *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella enterica. Journal of Food Science*, 71, M245-M251.
11. **Gañan, M., A.J. Martínez-Rodríguez and A.V. Carrascosa**, 2009. Antimicrobial activity of phenolic compounds of wine against *Campylobacter jejuni*. *Food Control*, 20, 739-742.
12. **Harding, C. and C. Maidment**, 1996. An investigation into the anti-bacterial effects of wine and other beverages. *Journal of Biological Education*, 30, 237-239.
13. **Hsiao, C. P. and K.J. Siebert**, 1999. Modeling the inhibitory effects of organic acids on bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 47, 189–201.
14. **Ivanov, M., Z. Nakov and I. Simeonov**, 2010. Comparative economic characteristics of some selected at the Institute of Viticulture and Enology - Pleven of inter-species grapevine varieties. In: Collection of Materials of the International Scientific and Practical Conference, Novocherkassk, Russia, pp. 17-22 (Ru).

15. **Ivanov, M., Z. Nakov, I. Simeonov and A. Iliev**, 2011. Kaylashki Rubin – a new red wine grapevine variety. *Selskostopanska nauka*, 44 (4), 60-65 (Bg).
16. **Ivanov, M., Z. Nakov and I. Simeonov**, 2012. Trapezitsa – new red wine grapevine variety. *Selskostopanska nauka*, 45 (4), 57-62 (Bg).
17. **Jayaprakasha, G. K., T. Selvi and K. K. Sakariah**, 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, 36, 117-122.
18. **Moretro, T. and M. A. Daeschel**, 2004. Wine is bactericidal to foodborne pathogens. *Journal of Food Science*, 69, 251-257.
19. **Nakov, Z., I. Simeonov, M. Ivanov, T. Yoncheva and V. Haygarov**. 2013. Ampelographic characteristics of old local wine grapevine varieties in Bulgaria. In: Proceedings of the first international scientific conference "Non-traditional, new and neglected plant species: scientific and practical aspects of cultivation, Kiev, Ukraine, pp. 85-90 (Ru).
20. **Papadopoulou, C., K. Soulti and I.G. Roussis**, 2005. Antimicrobial activity of wine phenolic extracts. *Food Technology and Biotechnology*, 43, (1), 41-46.
21. **Radulov, L., D. Babrikov and S. Georgiev**, 1992. Ampelography with basics of winemaking. Zemizdat, Sofia (Bg).
22. **Ricke, S.C.**, 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Science*, 82, 632-639.
23. **Rhodes, P. I., J. W. Mitchell, M. W. Wilson and L. D. Melton**, 2006. Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from *Vitis vinifera* variety Ribier. *International Journal of Food Microbiology*, 107 (3), 281-286.
24. **Satué-Garcia, M. T., C. Andrés-Lacueva, R. M. Lamuela-Raventós and E. N. Frankel**, 1999. Red Spanish sparkling wines (Cavas) as inhibitors of *in vitro* human low-density lipoprotein oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 74, 2198-2202.
25. **Sheth, N. K., T. R. Wisniewski and T. R. Franson,** 1988. Survival of enteric pathogens in common beverages: An in vitro study. *American Journal of Gastroenterology*, 83, 658-660.
26. **Simeonov, I., M. Ivanov, Z. Nakov and A. Iliev**, 2009. Agrobiological characteristics of recommended and permitted wine grapevine varieties suitable for growing in semi-mountain and mountain regions of the Republic of Bulgaria. *Journal of mountain agriculture on Balkans*, 12 (5), 1115-1125.
27. **Sugita-Konishi, Y., Y. Hara-Kudo, T. Iwamoto and K. Kondo**, 2001. Wine has activity against entero-pathogenic bacteria *in vitro* but not *in vivo*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 65, 954-957.
28. **Sun, B., I. Spranger, J. Yang, C. Leandro, L. Guo, S. Canário, Y. Zhao and C. Wu**, 2009. Red wine phenolic complexes and their in vitro antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (18), 8623-8627.
29. **Vaz, M., T. Hogg and J. António Couto**, 2012. The antimicrobial effect of wine on Bacillus cereus in simulated gastro-intestinal conditions*. Food Control*, 28 (2), 230-236.
30. **Waite, J. G. and M. A. Daeschel**, 2007. Contribution of wine components to inactivation of food-borne pathogens. *Journal of Food Science*, 72, M286-M291.
31. **Weisse, M. E., B. Eberly and D. A. Person**, 1995. Wine as a digestive aid: comparative antimicrobial effects of bismuth salicylate and red and white wines. *British Medical Journal*, 311, 1657-1660.
32. **Yankov, A.**, 1992. Technology of Winemaking. Zemizdat, Sofia (Bg).
33. **Yilmaz, Y. and R. T. Toledo**, 2004. Major flavonoids in grape seeds and skins; Antioxidant capacity of catechin, epicatechin and gallic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 255-260.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (3), 80-102 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Сензорен анализ и биологична активност на различни нискобюджетни вина

Атила Кантор[1]*, Ева Иванишова[1], Мариан Токар[1], Мирослава Качаниова[2]

[1]*Катедра „Съхранение и преработка на растителни продукти", Факултет по биотехнологии и хранителни науки, Словашки аграрен университет, бул. А. Хлинку 2, Нитра, Словакия*
[2]*Катедра „Микробиология", Факултет по биотехнологии и хранителни науки, Словашки аграрен университет, бул. А. Хлинку 2, Нитра, Словакия*
**E-mail: kantor.spu@gmail.com*

Sensory analysis and biological activity of different low budget wines

Attila Kántor[1]*, Eva Ivanišová[1], Marián Tokár[1], Miroslava Kačániová[2]

[1]*Department of Plant Products Storage and Processing, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, Nitra, Slovakia.*
[2]*Department of Microbiology, Faculty of Biotechnology and Food Sciences*, *Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, Nitra, Slovakia.*

РЕЗЮМЕ

Целта на това изследване е да се оцени биологичната активност (антиоксидантна активност, общи полифеноли, флавоноиди, съдържание на фенолни киселини и в червените вина също общо съдържание на антоциани), сензорен анализ и химически параметри на нискобюджетни вина от Франция (Gamay 2015, Beaujolais) (Chardonnay-Colombard 2015, Югоизточна Австралия), Испания (Tempranillo 2015, Ла Манча), Италия (Pinot Gris 2015, Венеция), (Chianti 2015, Тоскана) и Южна Африка (Каберне Совиньон 2015, Western Cape).

За измерване на четиринадесет химични параметри във виното се използват инфрачервена спектроскопия с Фурие трансформация (FT-IR), включваща (съдържание на алкохол, pH, органични киселини, съдържание на захар, плътност и глицерол). Сензорната оценка е извършена по 100 бална система. Тази

SUMMARY

Aim of this study was to evaluate biological activity (antioxidant activity, total polyphenol, flavonoid, phenolic acid content and in red wines also total anthocyanin content), sensory analysis and chemical parameters of low budget wines from France (Gamay 2015, Beaujolais), Australia (Chardonnay-Colombard 2015, south eastern Australia), Spain (Tempranillo 2015, La Mancha), Italy (Pinot Gris 2015, Venice), (Chianti 2015, Tuscany) and South Africa (Cabernet Sauvignon 2015, Western Cape).

Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) was used for measuring of fourteen chemical parameters in wine, include (alcohol content, pH, organic acids, sugar content, density and glycerol). Sensory analysis was evaluated by 100 points scale система е използвана въз основа на протокола OIV (Международна организация за лозарство и винарство). Антиоксидантната активност е определена чрез ABTS метода и метода на молибден, намаляващ антиоксидантната мощност. Съдържанието на фитохимикали (полифеноли, флавоноиди, фенолни киселини, а в червените вина също и антоцианини) се измерва чрез колориметрични методи.

Най-добро е виното "Темпранило" - 87 точки, Гамей (85 p.), Шардоне-Коломбард (82 p.), Кианти и Каберне Совиньон (80 p.) и Пино Гри (77 p.). Специфичната сензорна оценка беше извършена със собствен дегустационен лист за оценка на виното. Различни параметри като плодов вкус, тяло, сладост, киселинност, алкохол и танини (червени вина) бяха оценени с 1 до 5 точки и представени чрез радарни графики. Най-специфичните аромати в белите вина, отбелязани от дегустаторите, са цариградско грозде, ябълка и лимон. Къпина, вишна и касис бяха най-ценните аромати в червените вина. Резултатите от антиоксидантната активност показват, че Tempranillo има най-добрата активност, изпитана чрез метода на молибден, намаляващ антиоксидантната активност (2608.36 ± 0.83 mg TEAC/L, TEAC - Trolox еквивалентна антиоксидантна активност) и чрез ABTS метод (1008.28 ± 30.25 mg TEAC/L). В тази проба също е установено най-високото съдържание на общи флавоноиди (362.88 ± 14.85 mg QE/L, QE - еквивалент на кверцетин). Виното Chianti показва най - добро общо съдържание на полифеноли (718,67 ± 9,43 mg GAE/L, GAE - еквивалент на галова киселина), както и общо съдържание на антоциани (751,45 ± 5,83 mg/L). В пробата Gamay е установено най-високо общо съдържание на фенолни киселини (532.96 ± 3.19 mg CAE/L, CAE - еквивалент на кофеинова киселина) в сравнение с другите тествани вина.

Ключови думи: сензорен анализ, вино, тест OIV, полифеноли, флавоноиди, фенолни киселини

system. This scale system was used based on the OIV protocol (*International Organization of Vine and Wine*). Antioxidant activity was determined by ABTS method and molybdenum reducing antioxidant power method. The content of phytochemicals (polyphenols, flavonoids, phenolic acids, and in red wines also anthocyanins) was measured by colorimetric methods.

Tempranillo wine was the best with 87 points (p.), Gamay (85 p.), Chardonnay-Colombard (82 p.), Chianti and Cabernet Sauvignon (80 p.) and Pinot Gris (77 p.). Specific sensory evaluation was performed by own wine evaluation sheet. Different parameters such as fruitiness, body, sweetness, acidity, alcohol and tannins (red wines) were rated by 1 to 5 points and evaluated by radar charts. The most specific aromas overall in white wines marked by evaluators were gooseberry, apple and lemon. Blackberry, sour cherry and black currant were the most evaluated aromas in red wines. Results of antioxidant activity showed that Tempranillo had the best activity tested by molybdenum reducing antioxidant power method (2608.36 ±0.83 mg TEAC/L; TEAC – Trolox equivalent antioxidant activity), and also by ABTS method (1008.28±30.25 mg TEAC/L). In this sample was also detected the highest content of total flavonoid (362.88 ±14.85 mg QE/L; QE – quercetin equivalent). Chianti wine showed the best total polyphenol (718.67 ±9.43 mg GAE/L; GAE – gallic acid equivalent) as well as total anthocyanin content (751.45 ±5.83 mg /L). In sample Gamay was determined the highest level of total phenolic aid content (532.96 ±3.19 mg CAE/L; CAE – caffeic acid equivalent) with compare to other tested wines.

Key words: sensory analysis, wine, OIV test, polyphenols, flavonoids, phenolic acids

УВОД

Vitis е широко култивиран по целия свят. Съгласно статистическия доклад на Международната организация за лозарство и винарство (OIV, 2016), световните площи за засаждане на грозде се увеличават бързо през последните години и се предвижда да достигнат 7,53 милиона хектара през 2015 г. Като важен гроздов продукт, виното е алкохолна напитка, която се ползва в световен мащаб. Виното е неразделна част от средиземноморското хранене. Умереното потребление на вино е свързано с разнообразни ползи за здравето. По-специално, минорни компоненти като фенолните съединения изглежда, че са отговорни за защитните ефекти на виното срещу оксидативния стрес (Biasi et al., 2014; Schrieks et al., 2013) и за поддържането на здравето на сърдечно-съдовата (Walzem, 2008) и нервната системи (Basli et al., 2012). Тъй като съставът на виното е силно повлиян от използваните гроздови култури заедно с техниките на винопроизводството, е важно да се познават физико-химичните характеристики на всяко вино (Tuberoso et al., 2017).

Целта на това изследване е извършване на сензорен анализ, определяне на химичните параметри и биологичната активност на шест различни проби вино включително антиоксидантна активност, общи полифеноли, фенолни киселини и флавоноиди.

INTRODUCTION

Vitis is widely cultivated around the world. According to the OIV statistical report on world vitiviniculture (OIV, 2016), global grape planting areas have increased rapidly in recent years, and are forecast to reach 7.53 Mha in 2015. As an important grape product, wine is an alcoholic beverage that is enjoyed globally. Wine is an integral part of the Mediterranean diet. Moderate consumption of wine has been linked to a variety of health benefits. Specifically, minor components, such as phenolic compounds, seem to be responsible for the protective effects of wine against oxidative stress (Biasi et al., 2014; Schrieks et al., 2013), and for the maintenance of healthy cardiovascular (Walzem, 2008) and nervous systems (Basli et al., 2012). Because the composition of wine is greatly influenced by the grape cultivars used along with the winemaking techniques used, it therefore essential to know the chemical-physical characteristics of each wine (Tuberoso et al., 2017).

The aim of this study was to sensory analysis, determine chemical parameters, and biological activity of six different wine samples includes antioxidant activity, total polyphenol, phenolic acids and flavonoids.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Проби от вино

В нашето изследване са използвани шест винени проби. Пробите са закупени от местен магазин в Нитра (4 червени и 2 бели вина). Поръчахме по една бутилка от всяка извадка и избрахме вина от пет различни страни. Бели вина: Pinot Gris 2015 (Венеция, Италия); Шардоне - Colombard 2015 (югоизточна Австралия), тези две вина бяха затворени с винтова капачка. Червени вина: Gamay 2015 (Beaujolais, Франция), Tempranillo 2015 (Ла Манча, Испания), Chianti 2015 (Тоскана,

MATERIAL AND METHODS

Wine samples

In our research six wine samples were used. We obtain the wine samples from the Slovak local shop in Nitra (4 red a 2 white wine). We purchase one bottle of each sample and choose the wines from five different countries. White wines: Pinot Gris 2015 (Venice, Italy); Chardonnay – Colombard 2015 (south eastern Australia), these two wines were closed with screw cap. Red wines: Gamay 2015 (Beaujolais, France), Tempranillo 2015 (La Mancha, Spain), Chianti 2015 (Tuscany, Italy) closed with synthetic cork, Италия) затворени със винтова капачка от синтетичен корк, Nomacorc® и Каберне Совиньон 2015 (Western Cape, Южна Африка).

Всички химикали, използвани в тази работа, са с аналитична чистота и са закупени от Sigma-Aldrich (САЩ) и Central Chem (SK).

FT-IR спектрометрия

Химическите параметри на вино-то са определени чрез Alpha FT-IR (Bruker Optics, Германия). Алфа FT-IR означава инфрачервена спектрометрия с Фурие трансформация. Получени са резултати от 14 химически параметри на виното: алкохол, оцетна киселина, лимонена киселина, плътност, глюкоза, фруктоза, захароза, млечна киселина, ябълчена киселина, винена киселина, pH, глицерол, общи киселини и общи захари. Около 10 mL проба от виното се инжектира със спринцовка в потока от клетки и се натиска бутонът за измерване. След това измерването и анализът се извършват напълно автоматично в рамките на по-малко от пет минути на проба. Една проба се измерва 130 пъти при постоянна температура 40 °C. Софтуер Opus е използван за събиране на резултатите. Търговски наличните FT-IR уреди с разнообразен и иновативен софтуер, предназначени специално за анализ на грозде и вино, наскоро получиха голямо внимание. FT-IR спектроскопията се основава на принципа, че функционалните групи в пробата ще вибрират при излагане на инфрачервено лъчение. Повечето съединения с ковалентни връзки абсорбират специфични честоти на излъчване в инфрачервения участък на електромагнитния спектър.

Сензорен анализ

Пробите от виното са анализирани чрез 100-точкова скала на OIV (Международна организация на виното и лозата),а ароматният профил на вината е определен чрез нашия сензорен тест. Този тест включва параметри като плодов вкус, тяло, сладост, киселинност, алкохол, танин (само червените вина), интензивност и устойчивост на цвета. Ароматният профил на вината е представен

Nomacorc®, and Cabernet Sauvignon 2015 (Western Cape, South Africa) screw cap.

All chemicals used in this work were analytical grade and were purchased from Sigma-Aldrich (USA) and CentralChem (SK).

FT-IR Spectrometry

The chemical parameters of wine were evaluated by Alpha FT-IR (Bruker Optics, Germany). Alpha FT-IR means Fourier transform infrared spectrometry. Obtained results from 14 chemical parameters of wine: alcohol, acetic acid, citric acid, density, glucose, fructose, sucrose, lactic acid, malic acid, tartaric acid, pH, glycerol, total acids and total sugars. About 10 mL of wine sample was injected by syringe into the flow-through cell and the measurement button was pressed. Measurement and analysis was then performed fully automatically within less than five minutes per sample. One sample was measured 130 times at constant 40 °C temperature. Opus software was used for results collection. Commercially available FT-IR instrumentation with versatile and innovative software, designed specifically for grape and wine analysis, has recently received much attention. FT-IR spectroscopy is based on the principle that functional groups within a sample will vibrate upon exposure to IR radiation. Most compounds with covalent bonds absorb specific frequencies of radiation in the IR region of the electromagnetic spectrum.

Sensory analysis

The wine samples were analyzed by 100-point scale OIV (International organization of Wine and Vine) and aromatic profile of wines were determined by our sensory test. This test include parameters as fruitiness, body, sweetness, acidity, alcohol, tannin (only red wines) colour intensity and persistence. The aromatic profile of wines чрез радарни графики със скала от 1 (най-ниско) до 5 (най-високо) възприятие за всеки параметър. Пробите са получили точки от тестовете по 100 точкова скала от оценителите и са класифицирани според следните категории: Грандиозно злато (> 92 p.), Злато (> 85 p.), Сребро (> 82 p.) и Бронз най-малко (80 p.). Тестът е класифициран в четири основни категории, първа – външен вид (2 подкатегории), втора - аромат или нос (3 подкатегории), трета - вкус (4 подкатегории) и четвърта - общо впечатление.

Антиоксидантна активност

Анализ на обезцветяване с радикален катион ABTS

Анализът на обезцветяването на ABTS радикален катион на пробата се измерва съгласно Re et al., (1999) с леки модификации. Абсорбцията на реакционната смес се определя като се използва спектрофотометър Jenway (6405 UV/Vis, Англия) при 734 nm. Тролокс (6-хидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксилна киселина) се използва като стандарт и резултатите се изразяват в mg/L тролокс еквивалент.

Молибденов метод за намаляване на антиоксидантите

Молибденовият метод за намаляване на антиоксидантната мощност на пробите се измерва съгласно метода на Prieto et al. (1999) с лека модификация. Абсорбцията на реакционната смес се определя като се използва спектрофотометър Jenway (6405 UV/Vis, Англия) при 700 nm. Тролокс (6-хидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксилна киселина) се използва като стандарт и резултатите се изразяват в mg/L тролокс еквивалент.

Общо съдържание на полифеноли

Общо полифенолно съдържание на екстракти се измерва по метода на Singleton и Rossi (1965) с използване на реагент Folin-Ciocalteu. Абсорбцията на реакционната смес се определя като се използва спектрофотометър Jenway (6405 UV/Vis, Англия) при 700 nm. Като стандарт е използвана галова киселина и резултатите са изразени в mg/L еквивалент на галова киселина.

was presented by radar charts with scale from 1 (lowest) to 5 (highest) perception of each parameter. Samples have gained points by 100-point scale test from assessors and shall be classified according to the following level categories: Grand Gold (>92 p.), Gold (>85 p.), Silver (>82 p.) and Brozne (at least 80 p.). The test was classified in four main categories, first sight (2 subcategories), second aroma or nose (3 subcategories), third taste or palate (4 subcategories) and fourth general impression.

Antioxidant activity

ABTS radical cation decolorization assay

ABTS radical cation decolorization assay of sample was measured according Re et al., (1999) with slight modifications. Absorbance of the reaction mixture was determined using the spectrophotometer Jenway (6405 UV/Vis, England) at 734 nm. Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) was used as the standard and the results were expressed in mg/L Trolox equivalent.

Molybdenum reducing antioxidant power method

Molybdenum reducing antioxidant power method of samples was measured according Prieto et al., (1999) method with a slight modification. Absorbance of the reaction mixture was determined using the spectrophotometer Jenway (6405 UV/Vis, England) at 700 nm. Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) was used as the standard and the results were expressed in mg/L Trolox equivalent.

Total polyphenol content

Total polyphenol content extracts was measured by the method of Singleton and Rossi, (1965) using Folin-Ciocalteu reagent. Absorbance of the reaction mixture was determined using the spectrophotometer Jenway (6405 UV/Vis, England) at 700 nm. Gallic acid was used as the standard and the results were expressed in mg/L gallic acid equivalent.

Общо флавоноидно съдържание

Общите флавоноиди се определят с помощта на модифицирания метод на Willett, (2002). Абсорбцията на реакционната смес се определя като се използва спектрофотометър Jenway (6405 UV/Vis, Англия) при 415 nm. Кверцетинът се използва като стандарт и резултатите се изразяват в mg/L еквивалент на кверцетин.

Общо съдържание на фенолни киселини

Общото съдържание на фенолни киселини се определя като се използва модифицирания метод на Pharmacopea Polska (1999). Абсорбцията на реакционната смес се определя като се използва спектрофотометър Jenway (6405 UV/Vis, Англия) при 490 nm. Кафеената киселина се използва като стандарт и резултатите се изразяват в mg/L еквивалент на кафеена киселина.

Общо съдържание на антоциани

Общото съдържание на антоциани се определя спектрофотометрично съгласно метод на Lee et al., (2005). Абсорбцията на реакционната смес се определя като се използва спектрофотометър Jenway (6405 UV/Vis, Англия) при 520 и 700 nm. Резултатите са изразени в mg еквивалент на цианидин-3-глюкозид на литър проба.

Статистически анализ

Основните статистически анализи бяха реализирани в програмните пакети на SAS (THE SAS SYSTEM V 9.2.). Коефициентите на корелация бяха изчислени чрез CORR анализ (SAS, 2009).

Total flavonoid content

Total flavonoids were determined using the modified method of Willett, (2002). Absorbance of the reaction mixture was determined using the spectrophotometer Jenway (6405 UV/Vis, England) at 415 nm. Quercetin was used as the standard and the results were expressed in mg/L quercetin equivalent.

Total phenolic acid content

Total phenolic acid content was determined using the modified method of Pharmacopea Polska, (1999). Absorbance of the reaction mixture was determined using the spectrophotometer Jenway (6405 UV/Vis, England) at 490 nm. Caffeic acid was used as the standard and the results were expressed in mg/L caffeic acid equivalent.

Total anthocyanin content

Total anthocyanin content was determined spectrophotometrically according Lee et al., (2005) method. Absorbance of the reaction mixture was determined using the spectrophotometer Jenway (6405 UV/Vis, England) at 520 and 700 nm. Results were expressed in mg cyanidine-3- glucoside equivalent per liter of sample.

Statistical analysis

The basic statistical analyzes were realized in SAS programming packages (THE SAS SYSTEM V 9.2.). Correlation coefficients were calculated by CORR analysis (SAS, 2009).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В нашето изследване бяха анализирани 6 различни винени проби чрез FT-IR спектроскопия. Получихме резултати за 14 химически параметри на виното. Както може да се види в Таблица 1, са анализирани пет органични киселини, три захари, pH, плътност, глицерол, алкохол и общо захарно и киселинно съдържание. Оценката на качеството на гроздето и гроздовия сок обикновено включва оценка на киселинността (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Основните органични киселини

RESULTS AND DISCUSSION

In our research 6 different wine samples were analyzed by FT-IR spectroscopy. We obtain results from 14 chemical parameters of wine. As you can see on the (Table 1), five organic acid, three sugars, pH, density, glycerol, alcohol and total sugar and acid content were analyzed. The assessment of grape and grape juice quality usually includes an assessment of acidity (Ribéreau-Gayon et al., 2006). The main organic acids in wine are tartaric acid (~1.5–4.0 g/L), malic acid във виното са винена киселина (~ 1.5-4.0 g/L), ябълчена киселина (~ 0-4.0 g/L), млечна киселина (~ 0.1-3.0 g/L), оцетна киселина (> 0.2 g/L измерена като летлива киселинност), лимонена киселина (~ 0-0,5 g/L) и в някои случаи янтарна киселина (0-2 g/L). По този начин киселинността обикновено се измерва както по отношение на общата титруема киселинност, така и по отношение на pH на виното (Bauer et al., 2008). Количеството оцетна киселина във виното е много важно от органолептична гледна точка. Малки количества оцетна киселина се получават от дрождите по време на ферментацията. При нормални нива (> 0.3 g/l), оцетната киселина може да бъде желан ароматен компонент, добавяйки сложност към вкуса и аромата. С етанола оцетната киселина продуцира ацетатни естери и тези съединения имат склонност да генерират плодови аромати, но в концентрация не повече от 100 mg/l, над тази концентрация виното придобива аромат на оцет или лак за нокти. Ако количеството оцетна киселина се повиши над 1 g/l, обаче, тя постепенно генерира кисел вкус и влошава аромата (Jackson, 2014).

(~0–4.0 g/L), lactic acid (~0.1–3.0 g/L), acetic acid (>0.2 g/L measured as volatile acidity), citric acid (~0–0.5 g/L), and in some cases, succinic acid (0–2 g/L).

Thus, acidity is generally measured in terms of both total titratable acid and the pH of the wine (Bauer et al., 2008).

Amount of acetic acid in wine is very important from sensory standpoint. Small amounts of acetic acid are produced by yeasts during fermentation.

At normal levels (>0.3 g/l), acetic acid can be a desirable flavorant, adding complexity to taste and odor.

Acetic acid with ethanol produce acetate esters and these compounds tend to generate fruity aromas, but in concentration no more than 100 mg/l, above this concentration the wine smells like vinegar or nail polish. If the amount of acetic acid rises above 1 g/l, however, it progressively generates a sour (vinegary) taste and taints the fragrance (Jackson, 2014).

Таблица 1. Химични параметри на пробите вино
Table 1. Chemical parameters of wine samples

Parameter	*Pinot Gris*	*Char. - C.**	*Gamay*	*Tempranillo*	*Chianti*	*CS**	unit
Acetic acid	0.40	0.44	0.78	0.64	0.64	0.79	g/L
Alcohol	11.2	12.3	13.3	12.5	12.4	13.5	%
Citric acid	0.69	0.47	0.11	0.27	0.49	0.45	g/L
Density	0.9932	0.9935	0.9915	0.9952	0.9942	0.9945	g/cm^3
Fructose	2.7	3.7	2.0	3.3	2.5	2.2	g/L
Glucose	3.3	3.9	2.6	4.4	3.0	2.4	g/L
Sucrose	0.7	0.5	0.6	0.4	0.4	0.4	g/L
Glycerol	7.9	8.0	10.2	11.0	10.5	11.7	g/L
Lactic Acid	0.07	0.00	0.80	1.11	0.63	0.84	g/L
Malic acid	1.3	2.1	0.5	0.3	0.4	0.3	g/L
pH	2.51	2.60	2.71	2.86	2.78	2.84	g/L
Tartaric acid	4.26	3.92	4.41	4.32	4.32	4.32	g/L
Total acid	7.1	7.3	6.6	6.7	6.7	7.4	g/L
Total sugar	6.0	7.6	4.6	7.7	5.5	4.6	g/L

*Cabernet Sauvignon (CS), *Chardonnay - Colombard (Char. - C.)

В нашето изследване пробите вино не съдържат повече от 1 g/l оцетна киселина, но най-високо съдържа-

In our study wine samples not contain more than 1 g/l acetic acid, but the highest content present in red wines ние е установено в червените вина (Gamay 0,78 g/l и Cabernet Sauvignon 0,79 g/l). Както се вижда от Таблица 1, белите вина съдържат по-ниско количество оцетна киселина от червените. Лимонената киселина също присъства в стандартната концентрация (0,5 g/l), само виното Pinot Gris има по-високо съдържание 0,69 g/l. Много важен параметър е съдържанието на захар, съответното наличие на глюкоза и фруктоза (или захароза) във виното. Общото съдържание на захар (редуциращи захари) е важно при категоризирането по сладост. Все още вината в Словакия се категоризирани по общо съдържание на захар: 0-4 g/l са сухи, 4.1-12 – полусухи, 12.1-45 полусладки и > 45 g/l сладки. По тази причина всички наши изследвани вина са категоризирани като полусухи вина (сухи по етикет).

Винената киселина е основната киселина на гроздето и концентрацията ú не трябва да намалява значително по време на зреенето на гроздето. Ябълчената киселина може да съставлява половината от общата киселинност на гроздето и виното. Поради това съдържанието на ябълчена киселина често се смята за един от основните показатели, които се използват при определяне на датата за гроздобер. Малко количество млечна киселина се получава от дрождевите клетки по време на ферментацията. Въпреки това, когато млечната киселина се наблюдава като основно присъствие във виното, тя идва от малолактичната ферментация (Jackson, 2014).

Другите киселини в нашите проби показаха много сходни резултати за червените и белите вина. При червените вина млечната киселина присъства в по-висока концентрация, отколкото в белите вина. Не открихме млечна киселина в Шардоне-Коломбард. От друга страна, ябълчената киселина има по-високи концентрации в белите вина, отколкото в червените. Това е така, защото малолактичната ферментация има важно значение най-вече при

(Gamay 0,78 g/l and Cabernet Sauvignon 0.79 g/l). As you can see on the Table 1, white wines contain lower content of acetic acid than reds.

Citric acid was also present in standard concentration (0.5 g/l), only wine Pinot Gris has higher content 0.69 g/l. Very important parameter is sugar content, respective presence of glucose and fructose (or sucrose) in wine.

Total sugar content (reducing sugars) are important in categorization by sweetness. Still wines in Slovakia categorized by total sugar content: 0-4 g/l are dry, 4.1-12 semidry, 12.1-45 semisweet and >45 g/l sweet. At this reason all of our studied wines were categorized as semidry wines (dry in label).

Tartaric acid is the major grape acid and its concentration not to decline markedly during grape ripening.

Malic acid may constitute about half the total acidity of grapes and wine.

Therefore, malic acid content has often been one of the prime indicators used indetermining harvest date.

A small amount of lactic acid is produced by yeast cells during fermentation.

However, when lactic acid occurs as a major constituent in wine, it comes from malolactic fermentation (Jackson, 2014).

Other acids in our samples have very similar results for red and white wines. In red wines the lactic acid present in higher concentration than in white wines. We not detected lactic acid in Chardonnay-Colombard.

On the other hand, malic acid has higher concentrations in white wines than in red. It’s because the malolactic fermentation is important mostly in red winemaking process, and in this reason the malic acid процеса на производство на червени вина, поради което ябълчената киселина се превръща в млечна киселина.

Глицеролът е основен компонент на виното (2-15 g/L) и неговото определяне в различните етапи на процеса на винопроизводството осигурява информация за контрола на качеството (Bauer et al., 2008).

В сухото вино глицеролът е най-разпространеното съединение след водата и етанола. Често е с по-високо съдържание в червени (~ 10 g/l), отколкото в бели (~ 7 g/l) вина. Смята се, че има сензорно значение, особено при възприемането на вискозитета. Глицеролът също има умерено сладък вкус. Най-„глицероловото” вино е Cabernet Sauvignon с 11,7 g/l и Tempranillo (11 g/l).

Сензорен анализ

Сензорният анализ на вината включва 100-точково оценяване с резултати: 87 точки (т.) Tempranillo > 85 т. Gamay > 82 т. Шардоне-Коломбард > 80 т. Каберне Совиньон / Киантиан > 77 т. Пино Гри.

Ароматът на виното е сложно равновесие на летливи съединения, произхождащи от гроздето (сортови и предферментационни аромати), втори-чни продукти, образувани по време на ферментация на виното (ферментативни аромати) и по време на неговото стареене (пост-ферментативни аромати) (Swiegers et al. 2005 г.). Виното съдържа повече от 1000 ароматни съединения с различна полярност, летливост и ароматно въздействие, които са били идентифицирани във винения аромат в широки концентрационни диапазони - ng, µg или mg/l (Ferreira, 2010).

Ароматът е важна характеристика на виното (Jiang et al., 2013; Zhang et al., 2013). Много фактори оказват влияние върху него, като сорта на гроздето, климатичните условия, агротехническите мероприятия и т.н. (Berdeja et al., 2014; Dennis et al., 2012).

Първите две проби вина (бели вина) бяха напълно различни в сензорен

is convert to lactic acid.

Glycerol is a major component of wine (2–15 g/L), and its determination at various stages of wine-making process provides quality control information (Bauer et al., 2008).

In dry wine, glycerol is commonly the most abundant compound, after water and ethanol. It is often higher in content in red (~10 g/liter) than white (~7g/liter)wines. It was often assumed to be of sensory significance, notably in viscosity perception. Glycerol also possesses a moderately sweet taste. The most “glycerol” wine was Cabernet Sauvignon with 11.7 g/l and Tempranillo (11 g/l).

Sensory analysis

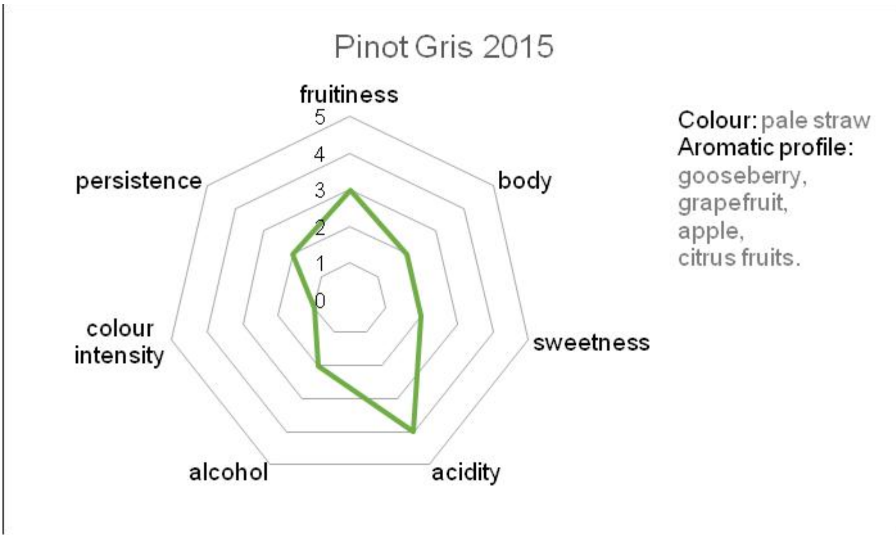
Sensory analysis of wines includes 100-point scale test with results: 87 points (p.) Tempranillo >85 p. Gamay > 82 p. Chardonnay-Colombard > 80 p. Cabernet Sauvignon / Chiantiand > 77 p. Pinot Gris.

The aroma of wine is a complex equilibrium of volatile compounds that originate from grapes (varietal and pre-fermentative aromas), secondary products formed during the wine fermentation (fermentative aromas) and ageing (post-fermentative aromas) (Swiegers, et al., 2005). Wine contains more than 1000 aroma compounds with different polarities, volatilities and odour impacts have been identified in wine aromas with a wide concentration range ng, µg or mg/l (Ferreira, 2010).

Aroma is an important attribute of the wine (Jiang et al., 2013; Zhang et al., 2013). Many factors influence the aroma attribute such as the grape variety, climate conditions, vineyard management practices and etc. (Berdeja et al., 2014; Dennis et al., 2012).

The first two wine samples (white wines) were totally differ.ent in sensory аспект. Това зависи не само от сортовите характеристики, но и от съдържанието на захар, местоположението на лозето или страната на произход. Бяло вино от Италия (Пино Гри или Пино Гриджо) (Фигура 1) има бледо жълт цвят, краткотрайна устойчивост (1-2 секунди) и най-вече киселинен характер. Това вино е с малко остра миризма, със средна плодовитост и с вкус наподобяващ цариградско грозде, кисела ябълка или цитрусови плодове.

aspect. It is depends not only from varietal characteristics, but also from sugar content, vineyard position or country of origin. White wine from Italy (Pinot Gris or Pinot Grigio) (Figure 1) has pale straw colour, short persistence (1-2 second), and mostly acidic character. This wine was a little bit tangy with medium fruitiness and smells and taste like gooseberries, sour apples or citrus fruits.



Фиг. 1. Сензорен профил на Pinot Gris 2015
Fig. 1. Sensory profile of Pinot Gris 2015

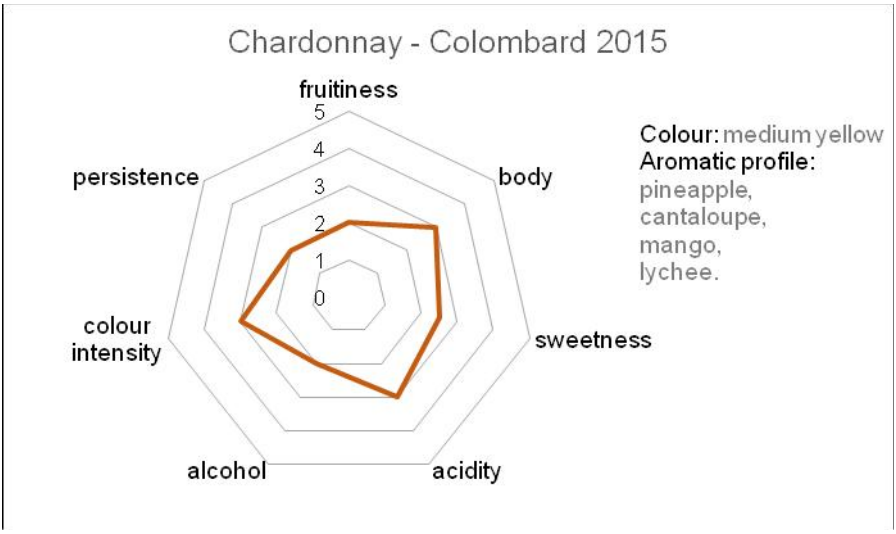
Второто бяло вино от Югоизточна Австралия е комбинация от Шардоне и Коломбард (Фигура 2). Има аромат на тропически плодове, напр. ананас, лимон и вкусове на манго, пъпеш и личи. Това вино е по-малко плодово и кисело в сравнение с Pinot Gris. Виното има средно жълт цвят със средно ниска устойчивост (3-4 сек.), но е лесно за пиене.

Вкусът и ароматните съединения в узрялото грозде зависят от множество променливи, включително сортът, условията на околната среда по време на вегетационния период и културните практики. В гроздовите плодове има стотици съединения,

The second white wine from south eastern Australia was a blend of Chardonnay and Colombard (Figure 2). It was smells after tropical fruits, e.g. pineapple, or lemon and tastes after mango, cantaloupe and lychee. This wine was less fruity and acidy than Pinot Gris. Wine has medium yellow colour with medium-low persistence (3-4 sec.) but easy to drink.

The flavour and aroma compounds in ripe grapes depend on multiple variables, including variety, environmental conditions during the growing season and cultural practices. In grape berries there are hundreds of compounds that could potentially които потенциално могат да допринесат за вкуса и аромата на виното. Виното е сложна смес, в която вкусовите и ароматните съединения имат множествен произход (Dunlevy et al., 2009). Сред съединенията, отговорни за винения аромат, са терпеноли, С13 норизопреноиди, алкохоли, естери, летливи киселини и летливи феноли (Aznar et al. 2001, Ferreira et al., 2002, Rap and Mandery, 1986). Летливите съставки на гроздето се засягат при отстраняването на листата (Roberts et al., 2007)

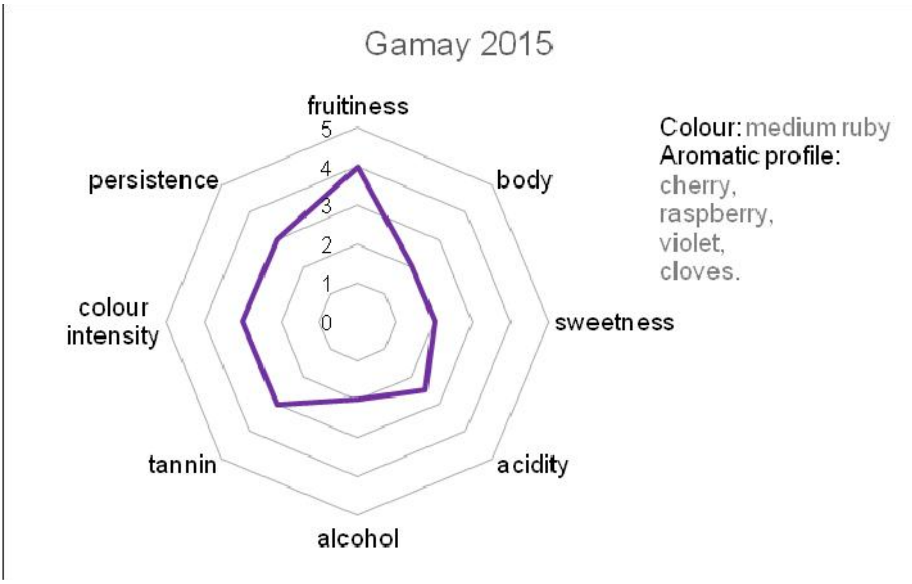
contribute to the flavour and aroma of wine. Wine is a complex mixture in which flavour and aroma compounds have multiple origins (Dunlevy et al., 2009).Among the compounds responsible for wine aroma are terpenols, C13norisoprenoids, alcohols, esters, volatile acids and volatile phenols (Aznar et al., 2001; Ferreira et al., 2002; Rap and Mandery, 1986).The volatile composition of grapes has been shown to be affected by leaf removal (Roberts et al., 2007).



Фиг. 2. Сензорен профил на Шардоне- Colombard 2015
Fig. 2. Sensory profile of Chardonnay – Colombard 2015

Фигура 3 показва сензорния профил на виното от Франция, Beaujolais - Gamay. Това вино е светло, свежо и плодово, с нисък танин. Вино със среден рубинен цвят и същата интензивност е типично за вината от Beaujolais. Устойчивостта е средна. Плодовитостта е най-важният параметър в това вино. Виното има аромат на череши, малини, а също така има вкус на теменужки и карамфил. Тези вина са добри само в годината на добиване на реколтата и не се препоръчват за дълго съхранение.

Figure 3 shows the sensory profile of wine from France, Beaujolais – Gamay. This wine was light, fresh and fruity, with low tannin. Wine with medium ruby colour and same intensity, it is typical for wines from Beaujolais. Persistence was only medium. The fruitiness was the most important parameter in this wine. Wine smells after cherries, raspberries with the same taste and tones of violet and cloves. These wines are good only in young vintages, and not recommended for long storage.



Фиг. 3. Сензорен профил за Gamay 2015
Fig. 3. Sensory profile of Gamay 2015

От друга страна, Tempranillo (Фигура 4) от лозаро-винарския регион Ла Манча (Испания) е напълно различно от френското Gamay. Това вино е с тъмно червен цвят, средно устойчиво (4-5 сек.) и има вкус и мирис, напомнящ на черница, череша, кафе, дъб и малко на дима на тютюневи листа. Това вино принадлежи към категорията за стареене "crianza". Интензитетът на цвета, тялото и съдържанието на танини са средно-високи. Това е най-доброто вино от сензорна гледна точка.

Tempranillo е най-разпространеното от разнообразните сортове от червено грозде в Испания, което обхваща общо 205,975 ха (20% от общата площ на лозята в Испания), макар че повечето от тях се отглеждат в условия на дъждове с типични ниски добиви (≤6500kg/ha) (Gamero et al ., 2014).

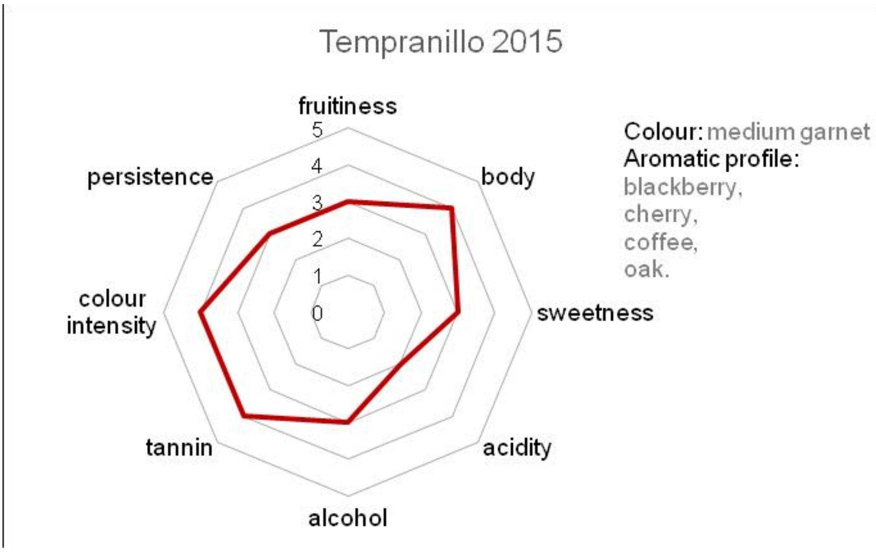
В Испания старите червени вина се определят в зависимост от времето на съхранение в дърво и в бутилка. Така, терминът "crianza" се използва в D.O. Ла Манча, за да опише вината, които са били държани най-малко 6 месеца в дървени бъчви и още 12

On the other hand Tempranillo (Figure 4) from La Mancha wine region (Spain) was totally different from French Gamay. This wine was medium garnet colour, medium persistence (4-5 sec.) and smells and tastes like blackberry, cherry, coffee, oak and little bit after tobacco leaf and smoke. This wine was belongs to the “crianza” aging category. The colour intensity, body and tannin content were in medium-high level. It was the best wine from a sensory point of view.

Tempranillo is the most common variety of red grape in Spain comprising a total of 205,975 ha (20% of Spain’s total vineyard area), though most of these are cultivated under rainfed conditions with typically low yields (≤6500kg/ha) (Gamero et al., 2014).

In Spain, aged red wines are defined according to the time of storage in wood and in bottle. Thus, the term “crianza” is used in D.O. La Mancha to describe wines that have been kept for at least 6 months in wood barrels and a further 12 months in bottles. The term месеца в бутилки. Терминът "Резерва" се отнася за вина, които са били държани най-малко 12 месеца в дървени бъчви и 24 месеца в бутилки. И накрая, "gran reserva" се отнася за вина, които са били държани поне 24 месеца в дървесина и 36 месеца в бутилки (Castro-Vázquez et al., 2011).

“reserva” applies to wines that have been kept for at least 12 months in wooden barrels and 24 months in bottles. Finally, “gran reserva” refers to wines that have been kept for at least 24 months in wood and 36 months in bottles (Castro-Vázquez et al., 2011).



Фиг. 4. Сензорен профил на Tempranillo 2015
Fig. 4. Sensory profile of Tempranillo 2015

Сензорният профил на виното Chianti (Фигура 5) от Тоскана (Италия) има 6 средни и 2 средно ниски параметри. Не знаем точния състав на това вино. Той не беше упоменат на етикета. Цветът е средно рубинен със средна устойчивост. Това вино има аромат на къпини и е с вкус на плодове от къпини и вишни, съчетани с нар (киселинност). Вкусът не беше силен, напротив, воднист.

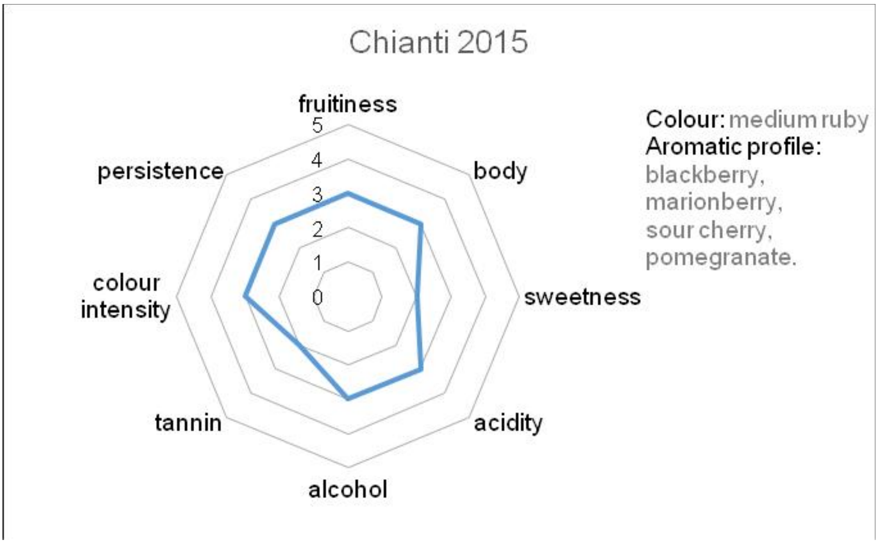
Chianti е направено от 70% Sangiovese, 15% Canaiolo и 15% Malvasia Bianca и е създадено в средата на XIX век. Първата дефиниция за винената област, наречена Chianti, е направена през 1716 година. Тя описва района близо до селата Gaiole, Castellina и Radda; т.нар. "Лега дел Кианти" и по-късно "Провинция дел Кианти" (провин-

Sensory profile of Chianti (Figure 5) wine from Tuscany (Italy) has 6 medium and 2 medium-low parameters. We don’t know the exact composition of this wine. It wasn’t on the label. Colour was medium ruby with medium persistence. This wine smells against blackberries and taste like marion berries and sour cherry combined with pomegranate (acidity). The taste was not strong on the contrary, watery.

Chianti made of 70% Sangiovese, 15% Canaiolo and 15% Malvasia Bianca, and was created in the middle of the 19th century. The first definition of a wine-area called Chianti was made in 1716. It described the area near the villages of Gaiole, Castellina and Radda; the so-called Lega del Chianti and later Provincia del Chianti (Chianti province).

ция Чанти). През 1932 г. районът Chianti е изцяло преразгледан и разделен на седем подзони: Classico, Colli Aretini, Colli Fiorentini, Colline Pisane, Colli Senesi, Montalbano и Rufina (Robinson, 2006).

In 1932 the Chianti area was completely re-drawn and divided in seven sub-areas: Classico, Colli Aretini, Colli Fiorentini, Colline Pisane, Colli Senesi, Montalbano and Rùfina (Robinson, 2006).



Фиг. 5. Сензорен профил на Chianti 2015
Fig. 5. Sensory profile of Chianti 2015

Последното вино е Каберне Совиньон (Фигура 6) от Южна Африка (Western Cape). Каберне Совиньон е най-подходящия син сорт грозде за името. Това вино има силен рубинен цвят и е със средна устойчивост. Ароматичният профил е съставен от касис, вишна, слива и кожа. Виното има средно-висока интензивност на цвета, алкохол и киселинност. От всички 4 червени вина тази проба има най-високо съдържание на алкохол по сензорна оценка, което е потвърдено чрез FT-IR спектроскопия (13.5%).

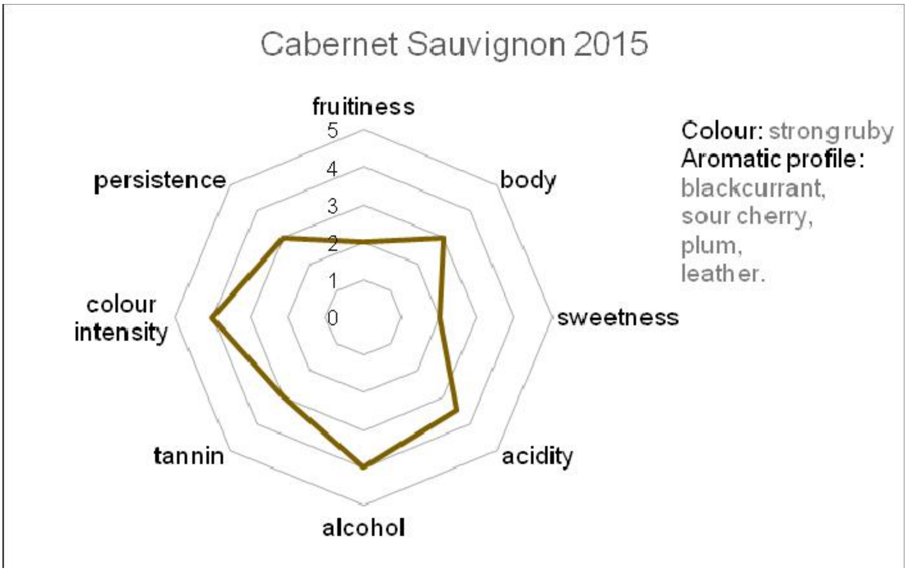
Според Rigou et al. (2013) ароматът на касис е типичен и за Совиньон (бяло) вино. Типичният аромат идва от сортовия тиол 4-меркапто-4-метил-2-пентанон (4MMP), който може да бъде отговорен за развитието на този аромат и в червените вина. Сортови тиоли като 4-меркапто-4-метил-2-пентанон (4MMP),

The last wine was Cabernet Sauvignon (Figure 6) from South Africa (Western Cape). Cabernet Sauvignon is the most planned blue grape variety on the word. This wine has strong ruby colour with medium persistence. Aromatic profile was composed from blackcurrant, sour cherry, plum and leather. Wine has medium-high colour intensity, alcohol and acidity. From all 4 red wines this sample has the highest alcohol content in sensory analysis and also confirmed by FT-IR spectroscopy (13.5%).

According Rigou et al. (2013) the blackcurrant aroma is typical also for Sauvignon (white) wine. The typical aroma comes from varietal thiol 4-mercapto-4 methyl-2-pentanone (4MMP) and could be responsible for such aroma development also in red wines. Varietal thiols such as 4-mercapto-4-methyl-2-pentanone (4MMP), 3-(mercapto) hexyl

3- (меркапто) хексил ацетат (3МХА) и 3-меркапто-1-хексанол (3МН) L, 4 ng/L и 60 ng/L, са мощни ароматични летливи съединения, които съставлят сортовия аромат на виното. Те могат да се намерят в Cabernet Sauvignon, смеси от Бордо и др. (Peyrot des Gachons et al., 2002; Pineau et al., 2009).

acetate (3MHA) and 3-mercapto-1-hexanol (3MH), with perception thresholds in wine of 3 ng/L, 4 ng/L and 60 ng/L, respectively, are powerful odoriferous volatile compounds that constitute the varietal aroma of a wine. They can find them in Cabernet Sauvignon, Bordeaux blends etc. (Peyrot des Gachons et al., 2002; Pineau et al., 2009).



Фиг. 6. Сензорен профил на Cabernet Sauvignon 2015
Fig. 6. Sensory profile of Cabernet Sauvignon 2015

Антиоксидантна активност

Най-висока антиоксидантна активност чрез ABTS (Таблица 2) е открита в проба Tempranillo и намалява в следния ред: Каберне Совиньон > Гамай > Кианти > Шардоне > Пино Гри. В червените вина е открита по-висока активност в сравнение с белите вина, което не е изненадващо поради съдържанието на антоциани в тези видове вина. Garaguso и Nardini (2015) проверяват антиоксидантната активност на червено органично (без добавяне на сулфити) и конвенционално вина по ABTS метода и установяват по-висока активност в органичните вина в сравнение с конвенционалните, въпреки че разликите не са статистически значими. В тяхното проучване проба на Cabernet Sauvignon от биологично

Antioxidant activity

The highest antioxidant activity by ABTS (Table 2) was detected in sample Tempranillo and decreased in following order: Cabernet Sauvignon > Gamay > Chianti > Chardonnay > Pinot Gris. Higher activity was signed in red wines with compare to white wine, which is not surprising due to the anthocyanins content in these kinds of wines. Garaguso and Nardini, (2015) tested antioxidant activity of red organic (without sulfites addition) and conventional wines by ABTS method and found higher activity in organic wines compared to conventional wines, although differences were not statistically significant. In their study sample of Cabernet Sauvignon производство показва антиоксидантна активност 15,2 mM TEAC/L, докато пробата от конвенционалното производство показва 15,5 mM TEAC/L. Tauhen et al., (2015) изследват антиоксидантната активност на вина от Грузия, Централна и Западна Европа и установяват, че грузинските червени вина показват по-висок антиоксидантен потенциал от червените вина от Централна и Западна Европа. В своето проучване грузинският местен сорт Saperavi показва най-висок антиоксидантен ефект, следван от Pinot Noir и Cabernet Sauvignon. Освен това грузинските червени вина се отличават от червените вина от Централна и Западна Европа с по-високо съдържание на кверцетин, камферол и сиринтова киселина и с по-ниско съдържание на транс-ресвератрол. В нашето изследване тествахме вина от Австралия, Африка, Централна и Западна Европа. Няколко проучвания потвърждават, че антиоксидантният ефект и съдържанието на феноли във вината са повлияни от географския произход и от сорта, както и от винопроизводството (Garaguso and Nardini, 2015, Ivanova-Petropulos et al., 2015, Tauchen et al., 2015).

from organic production had antioxidant activity 15.2 mM TEAC/L whereas sample from conventional production 15.5 mM TEAC/L. Tauhen et al., (2015) tested antioxidant activity of wines from Georgian, Central and West Europe and found that Georgian red wines showed higher antioxidant potential than red wines from Central and Western Europe. In their study Georgian native cultivar Saperavi showed highest antioxidant effect followed by Pinot Noir and Cabernet Sauvignon. Further, Georgian red wines differed from Central and West European red wines by higher content of quercetin, kaempferol, and syringic acid and by lower content of *trans*-resveratrol. In our study we tested wines from Australia, Africa, Central and West Europe. Several studies confirmed that antioxidant effect and content of phenolics in wines are influenced by geographical origin and by cultivar as well as wine-making technology (Garaguso and Nardini, 2015; Ivanova-Petropulos et al., 2015; Tauchen et al., 2015).

Таблица 2. Изследване на обезцветяването на ABTS радикален катион и молибден, намаляващо антиоксидантната мощност (MRAP) на оценените вина
Table 2. ABTS radical cation decolorization *assay* and molybdenum reducing antioxidant power (MRAP) of evaluated wines

Проба / Sample	ABTS [mg TEAC/L]	MRAP [mg TEAC/L]
Tempranillo	1008.28 ±30.25	2608.36 ±0.83
Cabernet Sauvignon	996.19 ±14.34	1154.73 ±6.91
Gamay	886.56 ±9.56	958.91 ±5.09
Chianti	796.96 ±4.79	1159.54 ±6.06
Chardonnay	535.76 ±8.97	1197.07 ±6.79
Pinot Gris	393.74 ±17.93	883.23 ±8.09

TEAC – Trolox equivalent antioxidant capacity; ABTS (2,2´-azinobis[3-ethylbenzthiazoline]-6-sulfonic acid); ±standard deviation
TEAC - еквивалентен на Trolox антиоксидантен капацитет; ABTS (2,2'-азинобис [3-етилбензтиазолин] - 6-сулфонова киселина); ± стандартно отклонение

Чрез метода на молибден, намаляващ антиоксидантното действие, най-добри резултати бяха открити в проба Tempranillo (Таблица 2) и намаляваха в следния ред: Chardonnay > Chianti > Cabernet Sauvignon > Gamay > Pinot Gris. Тенденцията на антиоксидантната

By molybdenum reducing antioxidant power method the best values were detected in sample Tempranillo (Table 2) and decreased in following order: Chardonnay > Chianti > Cabernet Sauvignon > Gamay > Pinot Gris. The tendency of antioxidant activity by this активност по този метод е малко по-различна в сравнение с метода ABTS. Основната причина е, че методът ABTS и методът - молибден, намаляващ антиоксидантната мощност, се извършват на различен принцип. При ABTS метода, антиоксидантите от пробата елиминират синтетичния радикал; тъй като, като елиминатори работят предимно минерални съединения, витамини, както и полифеноли. При молибден, намаляващ антиоксидантните методи, антиоксидантите (главно полифеноли и естествени оцветители) от пробата действат като редуктони и намаляват Mo VI до Mo V. Поради тази причина е необходимо за тестване на антиоксидантната активност на пробата да се използва повече от един метод.

Виното Tempranillo има най-висока активност и при двата използвани антиоксидантни методи. По-високата активност чрез метода на молибден, намаляващ антиоксидантната мощност, се открива и във виното Шардоне. В проучването на Ma et al., (2014) са оценени бели вина и от тях Шардоне и Ченин Блан показават най-висока антиоксидантна активност, както и фенолно съдържание. В нашето изследване в пробата на Pinot Gris е установена най-ниската активност и при двата използвани метода.

Общо полифенолно, флавоноидно и съдържание фенолна киселина

Общото съдържание на полифенол (Таблица 3) в изследваните вина е най-добро при пробата на Chianti и намалява в следния ред: Каберне Совиньон > Темпранило > Гамай > Шардоне > Пино Грис. Най-висока стойност е открита в пробата на Chianti и Cabernet Sauvignon. Lucena et al. (2010) установяват в Cabernet Sauvignon количество общи полифеноли – 5400 mg GAE/L, което е няколко пъти по-високо в сравнение с нашето изследване. Стратил и др., (2008) публикуват в тяхно проучване установено количество общи полифеноли в Каберне Совиньон от Чехия – 1550 mg/L и в Каберне Совиньон от Аржентина – 1973 mg/L. Mitić et al. (2010) изследват общите полифеноли във вино

method is little different with compare to ABTS method. The main cause is that ABTS and molybdenum reducing antioxidant power method run in different principle. In ABTS antioxidants from sample eliminate synthetic radical; as eliminators works mainly mineral compounds, vitamins as well as poylphenols.

In molybdenum reducing antioxidant power method antioxidants (mainly polyphenols and natural colorants) from sample act as reductones and reduce Mo^{VI} to Mo^{V}. From this reason is necessary for testing antioxidant activity of sample use more than one method.

Tempranillo wine had the highest activity in both used antioxidant method. The higher activity by molybdenum reducing antioxidant power method was detected also in Chardonnay wine. In study Ma et al., (2014) were evaluated white wines and from these Chardonnay and Chenin Blanc showed the highest antioxidant activity as well as phenolic contents. In sample of Pinot Gris was detected in our study the lowest activity by both used method.

Total polyphenol, flavonoid and phenolic acid content

Total polyphenol content (Table 3) in evaluated wines was the best in sample of Chianti and decreased in following order: Cabernet Sauvignon > Tempranillo > Gamay > Chardonnay > Pinot Gris. The highest value was found in sample of Chianti and Cabernet Sauvignon. Lucena et al., (2010) determined in Cabernet Sauvignon amount of total polyphenols 5400 mg GAE/L which is several times higher with compare to our study. Stratil et al., (2008) published in their study amount of total polyphenols in Cabernet Sauvignon from Czech Republic 1550 mg/L and in Cabernet Sauvignon from Argentina 1973 mg/L. Mitić et al., (2010) tested total

Шардоне (253.8 mg GAE/L) и установяват сходни на установените в нашето проучване резултати, където в Шардоне се установи 279.22 mg GAE/L количество полифеноли. Статистически силна корелация ($p \leq 0,05$) е наблюдавана в нашето изследване между общото съдържание на полифеноли и ABTS метода $\rho = 0,921$).

polyphenols in Chardonnay wine (253.8 mg GAE/L) and found similar results like in our study, when in Chardonnay wine was determined 279.22 mg GAE/L amount of polyphenols. Statistically strong correlation ($p \leq 0.05$) was observed in our study between total polyphenol content and ABTS method ($\rho = 0.921$).

Таблица 3. Общо съдържание на полифеноли, фенолна киселина и флавоноиди на оценените вина

Table 3. Total polyphenol, phenolic acid and flavonoid content of evaluated wines

Проба / Sample	Total polyphenols [mg GAE/L]	Total phenolic acids [mg CAE/L]	Total flavonoids [mg QE/L]
Tempranillo	702.56 ±2.36	526.29 ±3.46	362.89 ±14.85
Cabernet Sauvignon	710.33 ±8.64	528.55 ±0.83	328.83 ±2.39
Gamay	684.22 ±9.86	532.96 ± 3.19	294.07 ± 5.22
Chianti	718.67 ±9.43	531.69 ± 3.61	221.45 ± 5.42
Chardonnay	279.22 ±0.79	119.92 ± 4.99	24.31 ± 3.41
Pinot Gris	222.01 ±7.28	83.55 ± 9.29	5.26 ± 0.07

GAE – Gallic acid equivalent; QE – quercetin equivalent; CAE – caffeic acid equivalent; ±standard deviation
GAE - еквивалент на глюконова киселина; QE - еквивалент на кверцетин; CAE - еквивалент на кофеинова киселина; ± стандартно отклонение

Общото съдържание на флавоноиди (Таблица 3) в изследваните вина е най-високо в пробата на Tempranillo и намалява в следния ред: Каберне Совиньон > Гамай > Кианти > Шардоне > Пино Грис. Подобно на общия съдържание на полифеноли, в пробата Cabernet Sauvignon е открита по-висока стойност на общи флавоноиди. Jiang и Zhang (2012) проверяват общите флавоноиди във вина от Cabernet Sauvignon от четири различни района на отглеждане на грозде в Китай и резултатите им за този вид вино варират от 1129.8 до 2710.4 mg GAE/L. Ma et al. (2014) установяват, че във виното от Cabernet Sauvignon доминират флавоноидите – катехин, следван от кверцетин, в Gamay е сходно, т.е. доминира катехин, следван от рутин. Тези автори потвърждават също, че червените вина имат по-голямо количество флавоноиди, подобно на тези в нашето изследване. В Шардоне и Пино Гри се установи най-

Total flavonoid content (Table 3) in tested wines was the highest in sample of Tempranillo and decreased in following order: Cabernet Sauvignon > Gamay > Chianti > Chardonnay > Pinot Gris. Similarly like in total polyphenols, higher value of total flavonoids was found in Cabernet Sauvignon sample.

Jiang and Zhang (2012) tested total flavonoids in Cabernet Sauvignon wines from four different grape-growing region in China and their results in this kind of wine ranged from 1129.8 to 2710.4 mg GAE/L. Ma et al. (2014) found that in Cabernet Sauvignon wine is dominant from flavonoids catechin following by quercetin, in Gamay is similarly dominant catechin following by rutin.

These authors also confirmed that red wines had higher amount of flavonoids similar like in our study.

In Chardonnay and Pinot Gris was

ниското съдържание на флавоноиди. Mitić et al. (2014) откриват в Шардоне количество на флавоноиди от 46.29 mg CE/L (катехинов еквивалент). Статистически силна корелация (p ≤ 0,05) е наблюдавана в нашето изследване между общото съдържание на флавоноиди и метода ABTS (p = 0,912).

Общото съдържание на фенолна киселина (Таблица 3) в изследваните вина е най-високо в пробата на Gamay и намалява в следния ред: Chianti > Каберне Совиньон > Tempranillo > Шардоне > Pinot Gris. Ma et al., (2014) определят присъствието на фенолни киселини в Gamay вино и установяват, че хидроксикаминова киселина доминира в това вино, кофеинова киселина, следвана от хлорогенна и p-кумарова киселина, докато от хидроксибензоените киселини доминира салициловата киселина, следвана от галова и гентизинова киселина. Burin et al., (2011) определят във вино от Cabernet Sauvignon, кофеинова киселина, p-кумарова и ферулова киселина. Белите вина имат по-малко количество от тези съединения. В Шардоне доминират кофеинова и гентизинова киселина (Ma et al., 2014). Статистически силна корелация (p ≤ 0,05) е наблюдавана в нашето изследване между общото съдържание на фенолни киселини и ABTS метода (p = 0,917).

Общо съдържание на антоциани

При червените вина е установено общото съдържание на антоциани, което е най-високо в пробата на Chianti – 751.45 ± 5.83 mg/L и намалява в следния ред: Каберне Совиньон (534.36 ± 2.58 mg/L) > Tempranillo (450.87 ± 5.44 mg / > Gamay (166.99 ± 3.98 mg/L). Антоцианите в червените вина са много важни, тъй като цветът на червеното вино се дължи главно на антоциани, получени от плодовете (мономерни или свободни "антоциани") и полимерни пигменти, образувани от антоцианите чрез кондензация с други флавоноидни съединения и вероятно алдехиди при стареене на виното (Bakker et al., 1986). Aquirre et al., (2011)

determined the lowest content of total flavonoids. Mitić et al. (2014) found in Chardonnay amount of flavonoids 46.29 mg CE/L (catechin equivalent). Statistically strong correlation (*p* ≤ 0.05) was observed in our study between total flavonoid content and ABTS method (*ρ* = 0.912).

Total phenolic acid content (Table 3) in tested wines was the highest in sample of Gamay and decreased in following order: Chianti > Cabernet Sauvignon > Tempranillo > Chardonnay > Pinot Gris. Ma et al., (2014) determined in Gamay wine presence of phenolic acids and found that from hydroxycinnamic acids is dominant in this wine caffeic acid following by chlorogenic and *p*-coumaric acid, whereas from hydroxybenzoic acids is dominant salicylic acid following by gallic and gentisic acid. Burin et al., (2011) determined in Cabernet Sauvignon wine caffeic acid, *p*-coumaric and ferulic acid. White wines had lower amount of these compounds. In Chardonnay is dominant caffeic and gentisic acid (Ma et al., 2014). Statistically strong correlation (*p* ≤ 0.05) was observed in our study between total phenolic acid content and ABTS method (*ρ* = 0.917).

Total anthocyanin content

In red wines was also detected total anthocyanin content which was the highest in sample of Chianti – 751.45 ±5.83 mg/L and decreased in following order: Cabernet Sauvignon (534.36 ±2.58 mg/L) > Tempranillo (450.87 ±5.44 mg/L) > Gamay (166.99 ±3.98 mg/L). Anthocyanins in red wines are very important because the color of red wine is due principally to anthocyanins derived from the fruit (monomeric or free' anthocyanins) and polymeric pigments formed from the anthocyanins by condensation with other flavonoid compounds and probably aldehydes during wine aging (Bakker et al., 1986). Aquirre et al., (2011) tested anthocyanin изследват съдържанието на антоциани в червени вина от чилийско Каберне Совиньон и като доминиращи антоциани в тези вина са установени витизин А от malvidin-3-O-глюкозид. Тези автори съобщават също, че съдържанието на антоциани в 6, 7 и 8 годишно вино Каберне Совиньон, съхранявано в бутилки, е много различно от съдържанието в младо вино. Свободните антоцианин намаляват значително с възрастта, като едновременно с това се увеличават кондензираните продукти. Продуктите от кондензацията на антоциани в старите червени вина от Cabernet Sauvignon са отговорни за техния по-нисък антиоксидантен капацитет в сравнение с този на младите вина.

composition in aged Chilean Cabernet Sauvignon red wines and as dominant anthocyanins in this wines found vitisin A of malvidin-3-O-glucoside. These authors also reported that the anthocyanins content in 6, 7 and 8 year old Cabernet Sauvignon wine stored in bottles are very different from the content in young wine. Free anthocyanins decreases significantly with age, with the concomitant increase in condensed products. The condensation products of anthocyanins in aged Cabernet Sauvignon red wines are responsible of their lower antioxidant capacity in relation to young wines.

ИЗВОДИ

В заключение, потвърдено е, че червените вина имат по-високи нива на общи полифеноли, флавоноиди, както и антоцианин, отколкото белите вина, а същият е резултатът и за антиоксидантния капацитет. Общите феноли и антиоксидантната активност чрез ABTS метода са в силна корелация. Резултатите от биологичната активност показват, че Tempranillo има най-добрата активност, изпитана чрез метода на молибден, намаляващ антиоксидантната мощност, както и чрез ABTS метода. В тази проба беше открито и най-високото съдържание на общия флавоноиди. Определянето на биологичната активност може да бъде направено чрез практично и просто измерване за оценка на характеристиките на различни нискобюджетни вина. Ние също така установихме 14 химически съединения и направихме сензорна оценка чрез 100-бален тест. Ние изразихме сензорния профил на виното чрез радарните графики. Резултатите показаха, че най-доброто вино е испанското Tempranillo. Не сме забелязали в сензорната оценка каквито и да е развали на виното или недостатъци.

CONCLUSIONS

In summary, it was verified that the red wines had higher levels of total polyphenols, flavonoids as well as anthocyanins than white wines and the same is obtained for antioxidant capacity. Total phenolics and antioxidant activity by ABTS method were highly correlated. Results of biological activity showed that Tempranillo had the best activity tested by molybdenum reducing antioxidant power method, and also by ABTS method. In this sample was also detected the highest content of total flavonoid. The determination of biological activity could be a practical and simple measurement to evaluate the characteristics of different low budget wines. We also measured 14 chemical parameters and sensorically evaluated with a 100-point test. We have expressed the sensory profile of wine by radar charts. The results showed that the best wine was Spanish Tempranillo. We did not notice in sensory evaluation any wine spoilage or faults.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Aquirre, M.J., M. Saacs, B. Matsuhiro, L. Mendoza, L.S. Santos and S. Torres**, 2011 Anthocyanin composition in aged Chilean Cabernet Sauvignon red wines. *Food Chemistry*, 129, 514-524.
2. **Aznar, M., R. López, J.F. Cacho and V. Ferreira**, 2001. Identification and quantification of impact odorants of aged red wines from Rioja. GC–olfactometry, quantitative GC–MS and odor evaluation of HPLC fractions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 2924-2929.
3. **Bakker, J., N.W. Preson and J. Timberlale**, 1986. The determination of anthocyanins in aging red wines: comparison of HPLC and spectral methods. *American Journal of Enology and Agricultural*, 37, 121-126.
4. **Basli, A., S. Soulet, N. Chaher, J.M. Mérillon, M. Chibane, J.P. Monti and et al.**, 2012. Wine polyphenols: potential agents in neuroprotection. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-14.
5. **Bauer, R., H. Nieuwoudt, F.F. Bauer, J. Kossmann, K.R. Koch and K.H. Esbensen**, 2008. FTIR Spectroscopy for Grape and Wine Analysis. *Analytical Chemistry*, 80, 1371-1379.
6. **Berdeja, M., G. Hilbert, Z.W. Dai, M. Lafontaine, M. Stoll, H.R. Schultz and S. Delrot**, 2014. Effect of water stress and rootstock genotype on Pinot Noir berry composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20, 409-421.
7. **Biasi, F., M. Deiana, T. Guina, P. Gamba, G. Leonarduzzi and G. Poli**, 2014. Wine consumption and intestinal redox homeostasis. *Redox Biol*ogy, 2, 795-802.
8. **Burin, U.M., G. Arcari, L.L.F. Costa and L.U.R. Bordignon,** 2011. Determination of the phenolic compounds in red wine by RP-HPLC method development and validation. *Journal of Chromatography Science*, 49, 647-651.
9. **Castro, L. -Vazquez, M.E. Alanon, E. Calvo, M.J. Cejudo, M.C. Diaz-Maroto and M.S. Perez-Coello**, 2011. Volatile compounds as markers of ageing in Tempranillo red wines from La Mancha DO stored in oak wood barrels. *Journal of Chromatography A*, 1218, 4910-4917.
10. **Dennis, E.G., R.A. Keyzers, C.M. Kalua, S.M. Maffei, E.L. Nicholson and P.K Boss**, 2012. Grape contribution to wine aroma: production of hexyl acetate, octyl acetate, and benzyl acetate during yeast fermentation is dependent upon precursors in the must. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 2638-2646.
11. **Dunlevy, J.D., C.M. Kalua, R.A. Keyzers and P.K. Boss**, 2009. The production of flavour and aroma compounds in grape berries. In: Grapevine Molecular Physiology and Biotechnology (2nd ed.), ed. by Roubelakis-Angelakis K.A. Springer Science, Berlin, Germany, pp. 293-340.
12. **Farmakopea Polska, V.**, 1999. Wyd. P.T. Farm. Warszawa, pp. 880-881.
13. **Ferreira, V.,** 2010. Volatile aroma compounds and wine sensory attributes. In: Managing Wine Quality. Woodhead Publishing, pp. 3-28.
14. **Ferreira, V., N. Ortín, A. Escudero, R. López and J. Cacho**, 2002. Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines. Aroma extract dilution analysis, quantitative determination and sensory reconstitution studies. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 4048-4054.
15. **Gamero, E., D. Moreno, M. Vilanova, D. Uriarte, M.H. Prieto and M.E.Valdés**, 2014. Effect of bunch thinning and water stress on chemical and sensory characteristics of Tempranillo wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20, 394-400.
16. **Garaguso, I. and M. Nardini**, 2015. Polyphenols content, phenolics profile and antioxidant activity of organic red wines produced without sulfur dioxide/sulfites

addition in comparison to conventional red wines. *Food Chemistry*, 171, 336-342.
17. **Ivanova-Petropulos, V., A. Ricci, D. Nedelkovski, V. Mouska, G.P. Parpinello and A. Versari**, 2015. Target analysis of bioactive phenolic compounds and antioxidant activity of Macedonian red wines. *Food Chemistry*, 171, 412-420.
18. **Jackson, S.R.**, 2014. Chemical constituents of grapes and wine. In: Wine Science, Fourth Edition: Principles and Applications. Academic Press, Elsevier, ISBN 13: 9780123814685, pp. 347-425.
19. **Jiang, B. and Z.W. Zhang**, 2012. Comparison af phenolic compounds and antioxidant properties of Cabernet Sauvignon and Merlot wines from four wine grape-growing regions in China. *Molecules,* 17, 8804-8821.
20. **Jiang, B., Z. Xi, M. Luo and Z. Zhang**, 2013. Comparison on aroma compounds in Cabernet Sauvignon and Merlot wines from four wine grape-growing regions in China. *Food Research International*, 51, 482-489.
21. **Lee, J., R.W. Durst and R.E. Wrolstad**, 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal Association of Official Analytical Chemists International*, 88, 1269-1278.
22. **Lucena, A.P.S., R.J.B. Nascimento, J.A.C. Maciel, J.X. Tauarer, J.M. Barbosa-Filho and E.J. Oliviera**, 2010. Antioxidant activity and phenolics content of selected Brazilian wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 30-36.
23. **Ma, T.T., X.Y. Sun, G.T. Gao, X.Z. Wang, X.Z. Liu, G.R. Du and J.C. Zhan**, 2014. Phenolic characterization and antioxidant capacity of young wines made from different grape varieties grown in Helanshan Doglu wine zone (China). *South African Journal of Enology and viticulture*, 35, 321-331.
24. **Mitić, M.N., M.V. Obradovic, R.B. Grahovac and A.N. Pavlović**, 2010. A comparison and phenolic levels of different varieties of Serbian white wines. *Molecules*, 15, 2016-2027.
25. OIV, 2016. Global state of conditions report: developments and trends. <http://www.oiv.int/public/medias/4570/en-communiqu-de-presse-16-avril.pdf>.
26. **Peyrot, des Gachons C., T. Tominaga and D. Dubourdieu**, 2002. Sulfur aroma precursor present in S-glutathione conjugate form: Identification of S-3-(hexan-1-ol)-Glutathione in must from Vitis viniferal. cv. Sauvignon Blanc. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4076-4079.
27. **Pineau, B., J.C. Barbe, C. Van Leeuwen and D. Dubourdieu**,2009. Examples of perceptive interactions involved in specific<< red-<< and << black-berry >> aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 3702-3708.
28. **Prieto, P., M. Pineda and P. Agular**, 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.
29. **Rap, A. and H. Mandery**,1986. Wine aroma. *Experientia*, 42, 873-884.
30. **Re, R.N., A. Pellegrini, A. Proteggente, M. Pannala, R. Yang and C. Rice**, 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
31. **Ribéreau-Gayon, P., Y. Glories, A. Maujean and D. Dubourdieu**, 2006. Handbook of Enology. 2nd ed., vol. 2, The chemistry of wine stabilization and treatment. John Wiley & Sons, Chichester, England, ISBN 978-0-470-01037-2, pp.451.
32. **Robert,s R.W., A.G. Reynolds and C. De Savigni**,2007. Composition and wine sensory attributes of Chardonay Musque from different viticultural treatments: implications for a wine grape quality model. *International Journal of Food Science*, 7, 57-83.

33. **Robinson, J.**, 2006. The Oxford Companion to Wine. Oxford University Press, Third Edition, ISBN 0-19-860990-6, pp. 162-163.
34. **SAS**, 2009. Users Guide Version 9. 2. SAS/STAT (r) SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
35. **Schrieks, I.C., R. van den Berg, A. Sierksma, J.W.J. Beulens, W.H.J. Vaes and H.F. Hendriks**, 2013. Effect of red wine consumption on biomarkers of oxidative stress. *Alcohol Alcohol*, 48, 153-159.
36. **Singleton, V.L. and J.A. Rossi**, 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Agricultural*, 6, 144-158.
37. **Stratil, P., V. Kubáň and J. Fojtová**, 2008. Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. *Czech Journal of Food Sciences*, 26, 242-253.
38. **Swiegers, J.H., E.J. Bartowsky, P.A. Henschke and I.S. Pretorius**, 2005. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavor. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11, 127-138.
39. **Tauchen, J., P. Marsik, M. Kvasnicova, D. Maghrade, L. Kokoska, T. Vanek and P. Landa**, 2015. *In vitro* antioxidant activity and phenolic composition of Georgian, Central and West Europe wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 113-121.
40. **Tuberoso, C.I.G., G. Serreli, F. Congiu, P. Montoro and A.M. Feno**, 2017. Characterization, phenolic profile, nitrogen compounds and antioxidant activity of Carignano wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, 60-68.
41. **Walzem, R.L.**, 2008. Wine and health: state of proofs and research needs. *Inflammopharmacology*, 16, 265–271.
42. **Willett, W.C.**, 2002. Balancing life-style and genomics research for disease prevention. *Science*, 292, 695-698
43. **Zhang, L., Y.S. Tao, Y. Wen and H.Wang**, 2013. Aroma evaluation of young Chinese Merlot wines with denomination of origin. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 34, 46-53.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (3), 103-116
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan
ISSN 1311-0489 (Print)
ISSN 2367-8364 (Online)

Въздействие на ултразвуковата техника върху хемометричните свойства на вината

Езги Дюндар, Хатидже Калкан Йълдъръм*

Егейски университет, Инженерен факултет, катедра „Инженерство на храните”, 35100 Борнова, Измир, Турция
**E-mail: hatice.kalkan.yildirim@ege.edu.tr*

Effects of ultrasound technique on chemometric properties of wines

Ezgi Dündar, Hatice Kalkan Yıldırım*

Ege University, Engineering Faculty, Department of Food Engineering, 35100 Bornova, Izmir, Turkey

РЕЗЮМЕ

Цветните и безцветни форми на фенолните съединения дават не само първата и непосредствена представа за виното, но също така са и показател за неговото качеството. Целите на настоящето изследване са да се определи влиянието от прилагане на ултразвук върху хемометричните свойства на различните вина. Гроздето от *Vitis vinifera* L. сортове Мерло, Аликант буше и Коломбард е обрано при оптимална зрялост (25 °Brix) и транспортирано до Експерименталната винарска изба. Винификацията е проведена в съответствие с общоприетите процеси за преработка на суровината за винопроизводство с изключение на добавката на SO_2 (не е прилагано сулфитиране). Получените вина са подложени на ултразвукова обработка при 40 kHz/10, 15, 20 и 40 минути, последвано от инкубиране в продължение на 3 и 6 ч при температура 25°C на тъмно. Във всички проби са определени основните и някои специфични параметри на виното: %D280, %D420, %D520,

SUMMARY

Colored and non-colored phenolic compounds of wines gives not only the first and immediate image of the wine, but also acts as a quality indicator of wine. So, the objectives of this study were to determine the influences of ultrasound applications on chemometrical properties of different wines.

Grapes of *Vitis vinifera* L. cvs. Merlot, Alicante bouschet and Colombard were harvested at optimum maturity (25 °Brix) and transported to the Experimental Winery. Wine production were done according to the accepted wine production procedures with exception of SO_2 (it was not added) addition.

Obtained wines were subjected to ultasonication at 40 kHz / 10, 15, 20 and 40 minutes followed by incubation for 3h and 6h at 25 °C in the dark. In all samples basic wine parameters and some specific parameters were determined: %D280, %D420, %D520, %D620, CD: Colour density, CI: Colour intensity, T: Tint value,

%D620, CD плътност на цвета, CI интензитет на цвета, T стойност на нюанса, dA%, %Y относителен дял на жълтия цвят, %R относителен дял на червения цвят и %B относителен дял на синия цвят. Допълнително са определени също корелацията между хемометричните свойства на виното и общите феноли, както и антиоксидантната активност на пробите. Стойностите на всички определени показатели са в характерните диапазони. Значителни разлики са установени при червените вина (Мерло и Аликант буше), третирани в продължение на 40 минути за параметрите на CIELAB. Резултатите от това проучване показват значението на произхода и сорта на гроздето за хемометричните свойства на вината и възможността за използване на този метод в промишлеността с различни цели.

Ключови думи: ултразвук, хемометрия, вина

dA %: Proportion of red color produced by flavylium cations, % Y: Proportion of yellow color, % R: Proportion of red color and % B:

Proportion of blue colour. Additionally, correlation of chemometric wine properties and total phenols, antioxidant activates were determined. All standard parameters were determined to be within required ranges. Significant differences were determined for red wines (Merlot and Alicante bouschet) concerning treatment done with duration of 40 minutes for CIELAB parameters. The results of this application demonstrated the importance of grape origin and varieties on chemometrical properties of wines and possibility of industrial evaluation of this technique with different purposes.

Key words: ultrasound, chemometry, wines

УВОД

Цветът на виното не е само първото нещо, което забелязваме, но също е и важна характеристика, която определя консуматорския интерес и дава информация за неговата възраст и условията на съхранение (Boido et al., 2006; Martín and Sun, 2013). Цветът на червените и белите вина се определя от съдържащите се цветни и безцветни фенолни съединения (Somers, 1998).

Ултразвукът може да бъде използван във винопроизводството за ускоряване процеса на стареене и за по-бърза екстракция (Martín and Sun, 2013). При обработката с ултразвук могат да се наблюдават някои химични реакции, поради промените в температурата, налягането и разпада на микромехурчетата. Тези химични реакции, които ултразвукът ускорява могат също така да предизвикат някои изменения във виното (Zhang et al., 2016). Въпреки че тази техника вече се използва, в литературата има малко информация относно нейния ефект върху цвета на виното. Zhang et al. съобщават, че обработката с ултразвук (100 kHz 60

INTRODUCTION

The color of wine is not only the first property to be noticed, but it is also an important property that determines the level of consumer acceptance and informs about wine age and storage conditions (Boido et al.,2006; Martínand Sun, 2013). The colors of red and white wines are derived from the colored and non-colored phenolic compounds found in wine (Somers, 1998).

Ultasound application could be used in as accelerating wine aging and rapid extraction technique of wine production (Martín and Sun, 2013).During the ultrasonication process, some chemical reactions may occur due to the temperature and pressure that occur and the collapse of microbubbles. These chemical reactions that accelerate with ultrasound process can also cause some changes in wine (Zhang et al., 2016). Even the fact that this technique was begin to be used littleinformation in the literature is existed about its effects on wine color. Zhang et al. had reported that min) може да намали слабо L* стойността във вино Каберне Совиньон (Zhang et al., 2016). Masuzawa et al. доказват, че обработката с ултразвук (30 kHz 10 дни) може да увеличи L* стойността и да намали a* и b* стойностите в червените вина (Masuzawa et al., 2000). Singleton and Draper установяват, че обработката с ултразвук (90 кHz 1 ч) като цяло слабо повишава видимата абсорбция на виното (Singleton and Draper, 1963). Въпреки положителният ефект, който ултразвукът оказва върху процеса на стареене на вината, могат да се появят и някои нежелани реакции и последици (Zhang et al., 2016). Следователно, влиянието на ултразвука трябва да бъде проучено и неговият ефект върху хемометричните свойства, директно свързани с качеството на виното, трябва да бъдат изяснени.

В това изследване е определено въздействиетно на ултразвука върху хемометричните свойства на различни вина (Мерло, Аликант буше, Коломбард), подложени на обработка съответно при 40 kHz / 10, 15, 20 и 40 минути. Във всички опитни проби са определени както основните, така и специфичните показатели от състава на виното.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Винопроизводство

Гроздето от Vitis vinifera L. сортове Мерло, Аликант буше и Коломбард е обрано при достигане на оптимална зрялост (25 °Brix) и транспортирано до Експерименталната винарска изба на катедра „Инженерство на храните”, Егейски университет, Измир, Турция. Опитните вина са произведени в съответствие с общоприетите технологии за винопроизводство с изключение на SO_2, който не е добавен.

Пробите са подложени на обработка с ултразвук при 40 kHz / 10, 15, 20 и 40 минути, последвана от инкубация на тъмно за 3 ч и 6 ч при температура 25°C.

Анализ на пробите вино

Всички опитни вина са анализирани по показателите: pH (OIV, 1990), алкохолно съдържание (OIV, 1990) и

the ultrasonic treatment (100 kHz 60 min.) could decrease slightly the L* value in Cabernet Sauvignon wine (Zhang et al., 2016). Masuzawa et al. had demonstrated that ultrasonic treatment (30 kHz 10 day) could increase the L* value and decrease of a* and b* in red wines (Masuzawa et al., 2000). Singleton and Draper had found that ultrasonic treatments (90 kHz 1 hour) generally slightly increased visible absorption of the wine (Singleton and Draper, 1963).Despite the positive effect of ultrasound treatmnet on aging in some wines, some unwanted reactions or effects may occur (Zhang et al., 2016). Therefore, the effects of ultrasound should be investigated and effects on the chemometrical properties directly related to the quality of the wine must be cleared.

In this study was determined the influences of ultrasound applications on chemometrical properties of different wines (Merlot, Alicante bouschet, Colombard). Obtained wines were subjected to ultasonication at 40 kHz / 10, 15, 20 and 40 minutes. In all samplesbasicwine parameters and some spesific parameters were determined.

MATERIAL AND METHODS

Wine making

Grapes of *Vitis vinifera* L. cvs. Merlot, Alicante bouschet and Colombard wereharvested at optimum maturity (25 °Brix) and transported to the the Experimental Winery of Food Engineering Department in Ege University, Izmir, Turkey. Wine production were done according to the accepted wine production procedures with exception of SO_2 (it was not added) addition.

The wine samples were subjected to ultasonication at 40 kHz / 10, 15, 20 and 40 minutes followed by incubation for 3h and 6h at 25 °C in the dark.

Simple wine analysis

All samplesweredetermined pH value (OIV, 1990), alcohol(OIV, 1990) and общата киселинност (OIV, 2005).

Специфични анализи на виното

Общо фенолно съдържание

Общото фенолно съдържание е определено по метода Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965) с някои модификации. Стойностите на абсорбция (A) са измерени със спектрофотометър (Thermo Scıentıfıc USA Genesys 10s UV-VS) при дължина на вълната 565 nm. Резултатите са представени като еквивалент галова киселина (GAE), с използването на калибрационна крива.

Антиокидантна активност

Антиоксидантната активност е определена по метода DPPH (2,2-дифенил-2-пикрил-хидразил) (Blois, 1958) с някои модификации. Стойностите на абсорбция (A) са измерени със спектрофотометър (Thermo Scıentıfıc USA Genesys 10s UV-VS) при дължина на вълната 517 nm и превърнати в процент антиоксидантна активност, използвайки следната формула:

total acidity (OIV, 2005).

Specific wine analysis

The total phenolic content

The total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method of (Singleton and Rossi, 1965) with some modifications. The absorbance (A) values were measured by spectrophotometer (Thermo Scıentıfıc USA Genesys 10s UV-VS) at 565 nm. The results were expressed as gallic acid equivalents (GAE) using a calibration curve against gallic acid.

The antioxidant activity

The antioxidant activity was determined by the 2,2,-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) method of (Blois, 1958) with some modifications. The absorbance (A) values were measured by spectrophotometer (Thermo Scıentıfıc USA Genesys 10s UV-VS) at 517 nm and converted into the percentage antioxidant activity using the following formula:

$$\text{Антиоксидантна активност (\%)} = \frac{A\text{ (контрола)} - A\text{ (проба)}}{A\text{ (контрола)}} \cdot 100$$

$$Antioxidant\ activity(\%) = \frac{A(control) - A(sample)}{A(control)} * 100$$

Хемометричен анализ

Измерването на абсорбцията е направено със спектрофонометър (Pharmacia LKB, Novaspec ® II). Стойностите на абсорбция са измерени при дължина на вълната 280, 420, 520 и 620 nm, а параметрите на Глори са определени от стойностите на абсорбция:

Chemometric analysis

Absorbance measurements were done by using spectrophotometer (Pharmacia LKB, Novaspec ® II). Absorbance values at 280, 420, 520 and 620 nm were measuredand Glories parameters were determined from absorbance values:

Плътност на цвета $Colour\ density(CD) = A420 + A520$

Интензитет на цвета $Colour\ intensity(CI) = A420 + A520 + A620$

Нюанс $Tint\ value(T) = \frac{A420}{A520}$

Съотношение на червения цвят, произхождащ от флавилиевия катион

$$Proportion\ of\ red\ colour\ produced\ by\ flavylium\ cations(dA\%) = \frac{A520 - \frac{A420 - A620}{2}}{A520} * 100$$

Относителен дял на жълтия цвят $Proportion\ of\ yellow\ colour\ (Y\%) = \frac{A420}{CI} * 100$

Относителен дял на червения цвят $Proportion\ of\ red\ colour\ (R\%) = \frac{A520}{CI} * 100$

Относителен дял на синия цвят $Proportion\ of\ blue\ colour\ (B\%) = \frac{A620}{CI} * 100$

За измерване на величините L*, a* и b* по стандарта CIE Lab е използван колориметър HunterLab (colorflex, USA). Наситеността на цвета и нюанса са определени от a* и b* стойностите (Bakker and Timberlake, 1986) по формулата:

Наситеност на цвета $(C) = \sqrt{a^2 + b^2}$

Нюанс на цвета $(H) = \arctan(\frac{b}{a}$

CIE Lab parameters L *, a * and b * values were measured by used a colorimeter HunterLab (colorflex, USA). Croma and hue values were determined from a* and b* values by (Bakker and Timberlake, 1986) formula:

$Croma(C) = \sqrt{a^2 + b^2}$

$Hue(H) = \arctan(\frac{b}{a}$

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Оценка на показателите от основния анализ на виното

Резултатите от основния анализ на виното са представени в Таблица 1. От тях се вижда, че стойностите на pH в пробите от Мерло, третирано с ултразвук 40 kHz, спадат слабо след 10-минутна обработка. Подобни са и резултатите при другите две вина Аликант буше и Коломбард.

Chang and Chen установяват, че при оризовите и царевичните вина обработката с ултразвук, с честота 20 kHz, води до леко повишаване на стойностите на pH (Chang and Chen, 2002). Cui et al. съобщават, че ултразвуковата обработка (40 kHz 40 мин.) на Ризлинг италиански, произведено като нискоалкохолно сладко бяло вино, също слабо повишава pH (Ciu et al., 2012).

Общатата киселинност е представена като mg/L винена киселина. Стойностите ú в пробите Мерло, третирани с ултразвук 40 kHz се повишават, докато в пробите от Аликант буше тя намалява след 10 минутно и слабо нараства след 15, 20, 40 минутно третиране. И в двете проби, Мерло и Аликант буше, количеството винена киселина е най-голямо след 40 минути обработка с ултразвук. Обща-

RESULTS AND DISCUSSION

Evaluation of basic wine analysis

The results of basic wine analyses could be seen in Table 1. The pH valuesof Merlot samples treated at 40 kHz ultrasonic application decreased slightly after 10 minutes of treatment. Similar results were found for both other wines: Alicante bouschet and Colombard.

Chang and Chen had demonstratedthat the 20 kHz ultrasonic treatment increased slightly the pH values in maize and rice wines (Chang and Chen, 2002). Cui et al., had reported that the ultrasonic treatment (40kHz 40 min.) increased slightly the pH values in Italian Riesling produced as low alcohol sweet white wine (Ciu et al., 2012).

The total acidity values were given as mg/L tartaric acid. The total acidity value of Merlot samples treated at 40 kHz ultrasonic application increased whereas in case of Alicante bouschet wine decreased at the 10 min. and slightly increased at 15-20-40 minutes. Both samples (Merlot and Alicante) have the highest amount of tartaric acid was after 40 minutes of ultrasonic treatment. The total acidity та киселинност на виното Коломбард, третирано с ултразвук 40 kHz, намалява при 10 минутно въздействие и се повишава след 15, 20, 40 минутно.

value of Colombard winetreated at 40 kHz ultrasonic application decreased at the 10 min. and increased at 15-20-40 minutes.

Таблица 1. Анализ на основните показатели от състава на виното
Table 1. Basic wine analysis

Проби Samples	Алкохол (%) Alcohol (%)	Обща киселинност Total acidity (g/L)	pH
Мерло контрола Merlot control	11.3	8.85	3.91
Мерло 40kHz/10 мин. Merlot 40kHz/10 min.	11.7	10.50	3.92
Мерло 40kHz/15 мин. Merlot 40kHz/15 min.	11.3	9.23	3.91
Мерло 40kHz/20 мин. Merlot 40kHz/20 min.	10.9	10.13	3.88
Мерло 40kHz/40 мин. Merlot 40kHz/40 min.	10.6	11.70	3.85
Аликант буше контрола Alicante bouschet control	11.5	7.20	4.09
Аликант буше 40kHz/10 мин. Alicante bouschet 40kHz/10 min.	11.5	5.10	4.09
Аликант буше 40kHz/15 мин. Alicante bouschet 40kHz/15 min.	11.5	7.88	4.09
Аликант буше 40kHz/20 мин. Alicante bouschet 40kHz/20 min.	11.5	6.38	4.08
Аликант буше 40kHz/40 мин. Alicante bouschet 40kHz/40 min.	11.5	7.13	4.08
Коломборд контрола Colombard control	11	8.18	3.72
Коломбард 40kHz/10 мин. Colombard 40kHz/10 min.	10.8	7.13	3.70
Коломбард 40kHz/15 мин. Colombard 40kHz/15 min.	10.4	8.70	3.71
Коломбард 40kHz/20 мин. Colombard 40kHz/20 min.	10.8	9.00	3.70
Коломбард 40kHz/40 мин. Colombard 40kHz/40 min.	10.6	10.13	3.70

Стойностите на алкохола са представени като обемни проценти. Алкохолното съдържание на червеното вино Мерло, обработено с ултразвук 40 kHz в продължение на 10 минути намалява. През следващите 15 минути то остава същото както при контролната проба и слабо се понижава на 20-та и 40-та минута. Алкохолът на Аликант буше, след третиране с ултразвук, остава същия както на контролната проба през цялото време. Chang and Chen установяват, че въздействие-

The alcohol values were given as volumetric alcohol content. The alcohol content in 40 kHz /10 minute ultrasonic treated Merlot red wine decreased. In the following 15 minute alcohol content was the same as the control wine and decreased slightly at 20 and 40 minutes. The alcohol content in 40 kHz ultrasonic treated Alicante bouschet wine remained the same as the control group at all times. The alcohol content in 40 kHz ultrasonic treated Colombard wine decreased at all times. Chang and Chen то с ултразвук при 20 kHz повишава алкохолното съдържание на царевичните вина и го намалява при оризовите вина (Chang and Chen, 2002). Zheng et al. посочват, че след ултразвукова обработка (45 kHz 10, 20, 30, 40, 50 минути) алкохолът на виното от сливи Ренклода намалява (Zheng et al., 2014). В нашето изследване резултатите за алкохолното съдържание на бялото вино Коломбард съответстват на получените в това проучване.

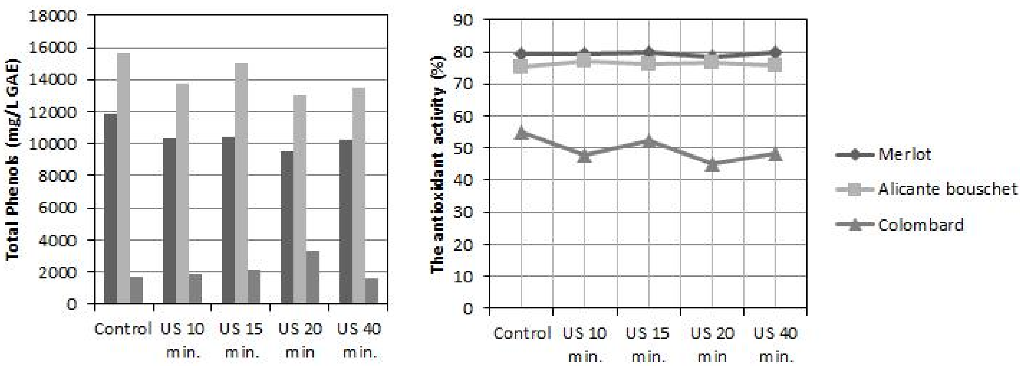
Оценка на показателите от специфичните анализи на вината

Общото фенолно съдържание и антиоксидантната активност на вината, третирани с ултразвук при различни условия, са показани на Фигура 1.

had found that the 20 kHz ultrasonic treatment increased the alcohol content in maize wines and decreased in rice wines (Chang and Chen, 2002). Zheng et al., had reported that the ultrasonic treatment (45 kHz 10-20-30-40-50 minute) decreased the alcohol content in greengage wine (Zheng et al.,2014).In our study, the results of white wine (Colombard) alcohol content was consistent with this study.

Evaluation of specific wine analysis

Figure 1 demonstrated the values of total phenol content and antioxidant activities of wines treated at different ultrasound conditions.



Фиг. 1. Съдържание на общи феноли и антиоксидантна активност на опитните вината, след различна ултразвукова обработка

Fig. 1. The total phenol content and antioxidant activity values of wines at different ultrasound treatment

Стойността на общите феноли във виното Мерло (контрола) е 11870 mg/L GAE (еквивалент галова киселина) и намалява при всяка ултразвукова обработка. Понижението е както следва 12%, 12 %, 19%, 13 %, съответно за 10, 15, 20 и 40 минути. Най-голям спад в сравнение с контролата се наблюдава при 20 минутна обработка. Общото фенолно съдържание във виното Аликант буше (контрола) е 15655.71 mg/L GAE и намалява в резултат на ултразвуковата обработка.

The total phenol content of Merlot wine (control) had 11870 mg/L GAE value and decreased at all ultrasonic applications. Reduction amounts were determined as 12%, 12%, 19%, 13% at 10, 15, 20 and 40 minutes, respectively. The most decrease was occurred at 20 minutes when compared with the control group. The total phenol content of Alicante bouschet wine (control) had 15655.71 mg/L GAE value and decreased at all ultrasonic applications.

Понижението е както следва 12%, 4%, 16%, 14%, съответно за 10, 15, 20 и 40 минутно третиране. За разлика от предходните вина, количеството на общите феноли във виното Коломборд (контрола) е 1655 mg/ L GAE и нараства в резултат на 10, 15 и 20 минутна узлтразвукова обработка. Повишаването е съответно 12%, 23%, 98% за 10, 15 и 20 минутно третиране. Общото фенолно съдържание, обаче намалява с 15% в сравнение с контролата след 40 минутна обработка. Сравнявайки концентрацията на общите феноли във вината Мерло и Аликант буше, с тази на контролната група, най-голям спад се забелязва на 20-та минута. Относно бялото вино Коломбард, общото фенолно съдържание почти се е удвоило на 20-та минута.

Антиоксидантната активност на вината Коломбард намалява слабо, а при вината Мерло и Аликант буше остава почти същата. Най-висока антиоксидантна активност сред пробите, третирани с ултразвук, се наблюдава при Мерло (79%/15 мин.), Аликант буше (76.93%/10 мин.) и Коломбард (52%/15 мин.).

Оценка на хемометричните свойсттва

Оценка на измерените по CIELAB показатели

L* стойността (степента на наситеност цвета на виното) при Мерло, третирано с ултразвук 40kHz намалява след 10 минутна обработка и се увеличива след 15, 20 и 40 минути, а при Аликант буше се увеличава след 10, 15 и 20 минути. По време на 40 минутната ултразвукова обработка, L* намалява и виното Аликант буше достига най-тъмния си цвят. При белите вина Коломбард, L* се понижава при всички обработки с ултразвук и цветът изсветлява. Zhang et al. съобщават, че обработката с ултразвук (100 kHz 60 мин.) намалява слабо L* стойността при Каберне Совиньон (Zhang et al., 2016). Masuzawa et al. също установя-

Reduction amounts were as: 12%, 4%, 16%, 14% at 10, 15, 20 and 40 minutes, respectively. Just opposite to previous wines, the total phenol content of Colombard wine (control) had 1655 mg/L GAE value and increased in 10-15-20 minutes of ultrasonic application. Increases amounts were found as: 12%, 23%, 98%, respectively for 10-15-20 minutes. However the total amount of phenol decreased 15% compared to the control group at 40 minutes. Comparing the total phenol content of Merlot and Alicante wines with the control group, the most reduction was detected the 20th minute.Concerning, Colombard white wine, the total amount of phenol in the 20th minute has almost doubled.

The antioxidant activities of Colombord wines decrease slightly but remained the almost the same for Merlot and Alicante bouschet wines. The highest antioxidant activities in the samples treated with ultrasound method were observed as 79.15% at 15 min. in Merlot wine, as 76.93% at 10 minutes in Alicante bouschet wine and as 52.13% at 15 minutes in Colombard wine.

Evaluation of chemometric properties

Evaluation of CIELAB parameters

The L* value in 40 kHz ultrasonic treated Merlot wine decreased at 10 min. and increased at 15-20-40 minutes. The L* value in 40 kHz ultrasonic treated Alicante bouschet wine increased at 10-15-20 minutes. During ultrasound application for 40 minutes, L* value decreased and the color of Alicante bouschet wine reached the darkest color.In Colombard white wines, L* value decreased in all ultrasound treatments and dark color of wine is decreased. Zhang et al. had reported the ultrasonic treatment (100 kHz 60 min.) decreased slightly the L* value in Cabernet Sauvignon wine (Zhang et al., 2016). Masuzawa et al. had also found that ват, че ултразвуковата обработка (30 kHz 10 дни) повишава L* стойностите при червените вина. В нашето изследване стойностите L* при Аликант буше съответстват на резултатите от това проучване (Masuzawa et al., 2000).

Стойностите a* на червеното вино Мерло, третирано с ултразвук 40 kHz намаляват след 10-20 минути и се увеличават след 15-40 минути, докато при виното Аликант буше се понижават след 10, 15 и 20 минутна обработка. Най-високите стойности на червения компонент (a*) на вината Мерло и Аликант буше се наблюдават при въздействие в продължение на 40 минути. Masuzawa et al. посочват, че тренирането с ултразвук (30 kHz 10 дни) повишава стойностите на a* при червените вина. Резултатите от нашето проучване при Аликант буше съответстват на резултатите от това изследване (Masuzawa et al., 2000). Стойностите a* на вината Коломбард се повишават при 10-15-20 минути и намаляват слабо при 40 минутна ултразвукова обработка, като най-много зеленикави нюанси на цвета са наблюдавани при 10 минутно третиране на пробата.

Стойностите b* при виното Мерло, третирано с ултразвук 40 kHz намаляват при 10, 15 и 20 минутна обработка и слабо нарастват при 40-минутна. Стойностите на синия цвят при Мерло се понижават само при 40 минути, а нарастват във всички останали случаи. Стойностите b* на виното Аликант буше се увеличават слабо след 10-минутна обарботка. Стойността на жълтия компонент при Аликант буше намалява само след 10 минутно третиране, а във всички други случаи се повишава. Стойностите b* при виното Коломбард слабо спадат след 10, 20 и 40 минутна обработка и леко се увеличават след 15 минутна, тогава и стойностите на жълтия цвят са най-високи.

Стойностите на наситеността на цвета (K) и цветния нюанс (H) са изчислени използвайки стандарта

ultrasonic treatment (30 kHz 10 day) increased the L* value in red wines.In our study, the results of L* value concerning Alicante bouschet wine was consistent with this study (Masuzawa et al., 2000).

The a* value in 40 kHz ultrasonic treated Merlot red wine decreased at 10-20 minutes and increased in 15-40 minutes. In Alicante bouschet wines, the a* value decreased in 10-15-20 minutes.

The highest (a*) redness values for Merlot and Alicante wines were observed at 40 minutes.

Masuzawa et al. had demonstrated that ultrasonic treatment (30 kHz 10 day) increased the a* value of red wines. In our study, Alicante bouschet wine a* value was consistent with this study (Masuzawa et al., 2000). The a* value of Colombard wines increasedb at 10-15-20 minutes and decreased slightly at 40 minute of ultrasound procedure. The highest a green value was observed at 10 minutes of the Colombard wine.

The b* value at 40 kHz ultrasonic treated Merlot red wine decreased at 10-15-20- minutes and increased slightly at 40 minutes.The blue colour value of the Merlot wine decreased only at 40 minutes and increased at other times. The b* value of Alicante bouschet wine increased slightly after 10 minutes of treatment. The yellow colour value of the Alicante bouschet wine decreased only at 10 minutes and increased in other times. The b* value in Colombard wine decreased slightly at 10-20-40 minutes and increased slightly at 15 minute. The highest yellow colour value was observed in 15 minutes of the Colombard white wine.

Chroma (K) and Hue (H) values were calculated using CIELAB values. The K values expressing color saturation

CIELAB. Установено е, че K стойностите, при нетретирано вино Мерло са 0.11 и достигат на-висока стойност 1.29, след 10 минутна обработка с ултразвук. Останалите резултати са съответно след 15 минути - 0.17, след 20 минути - 0.51 и след 40 минути - 0.21. Стойностите на K се повишават след ултразвукова обработка независимо от времетраенето. Яркостта на цвета при виното Мерло се повишава, като най-добрите резултати са получени при 10 минути. Стойността на K при Аликант буше, нетретирано с ултразвук, са 0.72. След 10 минутна обработка са 0.08, след 15 минути - 0.24 и след 20 минути - 0.35. Установено е, че във всички случаи ултразвукът намалява наситеността на цвета. Най-голяма яркост на цвета 0.64 е отчетена след 40 минутна обработка. Наблюдава се, че стойността K на нетретираното вино Коломбард са 1.53. След 15 минутно третиране те са 1.80, след 20 минутно - 1.58 и след 40 минутно - 1.44. Ултразвукът увеличава наситеността на цвета на вино Коломбард след 10, 15 и 20 минути. Най-голяма яркост 1.84 е отчетена след 10 минутна обработка.

Стойностите на цветовия нюанс (H) са представени в градуси и се намират върху оста +a* на 0°, върху оста +b* на 90°, върху оста -a* на 180° и върху оста -b* на 270° (McGuire, 1992). Стойността на H* при виното Мерло, когато не е третирано с ултразвук е 397.65. Увеличаването на H* до 353.05° след 40 минутна ултразвукова обарботка също увеличава стойностите на червения компонент. Останалите резултати са съответно след 10 минутна обработка- 282.61, след 15 минутна - 276.61 и след 20 минутна - 278.14.

Стойността на цветовия нюанс на нетретираното вино Аликант буше е 368.64. След 10, 15, 20 и 40 минутна обарботка с ултразвук те са съответно: 344.29, 309.75, 320.50 и 372.72. По

were found to be 0.11 in the untreated wine produced from Merlot wine and reached the brightest value at 1.29at 10 minutes of ultrasound treatment. For other ultrasonic application times, the results were as 0.17 for 15 minute, as 0.51 for 20 minute and as 0.21 for 40 minute. The K value was increased in all ultrasound treatments. The brightness of Merlot wine increased, the best result were determined at 10 minute. The value of K in the untreated wine produced from Alicante bouschet wine was found to be 0.72. In other ultrasonic application times, it was determined as 0.08 for 10 minute, as 0.24 for 15 minute and as 0.35 for 20 minute. It has been determined that ultrasound reduce the color saturation at all application conditions. The brightest wine found as 0.64 for 40 minute.The value of K in the untreated wine produced from Colombard wine was found to be 1.53. In other ultrasonic application times the results were as 1.80 for 15 minute, as 1.58 for 20 minute and as 1.44 for 40 minute. It has been determined that ultrasound increase color saturation at 10-15-20 minute for Colomard wines. The brightest wine wine found as 1.84 value for 10 minute.

Hue values expressing color tone were expressed in degrees. The hue value lies on the + a * axis at 0 °, the + b * axis at 90 °, the -a * axis at 180 ° and the -b * axis at 270 ° (McGuire, 1992). The H * value was found to be 397.65 when no ultrasound was applied on Merlot wines.Increasing the H * value to 353.05 ° at 40 minute of ultrasound treatment also increased the value of redness. In other ultrasonic application times, the results were as 282.61 for 10 minute, as 276.61 for 15 minute and as 278.14 for 20 minute.

The H * value was found to be 368.64 when no ultrasound was applied to Alicante bouschet wines. The H * values for 10 minutes, 15 minutes, 20 minutes and 40 minutes ultrasonic application were found to be 344.29, 309.75, 320.50, 372.72, време на 10, 15 и 20 минутно третиране виното променя стойностите на червения си компонент, преминавайки в зоната между червено и синьо.

Цветовият ъгъл е определен в зоната между червения и жълтия ъгъл след третиране с ултразвук в продължение на 40 минути. Стойността на нюанса на нетретирано вино Коломбард е 406.52. След 10, 15, 20 и 40-минутна обработка те са съответно: 395.44, 399.64, 402.76 и 405.28.

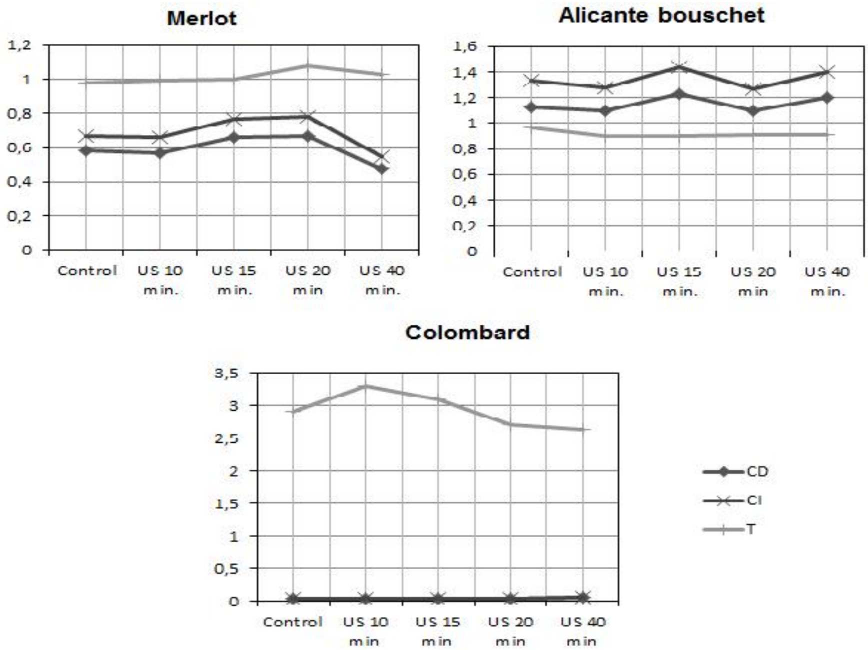
Оценка на показателите от специфичния цветови анализ на вината

Стойностите на плътността на цвета (CD), интензитета на цвета (CI), нюанса (T), процентното участие на червения цвят (R%), на жълтия цвят (Y%), на синия цвят (B%) и съотношението dA% на вината, третирани с ултразвук и на контролните проби, са представени на Фигури 2 и 3.

respectively. During 10 minutes, 15 minutes and 20 minutes of ultrasound application, the wines moved away from their value in terms of red color and took place in the area between red and blue color angle. The color angle was located in the region between the red and yellow color angles at 40 minute. The H * value was found to be 406.52 when no ultrasound was applied to the wines of Colombard wines. H * values for 10 minutes, 15 minutes, 20 minutes and 40 minutes ultrasonic application were found to be 395.44, 399.64, 402.76, 405.28 respectively.

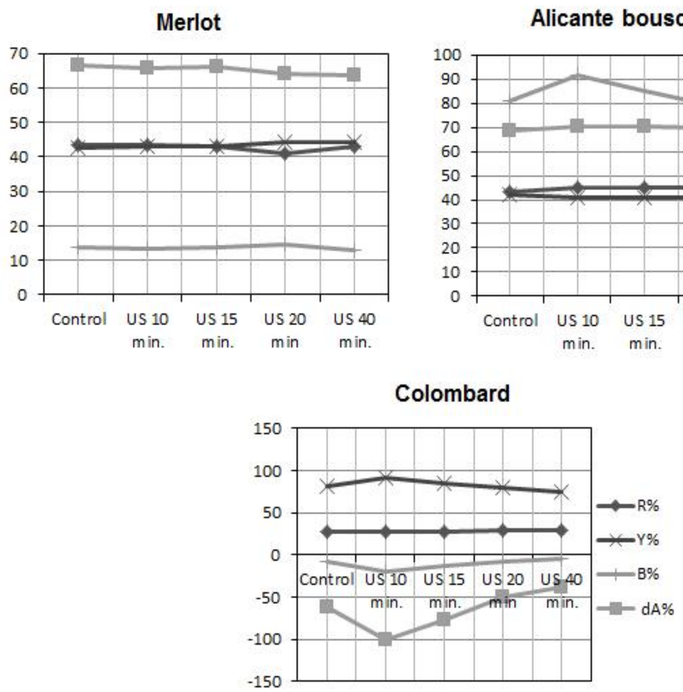
Evaluation of specific color analysis

In Figure 2 and Figure 3 were demonstrated the values of colour density (CD), colour intensity (CI), tint (T), proportion of red colour (R%), proportion of yellow colour (Y%), proportion of blue colour (B%), proportion of red colour produced by flavylium cations (dA%) of ultrasound treated and control wines.



Фиг. 2. Плътност на цвета (CD), интензитет на цвета (CI) и нюанс (T) на опитните вина, след различна ултразвукова обработка

Fig. 2. The colour density (CD), colour intensity (CI) and tint (T) values of wines at different ultrasound treatment



Фиг. 3. Стойности на процентното участие на червения цвят (R%), жълтия цвят (Y%), синия цвят (B%) и на dA% на опитните вина, след различна ултразвукова обработка

Fig. 3. The proportion of red (R%), yellow (Y%), blue (B%) and proportion of red colour produced by flavylium cations (dA%) values of wines at different ultrasound treatment

Стойностите на плътността на цвета (CD), цветния интензитет (CI) и нюанса (T) на вината Мерло достигнат най-високи нива след 15 минутна ултразвукова обработка и намаляват след 40-минутна. Наблюдава се, че докато процентният дял на червения цвят (R%) и стойността на dA% се понижават при 40-минутно третиране, тези на жълтия цвят (Y%) и синия цвят (B%) нарастват. Общото фенолно съдържание и антиоксидантна активност на пробите Мерло след 40-минутно третиране с ултразвук показва положително съответствие с хемометричните свойства на вината.

Плътността на цвета (CD) и интезитетът (CI) при червените вина Мерло достигнат най-големи стойности

The color density (CD), color intensity (CI) and tint (T) values of Merlot wines reached their highest value at 15 minutes of ultrasonic treatment.The CD, CD,T values were decreased in the application of ultrasonic for 40 minutes. While the proportion of red colour (R%) and dA% value of the Merlot red wines decreased in 40 minutes, the values of proportion of yellow (Y%) and blue (B%) colorincreased. The total phenol content and antioxidant activity of the Merlot red wines at 40 minutes show a positive correlation with the chemometric properties of the wines.

The colour density (CD) and colour intensity (CI) values of Merlot red wines reached their highest value at 15 minutes след 15-минутна ултразвукова обработка. Стойностите на нюанса (T) намаляват след третирането, независимо от времетраенето. Стойностите на процентния дял на червения цвят (R%) и на dA% при вината Аликант буше се увеличават слабо след ултразвуковата обарботка, независимо от времетраенето, докато тези на жълтия цвят (Y%) и синия цвят (B%) намаляват. Общото фенолно съдържание на пробите Аликант буше, подложени на въздействие с ултразвук показва положително съответствие с техните хемометрични свойства.

Стойностите на плътността на цвета (CD), цветния интензитет (CI), нюанса (T) на вината Мерло достигнат най-високо ниво след 15 минутно ултразвуково третиране и се понижават след 40 минутно такава. Относителният дял на червения цвят (R%) и този на dA% намаляват при 40 минутна обработка, а тези на жълтия (Y%) и синия цвят (B%) нарастват.

Стойностите на CD и CI при вината Коломбард се запазват приблизително същите независимо от времетраенето на ултразвуковото третиране. Нюансът (T) слабо се повишава след въздействие в продължение на 10 и 15 минути, но намаляват след 20 и 40 минутна обработка. Процентното участие на жълтия цвят (Y%) остава непроменена при всички видове третиране с ултразвук.

of ultrasonic treatment. The tint (T) value decrease at all ultrasound treatment conditions.While the proportion of red colour (R%) and dA% value of the Alicante bouschet wines increased slightly at all ultrasound treatment times, the values of proportion of yellow (Y%) and blue (B%) colour decreased at all treatment.

The total phenol content of the Alicante bouschet wines at all ultrasound treatment times demonstrated the positive correlation with the chemometric properties of the wines.

The colour density (CD), colour intensity (CI) and tint (T) values of Merlot wines reached their highest value at 15 minutes of ultrasonic treatment. The CD, CD,T values decreased at ultrasonic application for 40 minutes. While the proportion of red colour (R%) and dA% value of the Merlot wines decreased at 40 minutes, the values of proportion of yellow (Y%) and blue (B%) colour increased.

The color density (CD) and color intensity (CI) values of Colombard wines stayed nearly with the same values at all ultrasound application conditions. The tint value increased slightly at 10 and 15 minutes. However, it decreased at 20 and 40 minutes. The proportionof yellow (Y%) value of the Colombard wines remained the same at all ultrasound conditions.

ИЗВОДИ

Приложението на ултразвукът във винарската промишленост показа влиянието и значението на произхода и сорта на гроздето за хемометричните свойства на вината и възможността за практическо приложение и оценка на тази обработка за различни цели. Направеното изследване показва, че хемометричните показатели, които са пряко свързани с качеството и характеристиките на виното, могат да бъдат контролирани, в съответствие с изискванията на потребителите.

CONCLUSIONS

Ultrasound application demonstrated the importance of grape origin and varieties on chemometrical properties of wines and possibility of industrial evaluation of this technique with different purposes.

The chemometrical properties directly related to the quality of the wines can be controlled according to the consumers expectations.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **BakkerJ, B.P. and C.F. Timberlake**, 1986. Tristimulus measurements (CIELAB 76) oi port wine colour. *Vitis*, 25, 67-73.
2. **Blois, M.S.**, 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
3. **Boido, E., C. Alcalde-Eon, F. Carrau, E. Dellacassa, J.C. Rivas-Gonzalo**, 2006. Aging effect on the pigment composition and color of Vitis vinifera L. cv. Tannat wines. Contribution of the main pigment families to wine color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6692-6704.
4. **Chang, A.C. and F.C.Chen**, 2002. The application of 20 kHz ultrasonic waves to accelerate the aging of different wines. *Food chemistry*, 79(4), 501-506.
5. **Cui, Y., W. Lv, J.F. Liu, B.J. Wang**, 2012. Effect of different ending fermentation technologies on microbial-stability of Italian Riesling low alcohol sweet white wine. *Advanced Materials Research*, 393, 1165-1168.
6. **Martín, J.F. G. and D.W. Sun**, 2013. Ultrasound and electric fields as novel techniques for assisting the wine ageing process: The state-of-the-art research. *Trends in food science & technology*, 33(1), 40-53.
7. **Masuzawa, N., E. Ohdaira, M. Ide**, 2000. Effects of ultrasonic irradiation on phenolic compounds in wine. *Japanese Journal of Applied Physics*, *39*(5S), 2978.
8. **McGuire, R.G.**, 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12), 1254-1255.
9. OIV, 1990. Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis, Paris: International Organization of Vine and Wine.
10. OIV, 2005. Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis, Paris: International Organization of Vine and Wine.
11. **Singleton, V.L. andD.E. Draper**, 1963. Ultrasonic treatment with gas purging as a quick aging treatment for wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 14(1), 23-35.
12. **Singleton, V.L. and J.A. Rossi**, 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
13. **Somers, C.**, 1998. The wine spectrum: An approach towards objective definition of wine quality. Winetitles.
14. **Zhang, Q. A., Y. Shen, X.H. Fan, J.F. García Martín**, 2016. Preliminary study of the effect of ultrasound on physicochemical properties of red wine. *CyTA-Journal of Food*, 14(1), 55-64.
15. **Zheng, X., M. Zhang, Z. Fang, Y. Liu**, 2014. Effects of low frequency ultrasonic treatment on the maturation of steeped greengage wine. *Food chemistry*, 162, 264-269.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, 2017, 20 (3), 117-127 ISSN 1311-0489 (Print)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan ISSN 2367-8364 (Online)

Управление на еволюцията на винени феноли с помощта на млечнокисели бактерии

Езги Дюндар, Хатидже Калкан Йълдъръм*

Егейски университет, Инженерен факултет, катедра „Инженерство на храните”, 35100 Борнова, Измир, Турция
**E-mail: hatice.kalkan.yildirim@ege.edu.tr*

Managing of wine phenols evolution by lactic acid bacteria

Ezgi Dündar, Hatice Kalkan Yıldırım*

Ege University, Engineering Faculty, Department of Food Engineering, 35100 Bornova, Izmir, Turkey

РЕЗЮМЕ

Виното е комплексна храна, съдържаща много ценни съединения. Сред тях са фенолните съединения, които са най-важните поради техния ефект върху качеството на виното и човешкото здраве, като антиоксидантните, антимикробни, антипролиферативни и противовъзпалителни свойства. Така че, основен въпрос е, как тези съединения могат да бъдат извлечени от ципите на гроздето за производство на висококачествено вино, или от вторични продукти на винопроизводството с цел производство на необходимите ценни фенолни съединения. Един от най-обещаващите начини е биотрансформация, извършена чрез млечнокисели бактерии. Благодарение на техните пробиотични свойства, в последно време те широко се използват в приготвянето на различни храни. Тези бактерии имат способността да трансформират сложни феноли в техните агликони, или обратното, водещи по този начин до образуване на нови фенолни форми. Сред най-интересните съединения са ароматните, като p- винил/етил фенол, p- винил/етил катехол, или фенолни киселини като галова киселина и хидрокси

SUMMARY

Wine is a complex food containing many valuable compounds. Among them are phenolic compounds which are most important ones due to their effects on wine quality and human health such as antioxidant, antimicrobial, anti-proliferative and anti-inflammatory properties. So, the main question is how these compounds could be extracted from grape skin for production of high quality wine or from wine by-products for production of required valuable phenolic compounds. One of the most promising ways is biotransformation done by lactic acid bacteria. Due to their probiotic properties recent years they are widely used in different food preparation. These bacteria have an ability to transform complex phenols into their aglycons or just the reverse, causing formation of new phenolic forms. Among the most interested compounds are aromatics ones such as p- vinyl/ ethyl phenol, p- vinyl/ ethyl catechol or phenolic acids as gallic acid and hydroxyferulic acid. In our studies, the most strong antioxidant ферулинова киселина. При нашите изследвания, най-силните антиоксидантни съединения, а именно, пирогалол, еленова киселина, хидрокситирозол и тирозол, бяха успешно произведени чрез *L.plantarum.* Следователно, млечнокиселите бактерии могат да бъдат потенциално използвани за подобряване качеството на вината, отчитайки техния фенолен профил, и могат да се ползват за получаване на антиоксиданти с висока добавена стойност от вторични продукти на винопроизводството.

Ключови думи: феноли, млечнокисели бактерии, биотрансформация

compounds namely pyrogallol, elenoic acid, hyrdoxytyrasol and tyrasol were successfully produced by *L.plantarum.* So, lactic acid bacteria could be a potential for improving quality of wines concerning their phenolic profile and way to obtainthe high added-value antioxidants from wine by-products.

Key words: phenols, lactic acid bacteria, biotransformation

Виното е алкохолна напитка, произведена от ферментирало грозде. По време на ферментацията настъпват различни химични промени, водещи до образуването, сливането и извличането на фенолни съединения. Виното се превръща в уникален хранителен продукт, съдържащ различни ценни съединения. (German and Walzem, 2000).

Сред тези съединения, са фенолните, които притежават антиоксидантни, антимикробни, антипролиферативни и противовъзпалителни свойства (Carbonneau et al., 1997; Damianaki et al., 2000; Papadopoulou et al., 2005; García-Lafuente et al., 2009).

Фенолните съединения, намиращи се във виното, могат да бъдат разделени на две групи – флановоидни и не-флавоноидни (Фигура 1).

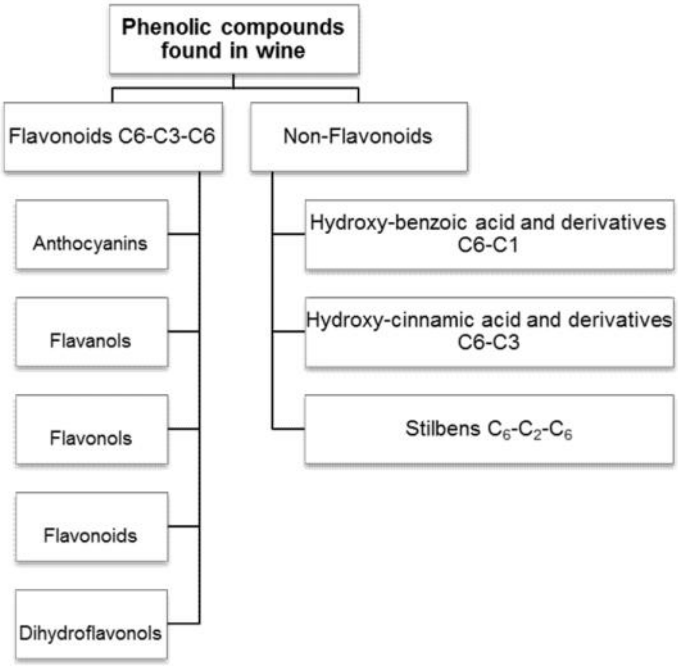
Групата на фалавоноидните включва антоциани, флаван-3, флавоноли, флавони, флаванони. Не-флавоноидните включват хидроксибензоена киселина, хидроксицинамена киселина и техните производни, стилбени (Jackson, 2008; Moreno-Arribas and Polo, 2009). Освен, че допринасят за човешкото здраве, фенолните съединения влияят и на сензорните свойства, като вкус, тръпчивост и цвят на виното, които са определящи за неговото качество (Rodríguez et al., 2009).

Wine is an alcoholic beverage made of fermented grapes. During fermentation, various chemical changes occur, leading to formation, conjugation, and extractions of phenolic compounds. Wine becomes is a unique food product, containing many valuable compounds (German and Walzem, 2000).

Among these compounds are phenolic compounds having antioxidant, antimicrobial, antiproliferative and anti-inflammatory properties (Carbonneau et al., 1997; Damianaki et al., 2000; Papadopoulou et al., 2005; García-Lafuente et al., 2009).

The phenolic compounds found in wine could be divided into two groups, flavonoids and non-flavonoids (Figure 1).

The group of flavonoids includes anthocyanins, flavan-3, contains flavonols, flavones, flavanones.The non-flavonoids include hydroxybenzoic acid, hydroxycinnamic acid and their derivatives, stilbenes, (Jackson 2008; Moreno-Arribas 2009). The phenolic compounds apart from contributing to human health affect the sensory properties such as taste, astringency and colorof wine that determine its quality (Rodríguez et al., 2009).



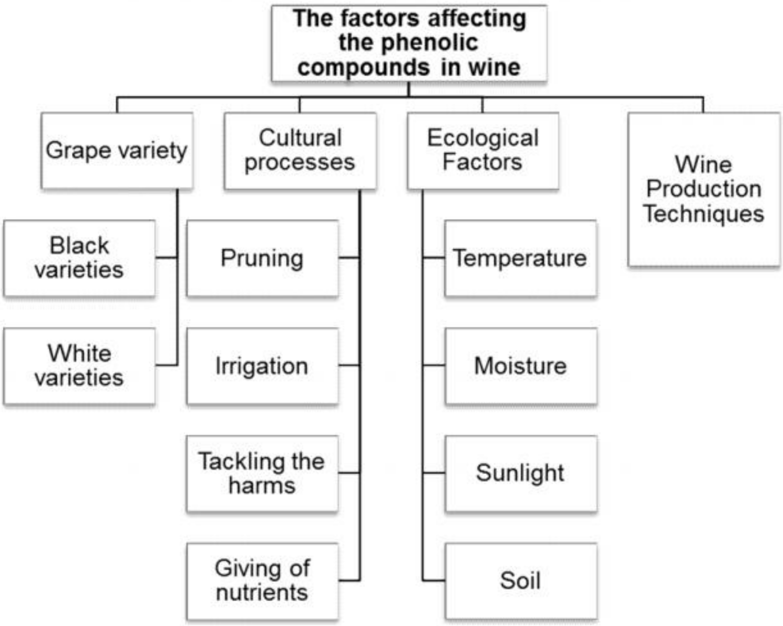
Фиг. 1. Феноли на виното
Fig. 1. Wine Phenols

Като цяло, фенолното съдържание във вината варира в зависимост от сорта грозде и „тероара" им, като количеството фенолни съединения от не-флавоноидната група е около 200 mg/L GAE, а количеството на тези от флавоноидната група е около 1200 mg/L GAE. От групата на флавоноидните фенолни съединения, антоцианините, кондензираните танини, други флавоноиди и флавоноли бяха определени съответно като 150 mg/L GAE, 750 mg/L GAE, 250 mg/L GAE и 50 mg/L GAE (Aktan and Yıldırım, 2000).

Концентрациите на фенолните съединения във виното варират от сорта грозде до отглеждането на гроздето, и зависят от много фактори, приложени по време на производството на виното (Фигура 2). Антиоксидантният капацитет на вината варира в зависимост от разнообразието и концентрацията на фенолните им съединения (Aktan and Yıldırım, 2000).

Generally, the amount of phenol in wines varies according to grape varieties and "terrior", but the amount of phenolic compounds entering non-flavonoid group is about 200 mg/L GAE and the amount of flavonoid group is about 1200 mg/L GAE. In the group of flavonoids, anthocyanins, condense tannins, other flavonoids and flavonols were determined as 150 mg/L GAE, 750 mg/L GAE, 250 mg/L GAE and 50 mg/L GAE, respectively (Aktan and Yıldırım, 2000).

Concentrations of phenolic compounds in wines vary from grape variety to grape cultivation, depending on many factors applied during wine production (Figure 2).The antioxidant capacities of wines vary depending on the variety and the concentration of the phenolic compounds in the wines (Aktan and Yıldırım, 2000).



Фиг. 2. Основни фактори, оказващи въздействие на фенолите на виното
Fig. 2. Main factors affecting wine phenols

Количеството фенолни съединения в гроздето варира в зависимост от сорта, като също така е различно и разпределението им в самия плод: 1% в месестата част, 5% в плодовия сок, 50% в ципата, 55% в семките. Различните фенолни съединения се намират в различни части на плода. Антоцианите се намират в ципата, особено в хиподермалните клетки. Мономерните флаваноли, като полимерните танини и катехини, се откриват в семките, ципата, а в много малки количества – и в месестата част на плода. Цинамената киселина и нейните естери се откриват в месестата част и ципата. В гроздето от сорт Аликант-Буше тези съединения са установени във висока концентрация в месестата част (Aktan and Yıldırım, 2000).

Биотрансформация на феноли посредством млечнокисели бактерии

Биотрансформацията на фенолни съединения се осъществява по време на вторичния метаболизъм на микроорганизмите или чрез екзогенните ензими, които те притежават. По този начин, микробната биоконверсия на фенолни компоненти играе важна роля в

The amount of phenolic compounds in grape varies depending on the grape variety as well as the distribution within the fruit itself is also different: 1% in fruit flesh, 5% in fruit juice, 50% in skin, 55% in seed. Different phenolic compounds are located in different parts of the fruit. Anthocyanins are found in the skin, especially in hypodermal cells. The monomeric flavanols, such as polymeric tannins and catechins, are found in the seed, skin and very small amounts of fruit flesh. Cinnamic acid and its esters are found in fruit flesh and skin. In Alicante-Bouschet grapes, these compounds are present at a high concentration in fruit flesh (Aktan and Yıldırım,2000).

Phenols biotransformation by lactic acid bacteria

Biotransformation of phenolic compounds occurs through the secondary metabolism of microorganisms or by the exogenous enzymes they possess. Thus, microbial bioconversion of phenolic components plays an увеличаване на концентрацията на свободни и летливи феноли, в получаването на различни биоактивни фенолни съединения и в оценяването на отпадъчни и вторични продукти с високо фенолно съдържание (Madeira Junior, 2015).

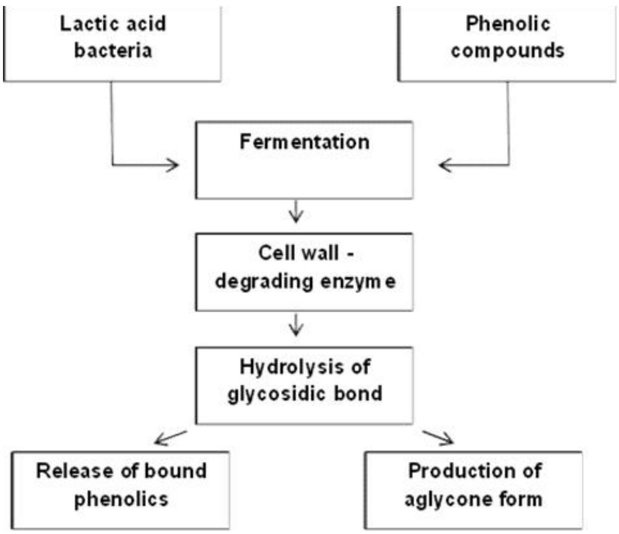
Млечнокиселите бактерии са допринесли за увеличаване обема на ферментирали храни, произвеждани по света, благодарение на пробиотичните си свойства и приноса им към човешкото здраве (Soomro et al., 2002).

Биотрансформацията на фенолни съединения чрез млечнокиселите бактерии включва хидролиза на гликозидна връзка под въздействието на ензимите, отделяни от тези бактерии, освобождаването на свързаните феноли и по този начин производство на съединения под формата на агликони (Huynh, 2014). Механизмът на биотрансформацията на фенолни съединения чрез млечнокиселите бактерии е обобщен във Фигура 3.

important role in increasing the concentration of free and volatile phenolics, in obtaining different bioactive phenolic components, and in evaluating high phenolic wastes and by-products (Madeira Junior, 2015).

Lactic acid bacteria have contributed to the volume of fermented foods grown worldwide due to their probiotic properties and their contribution to human health (Soomro et al., 2002).

Biotransformation of phenolic compounds by lactic acid bacteria involves the hydrolysis of the glycosidic bond by the effect of enzymes possessed by these bacteria, the release of bound phenols and thus the production of compounds in the form of aglycons (Huynh, 2014).The mechanism of biotransformation of phenolic compounds by lactic acid bacteria could be summarized as in Figure 3.



Фиг. 3. Механизъм на биотрансформация на фенолните съединения чрез млечнокисели бактерии

Fig. 3. The mechanism of biotransformation of phenolic compounds by lactic acid bacteria

Много изследвания докладват преоценката на високо съдържание на фенолни съединения от различни източници чрез биотрансформация на млечнокисели бактерии. Някои от тях са представени по-долу.

Many studies have been reported the reassessment of high content phenolic compounds of different sources by biotransformation of lactic acid bacteria. Some of them are given bellow.

Ciafardini et al. (1994) докладват, че олеуропеин, който е форма на гликозид като основно фенолно съединение, е трансформиран в агликонова форма от ензима β-глюкозидаза, съдържащ се в *Lactobacillus plantarum* и след това е превърнат в хидрокситирозол и еленова киселина от ензим естераза, който се съдържа в *Lactobacillus plantarum*. Kachori and Hamdi (2004) са проучили обогатена с *Lactobacillus plantarum* ферментирала отпадъчна вода от маслини и са установили, че простото фенолно съдържание се е повишило, като р-хидроксифенилоцетна, ванилова и ферулова киселина и тирозол. Rodríguez et al. са докладвали тази способност на *Lactobacillus plantarum* CECT 748^{T} да метаболизира хранителни фенолови киселини. Хидрокси-канелените киселини, като р-кумарова, кафеена, ферулинова и m-кумаринова киселина са били метаболизирани чрез *L. plantarum*. Установено е, че *L. plantarum*, произвежда 4-винил-фенол/4-етил фенол от р-кумаринова киселина, 4-винил катехин/4-етил катехин от кафеена киселина, 4-винил гваякол/4-етил гваякол от ферулонова киселина, 3-(3-хидроксифенил) пропионова киселина) от m-кумаринова киселина. Също така хидроксибензоените киселини като галовата киселина и протокатеховата киселина са метаболизирани посредством *L. plantarum* до пирогалол и катехол (Rodríguez et al., 2008).

Много изследвания върху млечнокисели бактерии съобщават, че хидроксикаминовата киселина като ферулова и р-кумарова киселина, може да се превърне в летливи феноли от млечнокисели бактерии (Cavin et al., 1993; Barthelmebs et al., 2001; Gury et al., 2004). Съществува тясна връзка между качеството на виното и летливите феноли, открити в него. Прекурсорите на летливите феноли са хидроксикаминовата, р-кумариновата и ферулиновата киселина. Превръщането на тези прекурсорни съединения се осъществява чрез последователни ензимни реакции. Ако прекурсорното съединение хидроксикаминова киселина се декарбоксилира до винило-

Ciafardini et al. had reported that oleuropein which is in the form of glycoside as the main phenolic compound was transformed into the aglycone form by the β-glucosidase enzyme contained in *Lactobacillus plantarum* and then converted into hydroxytyrasol and elenoic acid by the esterase enzyme contained in *Lactobacillus plantarum* (Ciafardini,1994). Kachori and Hamdi had investigated that enrichment of fermented olive mill wastewater by *Lactobacillus plantarum*. It has been found that simple phenolic content increased such as *p*-hydroxyphenylacetic, vanillic and ferulic acids and tyrosol (Kachouri and Hamdi, 2004).Rodríguez et al. had reported that ability of *Lactobacillus plantarum* CECT 748^{T} to metabolize food phenolic acids. Hydroxycinnamic acids such as p-coumaric, caffeic, ferulic, and m-cumaric acid were metabolized by *L. plantarum*. It has been found that *L.plantarum* produced 4-Vinyl phenol/4-ethyl phenol from p-coumaric acid, 4-Vinyl catechol/4-ethyl catechol from caffeic acid, 4-Vinyl guaiacol/4-ethyl guaiacol from ferulic acid, 3-(3-Hydroxyphenyl) propionic acid) from m-coumaric acid. Also hydroxybenzoic acids such as gallic acid and protocatechuic acid were metabolized pyrogallol and catechol by *L.plantarum* (Rodríguez et al., 2008).

Many studies on lactic acid bacteria have reported that hydroxycinnamic such as ferulic acid and *p*-coumaric acids could be converted to volatile phenols by lactic acid bacteria (Cavin et al., 1993; Barthelmebs et al., 2001; Gury et al., 2004).There is a close relationship between the quality of the wine and the volatile phenols found in the wine. The precursors of volatile phenols are hydroxycinnamic acid, p-coumaric acid and ferulic acid. The conversion of these precursor compounds takes place by successive enzymatic reactions. If the precursor compound hydroxycinnamic acid is decarboxylated to the vinyl вото производно (4-винилфенол от p-кумарова киселина или 4-винил-гваякол от ферулова киселина) в първата реакция, след това във втората реакция се превръща в етиловото производно (4-етилфенол или 4-етилгваякол) чрез ензима редуктаза (Heresztyn, 1986, (Landate et al., 2007). Тези съединения, допринасящи за винения аромат, могат да бъдат получени чрез превръщане на фенолите в летливи феноли с помощта на дрожди и млечнокисели бактерии (Rodríguez et al., 2009). В Таблица 1 са представени някои важни феноли, получени чрез фенолна биоконверсия от млечнокисели бактерии. Някои съединения, такива като хидроксикаминовите киселини, не формират осезаемо ниво на горчивина или тръпчивост по отношение на сензорните свойства на виното. Превръщането на тези киселини в производни им летливи феноли оказва значително влияние върху аромата на виното (de Las Rivas et al., 2008).

derivative (4-vinylphenol from p-coumaric acid or 4-vinylguaiacol from ferulic acid) in the first reaction then in the second reaction it is converted to the ethyl derivative (4-ethylphenol or 4-ethylguaiacol) via the reductase enzyme (Heresztyn, 1986, (Landate et al., 2007). These compounds which are contributed to the wine aroma could be obtained by converting phenols into volatile phenols by yeast and lactic acid bacteria (Rodríguez et al., 2009). In Table 1are given some important phenols obtained by bioconversion of phenols by lactic acid bacteria. Some compounds such as hydroxycinnamic acids do not form a perceivable level of bitterness or astringency in terms of their sensory properties in wine. The conversion of these acids into derivatives such as volatile phenols significantly affects the wine aroma (de LasRivas et al., 2008).

Таблица 1. Важни феноли, получени чрез биоконверсия на феноли с млечнокисели бактерии

Table 1. Some important phenols obtained by bioconversion of phenols by lactic acid bacteria

Фенолни съединения Phenolic compound	Получено съединение Compound produced	References
Кафеена киселина Caffeic acid	Винил катехин / Vinyl catechol Етил катехин / Ethyl catechol	Cavin et al., 1997
м-кумарова киселина m-Coumaric acid	3-(3-хидроксифенил) пропионова / 3-(3-hydroxyphenyl) propionic acid	Rodríguez et al.,2008b
p-кумарова киселина p-Coumaric acid	Винил фенол / Vinylphenol Етил фенол / Ethylphenol	Cavin et al., 1997
Ферулова киселина Ferulic acid	Винил гваякол / Vinylguaiacol Етил гваякол / Ethylguaiacol	Cavin et al., 1997
Галиева киселина Gallic acid	Пирогалол / Pyrogallol	Rodríguez et al., 2008b
Метил галат Methyl gallate	Галиева киселина / Gallic acid	Rodríguez et al., 2008b
Олеуропеин Oleuropein	Хидрокситиразол / Hydroxytyrosol	Ciafardini et al.,1994
Пирокатехинова киселина Protocatechuic acid	Катехин / Catechol	Rodríguez et al., 2008b
Taнинова киселина Tannic acid	Галиева киселина / Gallic acid Пирогалол / Pyrogallol	Rodríguez et al., 2008a Rodríguez et al., 2008b

Млечнокиселите бактерии могат да допринесат положително за качеството на крайния продукт чрез

Lactic acid bacteria can make positive contributions to the quality of the final product by changing the composition промяна на състава на виното при подходящи условия (Campos, 2003).

Hernandez-Orte et al. (2009) провеждат проучване чрез създаване на синтетична винена среда с ароматни компоненти, извлечени от не-флорални сортове лози (Verdejo, Chardonnay, Garnacha и Tempranillo). По време на малолактичната ферментация при винопроизводството са използвани определени видове млечнокисели бактерии (Oenococcus oeni, Lactobacillus brevis, Lactobacillus casei) и са оценени някои ароматни съединения като летливи феноли. Резултатите показват, че вината, произведени от *O.oeni*, съдържат повече 4-винилфенол, отколкото контролната група. Доказано е, че *O.oeni* може да декарбоксилира p-кумаринова киселина, но не и ферулинова киселина.

Производството на необходимите ценни фенолни съединения може да се постигне чрез биотрансформация с помощта на млечнокисели бактерии на фенолните компоненти, съдържащи се във вторични продукти от винопроизводството. Ценните фенолни съединения могат да се използват при производството на хранителни, фармацевтични и козметични продукти (Soto et al., 2012). Страничните продукти от винопроизводството като гроздови джибри, гроздови семена и гроздови чепки са силни източници на антиоксиданти (Nerantzis and Tataridis, 2006). Сред фенолните съединения, идентифицирани в страничните продукти от винопроизводството, са флавонолите (кверцетин, камферол, мирицетин) флаванол (катехин, епикатехин), фенолни киселини (хидроксибензоена, хидроксикаминова киселина и производни) и стилбени (ресвератрол) (Nerantzis and Tataridis, 2006; Soto et al., 2012). Известно е, че Lactobacillus plantarum има ензими като таназа, декарбоксилаза на фенолна киселина и бензил алкохол дехидрогеназа, които конвертират някои фенолни съединения. Lactobacillus plantarum са използвани успешно за производство на пирогалол от галова киселина, открита във винени отпадъци. (Дисертация с ръководството на Yıldırım).

of the wine under appropriate conditions (Campos, 2003).

Hernandez-Orte et al. conducted a study by creating a synthetic wine medium with aroma components extracted from non-floral grape varieties (Verdejo, Chardonnay, Garnacha and Tempranillo). During malolactic fermentation of wine production were used lactic acid bacteria species (*Oenococcus oeni*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*) and some aroma compounds such as the volatile phenols were evaluated. The results demonstrated that wines produced by*O.oeni* contained more 4-vinylphenol than the control group. It has been demonstrated that *O.oeni* can decarboxylate p-coumaric acid but not ferulic acid (Hernandez-Orte, 2009).

The production of required valuable phenolic compounds can be achieved by biotransformation the phenolic components containing in the wine by-products by lactic acid bacteria, also. The valuable phenolic compounds could be used with different applications in the products formation of food, pharmaceutical and cosmetic industries (Soto et al., 2012). Winery by-products like grape pomace, grape seeds and grape stalks are included strong antioxidant sources (Nerantzis, 2006). Among the phenolic compounds identified in winery by-products are flavonols (quercetin, kaempferol, myricetin) flavan-3ols (catechin, epicatechin), phenolic acids (hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid and derivatives) and stilbenes (resveratrol) (Nerantzis, 2006; Soto et al., 2012). *Lactobacillus plantarum* is known to have enzymes such as tannase, phenolic acid decarboxylase, and benzyl alcoholdehydrogenase which convert some phenolic compounds. *Lactobacillus plantarum*have been used successfully used for pyrogallol production from gallic acid found in wine waste. (Thesis conducted by Yıldırım as supervisor).

Млечнокиселите бактерии могат да произвеждат нови съединения чрез декарбоксилиране на хидролизируеми танини, с използването на таназен ензим. По този начин, фенолните съединения с висока добавена стойност могат да бъдат получени чрез биотрансформация на различни фенолни компоненти, съдържащи се в гроздето, вината и страничните продукти от винопроизводството (Landate et al., 2007, Rodríguez et al., 2009).

Lactic acid bacteria can produce new compounds by decarboxylation of hydrolyzable tannins using the tannase enyzme. Thus, high-value-added phenolic compounds can be obtained by biotransformation of different phenolic components contained in grapes, wines and wine- by-products (Landate et al., 2007; Rodríguez et al., 2009).

ИЗВОДИ

Счита се, че млечнокиселите бактерии оказват положително влияние върху качеството на виното, поради потенциалът им да повишават фенолните съединения, открити във вината под формата на агликон, и въздействието върху летливите феноли, допринасящи за аромата на виното. Освен това, антиоксидантите с по-висока добавена стойност, получени от вторични продукти на винопроизводството чрез млечнокисели бактерии, могат да се използват в различни индустриални отрасли.

CONCLUSIONS

Lactic acid bacteria are thought to have positive effects on wine quality due to their potential to increase phenolic compounds found in wines in the form of aglyconeand the effects on the volatile phenols contributing to the wine aroma.

Additionally, higher value added antioxidants obtained from wine by-products by lactic acid bacteria can be used in different industries.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Akcay, E.**, 2013. Production of pyrogallol by *Lactobacillus plantarum* strains. Ege University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Izmir, Turkey.
2. **Aktan, N., and H. K. Yıldırım**, 2000, Wine technology. Kavaklıdere Educational Publications,Turkey.
3. **Barthelmebs, L., C. Diviés and J. F. Cavin**, 2001. Molecular characterization of the phenolic acid metabolism in the lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum*. *Le Lait*, 81(1-2), 161-171.
4. **Campos, F. M., J. A. Couto and T. A. Hogg**, 2003. Influence of phenolic acids on growth and inactivation of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus hilgardii*. *Journal of Applied Microbiology*, 94(2), 167-174.
5. **Carbonneau, M. A., C. L Leger, L. Monnier, C. Bonnet, F. Michel, G. Fouret, F. Dedieu and B. Descomps**, 1997. Supplementation with wine phenolic compounds increases the antioxidant capacity of plasma and vitamin E of low-density lipoprotein without changing the lipoprotein Cu 2+-oxidizability: possible explanation by phenolic location. *European journal of clinical nutrition*, 51(10), 682-690.
6. **Cavin, J. F., L. Barthelmebs and C. Divies**, 1997. Molecular characterization of an inducible p-coumaric acid decarboxylase from *Lactobacillus plantarum*: gene cloning, transcriptional analysis, overexpression in Escherichia coli, purification and characterization. *Applied and environmental microbiology*, 63(5), 1939-1944.

7. **Cavin, J. F., V. Andioc, P. X. Etievant and C. Divies**, 1993. Ability of wine lactic acid bacteria to metabolize phenol carboxylic acids. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44(1), 76-80.
8. **Ciafardini, G., V. Marsilio, B. Lanza and N. Pozzi**, 1994. Hydrolysis of oleuropein by *Lactobacillus plantarum* strains associated with olive fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(11), 4142-4147.
9. **Damianaki, A., E. Bakogeorgou, M. Kampa, G. Notas, A. Hatzoglou, S. Panagiotou, C. Gemetzi, E. Kouroumalis, P. M. Martin and E. Castanas**, 2000. Potent inhibitory action of red wine polyphenols on human breast cancer cells. *Journal of cellular biochemistry*, 78(3), 429-441.
10. **de Las Rivas, B., H. Rodríguez, J. A. Curiel, J. M. Landete and R. Muñoz**, 2008. Molecular screening of wine lactic acid bacteria degrading hydroxycinnamic acids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(2), 490-494.
11. **García-Lafuente, A., E. Guillamón, A. Villares, M. A. Rostagno and J. A. Martínez**, 2009. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*, 58(9), 537-552.
12. **German, J. B. and R.L. Walzem**, 2000. The health benefits of wine. *Annual review of nutrition*, 20(1), 561-593.
13. **Gury, J., L. Barthelmebs, N. P. Tran, C. Divies and J. F. Cavin**, 2004. Cloning, deletion, and characterization of PadR, the transcriptional repressor of the phenolic acid decarboxylase-encoding padA gene of *Lactobacillus plantarum*. *Applied and environmental microbiology*, 70(4), 2146-2153.
14. **Heresztyn, T.**, 1986. Metabolism of volatile phenolic compounds from hydroxycinnamic acids by *Brettanomyces* yeast. *Archives of Microbiology*, 146(1), 96-98.
15. **Hernandez-Orte, P., M. Cersosimo, N. Loscos, J. Cacho, E. Garcia-Moruno and V. Ferreira**, 2009. Aroma development from non-floral grape precursors by wine lactic acid bacteria. *Food Research International*, 42(7), 773-781.
16. **Huynh, N. T., J. Van Camp, G. Smagghe and K. Raes**, 2014. Improved release and metabolism of flavonoids by steered fermentation processes: a review. *International journal of molecular sciences*, 15(11), 19369-19388.
17. **Jackson, R.S.**, 2008. *Wine science: principles and applications*. Academic press.
18. **Kachouri, F. and M. Hamdi**, 2004. Enhancement of polyphenols in olive oil by contact with fermented olive mill wastewater by *Lactobacillus plantarum*. Process Biochemistry, 39(7), 841-845.
19. **Landete, J. M., H. Rodríguez, B. de las Rivas and B., R. Muñoz**, 2007. High-added-value antioxidants obtained from the degradation of wine phenolics by *Lactobacillus plantarum*. *Journal of food protection*, 70(11), 2670-2675.
20. **Madeira Junior, J. V., C.B. Teixeira and G. A. Macedo**, 2015. Biotransformation and bioconversion of phenolic compounds obtainment: an overview. *Critical reviews in biotechnology*, 35(1), 75-81.
21. **Moreno-Arribas, M. V. and M. C. Polo**, 2009. Wine chemistry and biochemistry, Springer, New York.
22. **Nerantzis, E. T. and P. Tataridis, 2006**. Integrated enology-utilization of winery by-products into high added value products. *e-Journal of Science and Technology*, 1, 79-89.
23. **Papadopoulou, C., K. Soulti and I. G. Roussis**, 2005. Potential antimicrobial activity of red and white wine phenolic extracts against strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *Food Technology and Biotechnology*, 43(1), 41-46.

24. **Rodríguez, H., B. de las Rivas, C. Gómez-Cordovés and R. Muñoz**, 2008a. Degradation of tannic acid by cell-free extracts of *Lactobacillus plantarum*. *Food chemistry*, 107(2), 664-670.
25. **Rodríguez, H., J. A. Curiel, J. M. Landete, B. de las Rivas, F. L. de Felipe, C. Gómez-Cordovés, J. M. Mancheño and R. Muñoz**, 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 132(2), 79-90.
26. **Rodríguez, H., J. M. Landete, B. de las Rivas and R. Muñoz**, 2008b. Metabolism of food phenolic acids by *Lactobacillus plantarum* CECT 748 T. *Food Chemistry*, 107(4), 1393-1398.
27. **Soomro, A. H., T. Masud and K. Anwaar**, 2002. Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health-a review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1), 20-24.
1. **Soto, M. L., E. Conde, N. González-López, M. J. Conde, A. Moure, J. Sineiro, E. Falqué, H. Domínguez, M.J. Núñez and J. C. Parajó**, 2012. Recovery and concentration of antioxidants from winery wastes. *Molecules*, 17(3), 3008-3024.